



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0713061-9 A2**

(22) Data de Depósito: 28/06/2007
(43) Data da Publicação: 10/04/2012
(RPI 2153)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 38/48
A61P 21/00

(54) Título: APLICAÇÃO EM ALTA FREQUÊNCIA DE COMPONENTE NEUROTÓXICO DE TOXINA BOTULÍNICA

(30) Prioridade Unionista: 29/06/2006 US 60/817,756

(73) Titular(es): Merz Pharma Gmbh & Co. Kgaa.

(72) Inventor(es): Dirk Dressler, Matthias Marx, Reiner Benecke, Susane Grefe

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemens, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007005754 de 28/06/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/000490de 03/01/2008

(57) Resumo: APLICAÇÃO EM ALTA FREQUÊNCIA DE COMPONENTE NEUROTÓXICO DE TOXINA BOTULÍNICA. A presente invenção refere-se a métodos para tratar doenças e distúrbios através de administração de uma composição contendo o componente neurotóxico de um complexo de toxina Clostridium botulinum, em que a composição é desprovida de qualquer outra proteína do complexo de toxina Clostridium botulinum e em que a composição é administrada em pequenos intervalos e/ou em elevadas doses.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**APLICAÇÃO EM ALTA FREQUÊNCIA DE COMPONENTE NEUROTÓXICO DE TOXINA BOTULÍNICA**".

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se a métodos para tratar doenças e distúrbios através de administração de uma composição contendo o componente neurotóxico de um complexo da toxina de *Clostridium botulinum*, em que a composição é destituída de qualquer outra proteína do complexo da toxina de *Clostridium botulinum* e em que a composição é administrada em
10 pequenos intervalos e/ou em elevadas doses.

Mais particularmente, a presente invenção refere-se a um método de tratamento de uma doença ou condição causada por ou associada à inervação colinérgica hiperativa de músculos ou glândulas exócrinas em um paciente, o método compreendendo administração de uma composição com-
15 prendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o paciente é um ser humano, (b) a composição é administrada através de injeção e (c) a composição é administrada
20 a intervalos de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

A presente invenção também refere-se a um método de trata-
25 mento de uma doença ou condição causada por ou associada a uma atividade patológica de um músculo em um paciente, o método compreendendo administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente
30 de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o paciente é um ser humano com um distúrbio grave de movimento ou espasticidade grave; (b) a composição é administrada através de injeção e (c) a

quantidade eficaz administrada excede a 500 U de componente neurotóxico em adultos ou excede 15 U/kg de peso corporal em crianças. Finalmente, a presente invenção refere-se também a um método de redução de linhas faciais ou rugas da pele ou de remoção de assimetrias faciais, o método compreendendo administração, a um indivíduo, de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o indivíduo é um ser humano, (b) a composição é administrada através de injeção subcutânea ou intramuscular ou próximo de um ou mais músculos faciais ou músculos envolvidos na formação da ruga ou assimetria da pele e (c) a composição é administrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A toxina botulínica é produzida pela bactéria *Clostridium*. Existem sete sorotipos antigenicamente distintos de toxina botulínica, isto é, toxina botulínica A, B, C, D, E, F e G. As toxinas de botulínicas, quando liberadas de culturas de *Clostridium* submetidas à lise, estão geralmente associadas a outras proteínas bacterianas, as quais juntas formam um complexo de toxina. A subunidade neurotóxica desse complexo é referida aqui como o "componente neurotóxico" do complexo da toxina botulínica. Os termos "toxina botulínica" ou "toxinas botulínicas" refere-se a um componente neurotóxico desprovido de quaisquer outras proteínas clostridiais, mas também ao "complexo de toxina botulínica": ele é usado aqui em casos quando nenhuma discriminação entre os dois estados do componente neurotóxico é necessária ou desejada. Este complexo usualmente contém as assim denominadas proteínas adicionais "não-tóxicas", as quais foram referidas como "proteínas de formação de complexo" ou "proteínas bacterianas". O complexo de componente neurotóxico e proteínas bacterianas é referido como

"Complexo de toxina de *Clostridium botulinum* " ou "complexo de toxina botulínica ". O peso molecular desse complexo pode variar de cerca 300.000 a cerca de 900.000 Da. As proteínas de formação de complexo são, por exemplo, várias hemaglutininas. As proteínas desse complexo de toxina não são tóxicas em si, mas proporcionam estabilidade ao componente neurotóxico e são responsáveis pela toxicidade oral em intoxicações botulínicas. Diferentemente do complexo de toxina, o componente neurotóxico em sua forma isolada e pura, isto é, desprovida de quaisquer proteínas de formação de complexo de *Clostridium*, é lábil ao ácido e não resiste ao ambiente agressivo no trato gastrointestinal.

O componente neurotóxico do complexo de toxina botulínica é inicialmente formado como uma única cadeia polipeptídica tendo, no caso do sorotipo A, um peso molecular de aproximadamente 150 kDa. Em outros sorotipos, foi observado que o componente neurotóxico varia entre cerca de 145 e cerca de 170 kDa, dependendo da fonte bacteriana. No caso do sorotipo A, por exemplo, processamento proteolítico do polipeptídeo resulta em um polipeptídeo ativado na forma de uma dicadeia polipeptídica, consistindo em uma cadeia pesada e uma cadeia leve, as quais são ligadas por uma ligação de dissulfeto. Em seres humanos, a cadeia pesada medeia a ligação a terminais nervosos colinérgicos pré-sinápticos e internalização da toxina na célula. Acredita-se que a cadeia leve seja responsável pelos efeitos tóxicos, atuando como zinco-endopeptidase e clivando proteínas específicas responsáveis pela fusão de membrana (complexo SNARE) (veja, por exemplo, Montecucco C, Shiu G., Rosetto O: The mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. *Arch Toxicol.* 1996; 18 (Supl.): 342-354)). Através de ruptura do processo de fusão de membrana dentro das células, toxinas botulínicas previnem a liberação de acetilcolina na fissura sináptica. O efeito global da toxina botulínica na junção neuromuscular é interromper a transmissão neuromuscular e, na verdade, desenergizar músculos. Toxina botulínica também tem atividade em outras sinapses colinérgicas periféricas, provocando uma redução de salivação ou sudorese.

Cada sorotipo de toxina botulínica se liga a sítios receptor de so-

rotipo-específicos sobre terminais nervosos pré-sinápticos. A especificidade da toxina botulínica por neurônio colinérgico é baseada na alta afinidade da cadeia pesada pelos sítios de receptor sobre esses terminais nervosos (Ref.: Katsekas S., Gremminloh G., Pich E.M.: Nerve terminal proteins; to fuse to learn. *Transneuro Science* 1994; 17: 368-379).

A despeito de seus efeitos tóxicos, o complexo de toxina botulínica tem sido usado como um agente terapêutico em um grande número de doenças. O sorotipo A de toxina botulínica foi aprovado para uso humano nos Estados Unidos em 1989 para o tratamento de estrabismo, blefarospasmo e outros distúrbios. Ele está comercialmente disponível como complexo de proteína de toxina botulínica A, por exemplo, sob a marca comercial BOTOX (Allergan Inc.) ou sob a marca comercial DYSPORT (Ipsen Ltda). Para aplicação terapêutica, o complexo é diretamente injetado no músculo a ser tratado. Em pH fisiológico, a toxina é liberada do complexo de proteína e o efeito farmacológico desejado acontece. O efeito de toxina botulínica é apenas temporário, a qual é a razão pela qual administração repetida de toxina botulínica pode ser requerida para manter um efeito terapêutico. Em uma série de casos, resistência à toxina botulínica foi observada após administração repetida do complexo de proteína de toxina botulínica. Os pacientes desenvolveram níveis relevantes de anticorpos de neutralização dirigidos contra o componente neurotóxico e bloquearam sua atividade (Goschel H, Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bi-galke H. (1997) *Exp Neurol*, Set. de 1997; 47(1): 96-102.). Como um resultado, terapia com complexo de toxina botulínica não é mais eficaz nesses pacientes (usando, por exemplo, Botox ou Dysport). Aplicações subseqüentes de medicamentos de toxina botulínica, tais como Botox ou Dysport, é ineficaz. A titulação de anticorpo pode diminuir se o tratamento com complexos de proteína de toxina botulínica for suspenso. Contudo, a duração para a qual o tratamento tem de ser suspenso pode ser longa (veja, por exemplo, *Dressier D, Bigalke H (2002) Botulinum toxin antibody titres after cessation of botulinum toxin therapy. Mov Disord* 17: 170-173).

Inicialmente, a resistência ao complexo de toxina botulínica foi

considerada incomum. Relatórios subseqüentes sugeriram uma freqüência de aproximadamente 5% de falha de terapia anticorpo-induzida de terapia com toxina botulínica em pacientes tratados de distonia cervical (Ref: Kessler KR, Skutta M, Benecke R., Long-term treatment of cervical dystonia with botulinum toxin A: efficacy, safety and antibody frequency. German Dystonia Study Group. J Neurol Abril de 1999; 246(4): 265-74). Essa observação foi baseada em avaliações retrospectivas de pacientes em um único local. Recentemente, contudo, uma incidência muito mais freqüente tem sido reportada, sugerindo que aproximadamente 20 % dos indivíduos tratados são afetados (Ref.: *The Muscular Nerve*, Maio de 2004, página 630). Geralmente, acredita-se que o risco de falha de terapia anticorpo-induzida está fortemente correlacionada à dose única administrada da toxina botulínica.

Acredita-se que proteínas contidas no complexo podem reforçar a resposta imune. Outro fator de risco para falha completa de terapia anticorpo-induzida de terapia com toxina botulínica é o intervalo de interinjeção, isto é, o intervalo entre séries subseqüentes de injeção. Portanto, é prática comum administrar toxina botulínica apenas uma única vez a cada três meses para reduzir o risco de formação de anticorpo. Pacientes nos quais o efeito da administração de botulina deixa de existir anteriormente podem ser tratados através de medicamentos orais. A eficácia dessas medicações orais, contudo, é limitada.

Outros efeitos desvantajosos dos complexos de proteína de toxina botulínica é a sua disseminação regional ou sistêmica após injeções nos músculos-alvo. Eletromiografia de uma única fibra (SF-EMG) mostrou titulação aumentada em músculos distantes do local de injeção. Por exemplo, Alny e outros, 1988 (Alny R.K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Lowenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. *Neurology* 1988; 38: 1780-1783) mostrou que pacientes tratados através de injeção nos músculos do pescoço têm titulação e densidade de fibra aumentadas em músculos distantes do local de injeção. Essas anormalidades retornam para o normal após aproximadamente três a seis meses. Outra evidência de disseminação sistêmica da toxina botulínica após injeção local

é a ocorrência de alterações em reflexos cardiovasculares e pressão sanguínea (Ret: Alny R.K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Lowenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. *Neurology* 1988; 38: 1780-1783).

5 Em alguns pacientes, a administração de complexo de proteína de toxina botulínica em altas doses pode afetar músculos não destinados ao tratamento. Por exemplo, quando de tratando de blefarospasmo com um complexo de proteína de toxina botulínica, a disseminação pode afetar o músculo de abertura da pálpebra, causando ptose.

10 Portanto, não apenas o risco de formação de anticorpo, mas também o risco de disseminação sistêmica tornam necessário administrar a toxina botulínica em doses comparativamente baixas e, assim, potencialmente menos eficazes. Conseqüentemente, os médicos são fortemente aconselhados a administrar BOTOX ou DYSPORT não mais freqüentemente
15 do que uma vez a cada três meses. Isso se aplica, em particular, a pacientes que requerem doses altas de toxina botulínica.

 Em vista do acima, é um objetivo da invenção proporcionar um tratamento para pacientes afetados pelos distúrbios mencionados aqui, que permite a administração de uma preparação terapêutica de toxina botulínica
20 em intervalos reduzidos e/ou usando doses comparativamente altas. Uma vez que preparações terapêuticas de toxina botulínica têm de ser aplicadas em tecidos-alvo específicos (por exemplo, músculos ou glândulas específicas), é um requisito importante que sua disseminação para o tecido vizinho seja limitada. Um requisito final, mas não menos importante, é uma antigeni-
25 cidade reduzida da preparação terapêutica de toxina botulínica. É também um objetivo da invenção proporcionar métodos para tratamento de uma doença associada a um músculo espástico ou distônico com um medicamento adequado em intervalos flexíveis e/ou freqüentes. Outro objetivo da invenção é proporcionar um tratamento cosmético usando o fármaco em intervalos
30 freqüentes com um risco reduzido de formação de anticorpo e/ou disseminação sistêmica reduzida.

 Conseqüentemente, a presente invenção refere-se a um método

de tratamento de uma doença ou condição causada por ou associada à inervação colinérgica hiperativa de músculos ou glândulas exócrinas em um paciente, o método compreendendo administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o paciente é um ser humano, (b) a composição é administrada através de injeção e (c) a composição é administrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

É notável que o conceito da presente invenção, que envolve a administração do componente neurotóxico do complexo de toxina botulínica, geralmente permite o tratamento de qualquer condição a qual está associada à inervação colinérgica hiperativa de um músculo ou uma glândula exócrina, em que o componente neurotóxico bloqueia a secreção de acetilcolina na fissura sináptica. Portanto, o tratamento oferecido pela presente invenção pode ser dirigido a qualquer uma das seguintes indicações, a maioria das quais são descritas em detalhes em *Dressier D (2000) (Botulinum Toxin Therapy*. Thieme Verlag, Stuttgart, New York):

- distonia
- distonia craniana
- blefarospasmo
- distonia oromandibular
- do tipo com abertura mandibular
- do tipo com fechamento mandibular
- bruxismo
- síndrome de Meige
- distonia lingual
- apraxia de abertura da pálpebra
- distonia cervical

	antecolo
	retrocolo
	laterocolo
	torcicolo
5	distonia faringeal, distonia laringeal do tipo disfonia espasmódica / adutor do tipo disfonia espasmódica/abdutor distonia de membros
10	distonia de braço distonia tarefa-específica câimbras de escritor câimbras de músicos câimbras de golfista
15	distonia de perna adução da coxa, abdução da coxa flexão do joelho, extensão de joelho flexão do tornozelo, extensão de tornozelo deformidade equinovarus
20	distonia dos pés dedos do pé estriatais, flexão dos dedos do pé extensão dos dedos do pé distonia axial
25	síndrome de Pisa distonia de dançarino de balé distonia segmentária hemidistonia distonia generalizada
30	distonia em lubag distonia em degeneração córtico-basal distonia em lubag

	distonia tardia
	distonia em ataxia espino-cerebelar
	distonia em mal de Parkinson
	distonia em doença de Huntington
5	distonia em doença de Hallervorden Spatz
	discinesias dopa-induzidas/distonia dopa-induzida
	discinesias tardias/ distonia tardia
	discinesias/distonias paroxísmicas
	cinesiogênica
10	não-cinesiogênica
	ação-induzida
	mioclonus palatal
	mioclonus
	mioquimia
15	rigidez
	câimbras musculares benignas
	tremores de queixo hereditários
	atividade muscular paroxísmica da mandíbula
	espasmos hemimastigatórios
20	miopatia branquial hipertrófica
	hipertrofia mesentérica
	hipertrofia do tibialis anterior
	nistagmo
	oscilopsia
25	paralisia de Gaze supranuclear
	epilepsia parcial contínua
	planejamento de operação de torcicolos espasmódicos
	paralisia de corda vocal abduutora
	disfonia mutacional recalcitrante
30	disfunção do esfíncter esofageal superior
	granuloma da prega vocal
	gaguejamento

	síndrome de Gilles de la Tourette
	mioclonus da orelha mediana
	fechamento protetor da laringe
	falha da fala pós-laringectomia
5	ptose protetora
	dobra interna das pálpebras
	disfunção do esfíncter de Odii
	pseudoacalasia
	distúrbios motores esofageais sem acalsia
10	vaginismo
	imobilização pós-operatória
	tremor
	disfunção da bexiga
	dis-sinergia do esfíncter detrusor
15	espasmo do esfíncter da bexiga
	espasmo hemifacial
	discinesias de reinervação
	uso cosmético
	pé em garra
20	rugos na testa
	assimetrias faciais
	covas na testa
	síndrome da pessoa rígida
	tétano
25	hiperplasia da próstata
	tratamento de adipositas
	paralisia cerebral infantil
	estrabismo
	misto
30	paralítico
	concomitante
	após cirurgia de descolamento retinal

	após cirurgia de catarata
	em apaquia
	estrabismo miosítico
	estrabismo miopático
5	desvio vertical dissociado
	como um adjunto em cirurgia de estrabismo
	esotropia
	exotropia
	acalasia
10	fissuras anais
	hiperatividade da glândula exócrina
	síndrome de Frey
	síndrome de lágrimas de crocodilo
	hiperidrose
15	axilar
	palmar
	plantar
	rinorréia
	hipersalivação relativa
20	em derrame
	em mal de Parkinson
	em esclerose lateral amiotrófica
	condições espásticas
	em encefalite e mielite
25	processos auto-imunes
	esclerose múltipla
	mielite transversa
	síndrome de Devic
	infecções virais
30	infecções bacterianas
	infecções parasíticas
	infecções fúngicas

- em parapareses espásticas hereditárias
- síndrome pós-apoplética
- enfarte hemisférico
- enfarte do tronco cerebral
- 5 enfarte do coluna espinhal
- em trauma do sistema nervoso central
- lesões hemisféricas
- lesões do tronco cerebral
- lesão do coluna espinhal
- 10 em hemorragia do sistema nervoso central
- hemorragia intracerebral
- hemorragia subaracnoidal
- hemorragia subdural
- hemorragia intra-espinhal
- 15 em neoplasias
- tumores hemisféricos
- tumores do tronco cerebral
- tumores do coluna espinhal

A toxina botulínica é obtenível, por exemplo, através de cultura

20 de bactérias *Clostridium*. A espécie *Clostridium* preferida da presente invenção é *Clostridium botulinum*. Contudo, é importante notar que o componente neurotóxico pode ser derivado de qualquer outra espécie bacteriana, contanto que essa seja um homólogo funcional do componente neurotóxico derivado de *Clostridium botulinum*. A composição usada nos métodos da presente

25 invenção sempre conterà o componente neurotóxico desprovido de quaisquer outras proteínas de *Clostridium botulinum*. Contudo, quando de produção do componente neurotóxico, a toxina pode ser isolada das bactérias como um complexo contendo o componente neurotóxico, isto é, a proteína responsável pelo efeito tóxico em seres humanos e outras proteínas bacteri-

30 anas. Subseqüentemente, o componente neurotóxico pode ser purificado do complexo de toxina. Conforme usado aqui, os termos "complexo de toxina" ou "complexo da toxina botulínica" ou "complexo da neurotoxina botulínica"

são permutáveis e refere-se a um complexo de elevado peso molecular compreendendo o componente neurotóxico de aproximadamente 150 kDa e, além disso, proteínas não-tóxicas de *Clostridium botulinum*, incluindo hema-glutina e proteínas de não-hemaglutininas (Sakaguchi 1983; Sugiyama
5 1980).

A presente invenção considera o tratamento de pacientes caracterizados por terem uma doença associada à inervação colinérgica hiperativa de músculos ou glândulas exócrinas. O termo "paciente", conforme usado aqui, refere-se a pacientes que nunca foram expostos à toxina botulínica,
10 mas também a pacientes que foram expostos à toxina botulínica. O último paciente pode ter desenvolvido anticorpos dirigidos contra o complexo da toxina botulínica ou seus componentes. Tais anticorpos podem ser anticorpos de neutralização. De preferência, os pacientes não têm uma titulação de anticorpo acima de 7 mU, em particular uma titulação de anticorpos de neutralização acima de 7 mU. O termo "titulação de anticorpo não acima de ..."
15 significa menos que 7 mU, por exemplo, 1 mU a 6 mU ou 0,01 mU a 1 mU.

O termo "inervação colinérgica hiperativa", conforme usado aqui, refere-se a uma sinapse, a qual é caracterizada por uma quantidade raramente alta de liberação de acetilcolina na fissura sináptica. "Raramente alta"
20 refere-se a um aumento de até 25%, até 50% ou mais com relação a uma atividade de referência a qual pode ser obtida, por exemplo, através de comparação da liberação com a liberação em uma sinapse do mesmo tipo, mas a qual não está em um estado hiperativo, em que distonia muscular pode ser indicativa do estado hiperativo. "Até 25%" significa, por exemplo, cerca de 1% a cerca de 25%. Os métodos para realizar as medições requeridas
25 são conhecidos na técnica.

O termo "cerca de", conforme usado no contexto da presente invenção, significa "aproximadamente" ou "quase". No contexto de valores numéricos, sem estar limitado a uma definição numérica, o termo pode ser
30 construído para estimar um valor que é +/- 10% do valor ou faixa indicada.

Os termos "componente neurotóxico" ou "componente de neurotoxina", conforme usado ao longo da especificação, refere-se à subunidade

do complexo de toxina botulínica a qual tem uma atividade neurotóxica e a qual tem um peso molecular de aproximadamente 150kDa no sorotipo A. O termo “componente neurotóxico” também inclui homólogos funcionais encontrados em outros sorotipos de *Clostridium botulinum*. Em uma modalidade preferida da presente invenção, o componente neurotóxico é desprovido de qualquer outra proteína de *C. botulinum*, de preferência também de RNA potencialmente associado ao componente neurotóxico. O componente neurotóxico pode ser a proteína precursora de cadeia única de aproximadamente 150 kDa ou o componente neurotóxico proteoliticamente processado, compreendendo a cadeia leve (L_c) de aproximadamente 50 kDa e a cadeia pesada (H_c) de aproximadamente 100 kDa, as quais podem ser ligadas por uma ou mais ligações de dissulfeto (para uma revisão, veja, por exemplo, Simpson LL, Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004; 44: 167-93). Aqueles versados na técnica apreciarão que atividade biológica total é obtida somente após ativação proteolítica, mesmo embora seja concebível que o precursor não processado pode exercer algumas funções biológicas ou ser parcialmente ativo. "Atividade biológica" refere-se a (a) uma ligação a receptor, (b) internalização, (c) translocação através da membrana endossômica no citosol e/ou (d) clivagem endoproteolítica de proteínas envolvidas em fusão de membrana da vesícula sináptica. Ensaio *in vitro* para avaliação de atividade biológica incluem o ensaio de LD₅₀ de rato e o rato de hemidiafragma de camundongo, conforme descrito por Pearce LB, Borodic GE, First ER, MacCallum RD (1994) (Measurement of botulinum toxin activity: evaluation of the lethality assay. Toxicol Appl Pharmacol 128: 69-77) e Dressier D, Lange M, Bigaike H (2005) (The mouse diaphragm assay for detection of antibodies against botulinum toxin type B. Mov Disord 20: 1617-1619).

A atividade biológica é comumente expressa em Unidades de Camundongo (MU). Conforme usado aqui, 1 MU é a quantidade de componente neurotóxico, a qual mata 50% de uma população de camundongo especificada após injeção intraperitoneal, isto é, a LD₅₀ i.p. de camundongo (Schantz & Kauter, 1978). Os termos "MU" e "Unidade" ou "U" são permutáveis. Alternativamente, a atividade biológica pode ser expressa em Unidades

de Dose Letal (LDU)/ng de proteína (isto é, componente neurotóxico). O termo "MU" é usado aqui permutavelmente com os termos "U" ou "LDU".

O termo "quantidade eficaz" significa uma quantidade de componente neurotóxico a qual, após administração, resulta em uma remoção parcial ou completa de sintomas da doença. Quantidades eficazes estão geralmente na faixa de 1 a 2000 MU, mas também doses de até 5000 MU podem ser usadas. Quando doses altas de componente neurotóxico têm de ser administradas a um paciente, pode ser benéfico dividir o tratamento em mais de uma sessão de tratamento. O termo "mais de uma sessão de tratamento" significa, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 sessões de tratamento.

De preferência, o componente neurotóxico usado nos métodos da presente invenção é purificado de uma cultura de *C. botulinum*. Métodos para cultura de *C. botulinum* e purificação do complexo de toxina do mesmo foram descritos na técnica (Revisto em Schantz & Kauter, 1978. Microbiological methods. Standardized assay for Clostridium botulinum neuro-toxins. J Assoc Of Anal Chem 1978; 61(1): 96-99). O componente neurotóxico pode ser purificado de *C. botulinum* essencialmente conforme descrito no método de DasGupta & Sathyamoorthy ((DasGupta BR, Sathyamoorthy V. Purification and amino acid composition of type A botulinum neurotoxin. Toxicon. 1984; 22(3): 415-24). Para essa finalidade, *Clostridium botulinum* do tipo A é cultivado, por exemplo, em um fermentador de 20 L em um meio consistindo em peptona de proteose a 2%, extrato de levedo a 1%, glicose a 1% e tioglicolato de sódio a 0,05%. Após crescimento durante 72 horas, a toxina é precipitada através da adição de ácido sulfúrico a 3 N (pH final = 3,5). A biomassa precipitada e centrifugada é extraída com tampão de fosfato de sódio a 0,2 M em um pH de 6,0. Após remoção dos ácidos nucleicos através de precipitação com sulfato de protamina, a toxina é precipitada através da adição de sulfato de amônio. O precipitado o qual foi solubilizado e submetido à diálise contra fosfato de sódio a 50 mM em um pH de 6,0 é ligado a uma coluna DEAE-Sephadex® no mesmo pH e eluído com NaCl a 150 mM. Isso é seguido por uma cromatografia em uma coluna QAE-Sephadex® a qual foi equilibrada com um tampão de Tris/HCl a 50 Mm, pH de 7,9. A toxina é eluí-

da via um gradiente de NaCl. Na última etapa, a toxina é cromatografada em SP-Sephadex® em um pH de 7,0. Neste caso, a toxina ligada é eluída da coluna usando um gradiente de NaCl (0-300 mM). A toxina purificada é analisada através de eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE) e
5 exibe geralmente uma pureza de 95+/-5%.

Neurotoxinas botulínicas, em particular o complexo de toxina descrito acima, foi anteriormente classificado em sete tipos sorologicamente distintos A, B, C, D, E, F e G. Em anos recentes, populações distintas dos sorotipos A- (A1 e A2) e C- (C1 e C2) foram identificados. Aqui, essas popu-
10 lações são designadas como "subtipos".

O componente neurotóxico do sorotipo A é comercialmente disponível sob a marca comercial XEOMIN da Merz Pharmaceuticals em uma composição que é desprovida de quaisquer outras proteínas do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*.

Alternativamente, o componente neurotóxico usado nos métodos da presente invenção pode ser gerado através de expressão de gene recombinante. Para essa finalidade, uma rede de leitura aberta que codifica o componente neurotóxico ou um mutante do mesmo pode ser clonada em um vetor adaptado para expressão de gene em uma célula hospedeira de
15 interesse. Métodos para expressão de gene recombinante e purificação de proteína são conhecidos por aqueles versados na técnica.

A molécula de ácido nucléico recombinante que codifica o componente neurotóxico pode ser derivada de uma sequência de ácido nucléico conhecida ou pode ser recombinada a partir de duas ou mais sequências
20 conhecidas através de técnicas recombinantes ou síntese química. Um exemplo de um componente neurotóxico quimérico é uma molécula gerada através de fusão, por exemplo, da cadeia leve de um primeiro sorotipo à cadeia pesada de um segundo sorotipo do componente neurotóxico. Um exemplo de síntese química é a síntese química do componente neurotóxico
25 inteiro.

Também incluídos são componentes neurotóxicos geneticamente modificados contendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou até 20 mutações de

aminoácido. Uma mutação pode ser uma substituição, uma inserção ou uma deleção. De preferência, a mutação não compromete qualquer uma das atividades biológicas indicadas acima. Contudo, também é considerado usar mutações para modular a atividade biológica do componente neurotóxico.

5 Também incluídos são os componentes neurotóxicos de toxinas botulínicas contendo aminoácidos quimicamente modificados, por exemplo, um ou mais aminoácidos os quais são glicosilados, acetilados ou de outro modo modificados, os quais podem ser benéficos para a captação ou estabilidade da toxina. Particularmente preferida é a lipidação do componente neurotóxico. Modificação de resíduos pode ser adicionada ao componente neurotóxico, por exemplo, por meio de uma reação enzimática *in vitro* ou usando
10 condições de reação química apropriadas. Alternativamente, modificação de funções enzimáticas pode ser proporcionada *in trans* através de expressão da enzima dentro da célula hospedeira.

15 Uso do método descrito acima permite aumentar significativamente a freqüência de tratamento sem induzir anticorpos de neutralização dirigidos contra o componente neurotóxico. A esse respeito, deverá ser notado que, antes da presente invenção, regimes de tratamento conhecidos evitavam vigorosamente a administração de toxina botulínica em intervalos
20 de menos de três meses, uma vez que acredita-se que uma administração mais freqüente da toxina botulínica aumenta a probabilidade de induzir a uma resposta imune no paciente tratado. Os exemplos descritos aqui sustentam a noção de que o uso do componente neurotóxico ao invés do complexo de toxina botulínica pode evitar tais problemas.

25 Em uma modalidade preferida da presente invenção, o segundo tratamento é realizado de forma a melhorar o efeito de tratamento do primeiro tratamento. Isso permitirá a administração de doses apropriadas de toxina botulínica mais eficazmente. Por exemplo, em uma primeira sessão de tratamento, uma dose subótima do componente neurotóxico pode ser administrada. Caso os sintomas da doença do paciente não respondam suficientemente, mais componente neurotóxico pode ser administrado em um segundo ou em sessão(ões) de tratamento subsequente(s). Portanto, em vista do
30

risco reduzido associado aos métodos da presente invenção, uma série de sessões de tratamento podem ser usadas de forma a se aproximar da dose ótima necessária para tratar eficazmente um paciente.

De acordo com a presente invenção, uma primeira e uma segunda e uma sessão de tratamento subsequente podem ser esquematizadas pelo menos um dia após uma sessão de tratamento precedente. O termo "pelo menos um dia depois" significa, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 dias ou 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 semanas. Contudo, também considera-se, pelo ensinamento da presente invenção, que o segundo tratamento é esquematizado apenas poucas horas após o primeiro tratamento, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 horas depois.

Em uma modalidade preferida, o segundo tratamento (subsequente) é realizado em um ponto quando a eficácia do primeiro tratamento (anterior) começa a declinar. Com tal regime de tratamento, uma qualidade de vida estável para os pacientes pode ser obtida.

A determinação do parâmetro "qualidade de vida estável" para os pacientes é exemplificativamente descrita aqui abaixo através de referência a uma condição a ser tratada de acordo com a presente invenção, nominalmente blefarospasmo, baseado no chamado, Índice de Incapacidade por Blefarospasmo (BSDI). O Índice de Incapacidade por Blefarospasmo [BSDI] é uma escala de auto-avaliação para avaliação de deterioração de atividades específicas da vida diária causadas por BEB (Go-ertelmeyer R, Brinkmann S, Comes G, Delcker A, The Blepharospasm Disability Index (BSDI) for the Assessment of Functional Health in Focal Dystonia, *Gin. Neurophysiol.* 2002; 113(1): S77-S78).

A escala tem de ser respondida pelo paciente em cada visita. Ela inclui 6 itens a serem avaliados com uma listagem de 5 pontos (isto é, 0-4 pontos por item), oscilando de "sem deterioração", "deterioração leve/moderada/grave" e "não mais possível em virtude de minha enfermidade". Os 6 itens são "Dirigir um veículo", "Ler", "Assistir TV", "Fazer compras", "Caminhar" e "Fazer atividades todo dia". Diferentemente de outras escalas funcionais, as quais ignoram o aumento no caso de itens não aplicáveis, o

BSDI permite responder como 'não aplicáveis' para cinco itens, exceto "Fazer atividades todo dia".

O escore médio no BSDI para itens que não faltam é calculado somando todos os itens aplicáveis e respondidos e dividindo pelo número de
5 itens respondidos.

Contudo, tais parâmetros são avaliados para muitas outras doenças e condições a serem tratadas dentro da presente invenção, por exemplo, o questionário de distonia crânio-cervical (CCDQ) para distonia cervical (Mueller J, Wissel J, Kemmler G, Bodner T, Poewe W, Quality of life in
10 patients with craniocervical dystonia: development of the CCDQ-24, Mov. Disord. 2000; 15 (Supl. 3): 761 e HRQL, pelo Swedish Short Form 36 Health Survey Questionnaire (SF-36) para espasticidade (Welmer AK, von Arbin M, Widen Holmqvist L, Sommerfeld DK, Spasticity and its association with functioning and health-related quality of life 18 months after stroke, Cerebrovasc.
15 Dis. 2006; 21(4): 247-253).

Em cada um do tratamento de reinjeção ou último tratamento do paciente, a diferença ΔBSDI entre a observação real de BSDI e o valor de BSDI na linha de base será calculada:

$$\Delta\text{BSDI} = \text{BSDI}_{\text{real}} - \text{BSDI}_{\text{linha de base}}$$

20 O $\text{BSDI}_{\text{linha de base}}$ é determinado durante a primeira visita do paciente a ser tratado e antes da primeira injeção do medicamento. O $\text{BSDI}_{\text{real}}$ é determinado após a respectiva (re)-injeção do medicamento e 3 semanas depois, respectivamente.

Com base no valor de ΔBSDI registrado no primeiro tratamento,
25 cada paciente será alocado a um de três grupos da seguinte forma:

- 1º grupo (melhora moderada) $-1,00 \leq \Delta\text{BSDI} \leq -0,65$
- 2º grupo (melhora acentuada) $-1,35 \leq \Delta\text{BSDI} \leq -1,00$
- 3º grupo (eliminação dos sinais e sintomas) $\Delta\text{BSDI} < -1,35$

Um paciente é classificado como um respondedor, isto é, o pa-
30 ciente demonstra um nível estável de qualidade da vida, se nenhum dos valores de ΔBSDI calculados excede um Δ_c limítrofe. O valor de Δ_c limítrofe depende do grupo ao qual o paciente pertence. Os valores limítrofes são:

- 1º grupo: $\Delta_c = -0,40$
- 2º grupo: $\Delta_c = -0,75$
- 1º grupo: $\Delta_c = -1,10$

Respondedores mostram uma redução de seu valor BSDI_{linha de}
 5 base e, portanto, uma melhora de seu estado de qualidade de vida. A magni-
 tude mínima da melhora é fornecida pelo Δ_c limítrofe. Os valores de Δ_c dimi-
 nuem com o número do grupo porque pacientes no grupo 2 mostram uma
 resposta mais forte à injeção inicial do que pacientes no grupo 1 (resultando
 em menores diferenças no BSDI) e pacientes no grupo 3 reagem ainda mais
 10 forte do que pacientes no grupo 2.

Finalmente, as diferenças observadas entre o nível de BSDI no
 dia de um tratamento de reinjeção e o nível de BSDI linha de base será ana-
 lisado para investigar se houve qualquer melhora com o passar do tempo no
 nível de qualidade de vida no momento de reinjeção (tempo esperado para
 15 passar o efeito do tratamento).

Os modos de administração acima especificados (e reivindica-
 dos) do medicamento, conforme usado dentro da presente invenção, usual-
 mente ficam a critério dos médicos que tratam os pacientes. Contudo, o mo-
 do de administração pode ser também parte da fabricação do medicamento
 20 pelo fato de que, por exemplo, a embalagem do medicamento contém um
 folheto especificamente adaptado com instruções para o médico e/ou o pa-
 ciente e/ou a embalagem é especificamente adaptada para permitir o modo
 de administração de acordo com a presente invenção.

Conforme usado por toda a especificação da presente invenção,
 25 o termo "quantidade total injetada por tratamento" refere-se à dosagem total
 e significa a soma de neurotoxina aplicada a um paciente durante um único
 tratamento. Um único tratamento pode envolver uma ou mais injeções. Por
 exemplo, o tratamento de *M. sternocleidomastoideus*, *M. splenius capitis*, *M.*
semispinalis capitis e *M. trapezius* pode envolver 1, 2, 3, 4 ou 5 injeções,
 30 enquanto que o tratamento de *M. levator scapulae* ou *M. scaleni* pode envol-
 ver apenas 1 a 3 injeções. Conforme destacado aqui antes, a quantidade
 usada para tratamento é dependente de vários parâmetros os quais são co-

nhecidos na técnica. Tais parâmetros incluem, por exemplo, o sorotipo do componente neurotóxico, o tecido-alvo a ser injetado e vários fatores específicos do paciente. Considera-se, através do ensinamento da presente invenção, que um único tratamento pode ser dividido em duas ou mais sessões de tratamento, durante as quais a quantidade total mencionada acima de componente neurotóxico é administrada. Esse será particularmente o caso se grandes quantidades de componentes neurotóxicos têm de ser administradas.

Além disso, baseado nessa modalidade do método da presente invenção, será agora possível tratar mais eficazmente um paciente que precisa de uma administração adicional do componente neurotóxico. Esse pode ser o caso, por exemplo, quando, após um primeiro ou tratamento prévio, é estabelecido que músculos adicionais contribuem para os sintomas da doença ou quando músculos tiverem sido esquecidos.

Em outra modalidade preferida da presente invenção, o paciente é um paciente que requer altas doses de componente neurotóxico. Em outra modalidade preferida da presente invenção, (a) o paciente é um paciente com um distúrbio grave de movimento ou espasticidade grave e (b) a quantidade eficaz administrada excede a 500 U de componente neurotóxico em adultos ou excede o peso corporal de 15 U/Kg em crianças.

Baseado na modalidade da presente invenção, é agora possível tratar pacientes com quantidades muito maiores de componente neurotóxico. Em pacientes adultos, tais quantidades podem, por exemplo, exceder a 500 U de componente neurotóxico.

Conforme usado por toda a presente invenção, uma quantidade excedendo a 500 U é, por exemplo, uma quantidade de mais de 500 U e até 550 U, até 600 U, até 700 U, até 800 U, até 900 U, até 1000 U, até 1100 U, até 1200 U, até 1300 U, até 1400 U, até 1500 U, até 1600 U, até 1700 U, até 1800 U, até 1900 U, ou até 2000 U. De preferência, a dose administrada está na faixa de 500 a 900 U, mais preferivelmente aproximadamente 850 U. Em crianças, "altas quantidades" significa quantidades excedendo a 15 U/kg e até 16 U/kg, até 17 U/kg, até 18 U/kg até 19 U/kg, até 20 U/kg.

Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, a quantidade que excede a 500 U é uma quantidade total em adultos ou peso corporal de 15 U/kg em crianças e a quantidade é administrada através de (a) injeção de uma primeira fração dessa quantidade durante uma primeira sessão de tratamento e (b) injeção da fração restante durante uma ou mais sessões de tratamento subseqüentes, em que a sessão de tratamento subseqüente é esquematizada pelo menos um dia após a primeira sessão de tratamento. A quantidade eficaz total de componente neurotóxico pode ser administrada no mesmo dia ou em dias diferentes, isto é, em sessões de tratamento diferentes. De preferência, quando altas quantidades de componente neurotóxico têm de ser administradas, a quantidade total a ser administrada pode ser dividida e administrada em duas ou mais sessões de tratamento. Dessa forma, grandes quantidades as quais, de outro não seriam aceitas quando administradas em uma única sessão de tratamento, podem ser administradas a um paciente sem observar efeitos adversos significativos.

Em outra modalidade preferida da presente invenção, o paciente é um ser humano, que tenha sido tratado com toxina de *Botulinum*, mas que requer uma diminuição do efeito do tratamento e que requer tratamento antes de expirar os 3 meses após o tratamento.

Tais diminuições do efeito terapêutico podem ser monitoradas por calendários de tratamento nos quais o paciente registra a gravidade de seu distúrbio em uma base diária (tais calendários de tratamento são, por exemplo, distribuídos pela Merz Pharmaceuticals).

Em ainda outra modalidade preferida da presente invenção, a glândula hiperativa é uma glândula exócrina autonômica e a composição é injetada em ou próximo dessa glândula.

Em uma modalidade preferida, a glândula exócrina autônoma é (a) selecionada do grupo consistindo na glândula sudorípara, glândula lacrimal, glândula salival e glândula mucosal; ou (b) uma glândula hiperativa que está associada a uma doença ou condição selecionada do grupo consistindo em síndrome de Frey, síndrome de Lágrimas de Crocodilo, hiperidrose axilar,

hiperidrose palmar, hiperidrose plantar, hiperidrose da cabeça e pescoço, hiperidrose do corpo, rinorréia, ou hipersalivação relativa em pacientes com derrame, mal de Parkinson ou Esclerose Lateral Amiotrófica. Contudo, deve ser notado que o tecido-alvo de terapia do componente neurotóxico abrange
5 qualquer glândula exócrina com hiperatividade. Conseqüentemente, considera-se que a presente invenção pode ser aplicada ao tratamento envolvendo qualquer uma das glândulas mencionadas em Sobotta, Johannes: (Atlas der Anatomie des Menschen. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005), o qual é incorporado aqui por referência.

10 A presente invenção também refere-se a um método de tratamento de uma doença ou condição causada por ou associada à atividade patológica de um músculo em um paciente, o método compreendendo administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botuli-*
15 *num*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o paciente é ser humano com um distúrbio grave do movimento ou espasticidade grave; (b) a composição é administrada através de injeção; e (c) a quantidade eficaz administrada excede a 500 U de componente neurotóxico em adultos ou
20 excede a 15 U/Kg de peso corporal em crianças.

Em uma modalidade preferida da presente invenção, a quantidade a qual excede a 500 U é uma quantidade total em adultos ou 15 U/kg de peso de corpo em crianças e em que a quantidade é administrada através de (a) injeção de uma primeira fração dessa quantidade durante uma
25 primeira sessão de tratamento e (b) injeção da fração restante durante uma ou mais sessões de tratamento subseqüentes, em que a sessão de tratamento subseqüente é esquematizada pelo menos um dia após a primeira sessão de tratamento.

Em outra modalidade preferida da presente invenção, a composição é administrada em um intervalo de menos de 3 meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a
30 quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou

idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

Em ainda outra modalidade preferida da presente invenção, a doença ou condição é ou envolve distonia de um músculo. O termo "doença ou condição que é ou envolve distonia ou distonia de um músculo" refere-se a uma condição envolvendo um músculo distônico. De preferência, a condição é selecionada do grupo consistindo em distonia generalizada, distonia segmentária, distonia focal, distonia multifocal e hemidistonia. Distonia focal é, de preferência, selecionada do grupo consistindo em distonia craniana, distonia cervical, distonia dos membros, distonia do tronco e disфонia espasmódica. Distonia cervical, também denominada torcicolo espasmódico, é caracterizada por hiperatividade muscular inapropriada involuntária em músculos do pescoço e o ombro, levando a movimentos e posturas anormais da cabeça, puxões ou tremor (Fahn S. Assessment of the Primary Dystonias. em: Munsat TL, editor. Quantification of Neurologic Deficit. Boston: Butterworths; 1989. páginas 241-270. (ID 1760137)). Injeção do componente neurotóxico nos músculos afetados do pescoço e ombro leva a um alívio significativo dos sintomas na maioria dos pacientes.

Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, a distonia é (a) selecionada do grupo consistindo em (1) distonia craniana, incluindo blefarospasmo, distonia oromandibular do tipo com abertura da mandíbula ou fechamento da mandíbula, bruxismo, síndrome de Meige, distonia lingual, apraxia de abertura da pálpebra, (2) distonia cervical, incluindo antecolo, retrocolo, laterocolo, torcicolo, (3) distonia faríngea, (4) distonia laríngea, incluindo disфонia espasmódica do tipo adutor ou do tipo abductor, dispnéia espasmódica, (5) distonia de membros, incluindo distonia do braço, tais como distonias tarefa-específicas, incluindo câimbra do escritor, câimbras de músicos ou câimbras de golfista, distonia da perna envolvendo adução da coxa, abdução da coxa, flexão de joelho, extensão de joelho, flexão de tornozelo, extensão de tornozelo ou deformidade equinovarus, distonia dos pés envolvendo dedo estriatal, flexão de dedos ou extensão de dedos, distonia axial, tal como síndrome de Pisa ou distonia do dançarino de balé, distonia segmentária, hemidistonia ou distonia generalizada, (6) distonia em Lubag,

(7) distonia em degeneração córtico-basal, (8) distonia tardia, (9) distonia em ataxia espinocerebelar, (10) distonia em mal de Parkinson, (11) distonia em doença de Huntington, (12) distonia em doença de Hallervorden Spatz, (13) discinesias dopa-induzidas/distonia dopa-induzida, (14) discinesias tardias/distonia tardia, (15) discinesias /distonias paroxísmicas (cinesiogênicas, não cinesiogênicas, ação-induzidas); ou (b) envolve um padrão clínico selecionado do grupo consistindo em torcicolo, laterocolo, retrocolo, anterocolo, cotovelo flexionado, antebraço prono, pulso flexionado, polegar-na-palma ou punho apertado.

10 A tabela a seguir fornece uma lista não limitativa de padrões clínicos e os músculos potencialmente envolvidos, os músculos sendo músculos-alvo preferidos de acordo com o ensinamento da presente invenção.

<i>Padrão clínico</i>	<i>Músculos-alvo potenciais</i>
Torcicolo	<i>splenius capitis, esternocleidomastóide, trapézio</i>
Laterocolo	<i>esternocleidomastóide, splenius capitis, complexo do escaleno, elevador da escápula</i>
Retrocolo	<i>splenius capitis, trapezius-pars cervicalis</i>
Anterocolo	<i>esternocleidomastóide, complexo do escaleno, complexo submental, músculos supra-hióide e infra-hióide</i>

15 "Disfonia espasmódica" é um distúrbio da voz causado por movimentos involuntários de um ou mais músculos da laringe. Os pacientes afetados por disfonia espasmódica têm dificuldade de falar. Disfonia espasmódica faz com que a voz falhe ou tenha uma qualidade difícil, cansada, estrangulada ou que requer esforço. Conforme divulgado aqui, a injeção do componente neurotóxico nos músculos afetados da laringe geralmente melhora a voz.

20 Blefarospasmo é uma doença progressiva caracterizada por contrações espontâneas, bilaterais, intermitentes ou persistentes involuntárias dos músculos orbicular oculi (Grandas F, Elston J, Quinn N, Marsden CD. Blepharospasm: A review of 264 patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1988; 51(6): 767-772. (ID 1759120); Jankovic J, Orman J. Blepharos-

pasm: Demographic and clinical survey of 250 patients. Ann Ophthalmol 1984; 16(4): 371-376. (ID 1761786); Mauriello JA, Leone T, Dhillon S, Pake-man B, Mostafavi R, Yepez MC. Treatment choices of 119 patients with he-mifacial spasm over 11 years. Clin Neurol Neurosurg 1996; 98(3): 213-216. (ID 1777068)). Fornecida como uma injeção local nos músculos orbicular oculi, com base nos métodos da presente invenção, a toxina Botulina é um tratamento altamente eficaz e bem tolerado de blefarospasmo.

Em outra modalidade preferida, pacientes com blefarospasmo essencial benigno que são pré-tratados com toxina botulínica do tipo A que mostram uma curta duração de eficácia, são tratados com neurotoxina botu-línica isenta de proteínas de formação de complexo através de administra-ção da referida neurotoxina botulínica em intervalos de injeção reduzidos, isto é, em intervalos de menos de três meses. De preferência, a neurotoxina botulínica isenta de proteínas de formação de complexo é neurotoxina botu-línica do tipo A altamente purificada. Uma nova injeção com neurotoxina bo-tulínica é indicada quando o paciente reporta um declínio no efeito de trata-mento. Em virtude do referido regime de tratamento, os referidos pacientes podem alcançar uma qualidade de vida estável, conforme discutido aqui an-tes, a qual é, de preferência, determinada conforme discutido aqui antes.

Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, o músculo é selecionado do grupo consistindo em *splenius* ipsilateral, esterno-cleidomastóide contralateral, esternocleidomastóide ipsilateral, *splenius capi-tis*, complexo do escaleno, elevador da escápula, *postvertebralis*, trapézio ipsilateral, elevador da escápula, *splenius capitis* bilateral, trapézio superior, *postvertebralis inferior*, esternocleidomastóide bilateral, complexo do escale-no, complexo submental, *brachioradialis*, *bicepsbrachialis*, *pronator quadra-tus*, *pronator teres*, *flexor carpi radialis*, *flexor carpi ulnaris*, *flexor pollicis lon-gus adductor pollicis*, *flexor pollicis brevis / opponens*, *flexor digitorum super-ficialis*, *flexor digitorum profundus*.

Em uma modalidade preferida da presente invenção, a doença ou condição é ou envolve espasticidade de um músculo.

Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, a es-

pasticidade é ou está associada a (a) espasticidade pós-derrame, espasticidade causada por paralisia cerebral; ou (b) (1) uma condição espástica em encefalite e mielite relativa a (a) processos auto-imunes, incluindo com relação à esclerose múltipla, mielite transversal, síndrome de Devic, (b) infecções virais, (c) infecções bacterianas, (d) infecções parasitárias ou (e) infecções fúngicas, (2) paraparesia espástica hereditária, (3) síndrome pós-apoplética resultante de enfarte hemisférico, enfarte do tronco cerebral ou enfarte da coluna espinhal, (4) um trauma no sistema nervoso central envolvendo, por exemplo, uma lesão hemisférica, uma lesão no tronco cerebral, uma lesão na coluna espinhal, (5) uma hemorragia no sistema nervoso central, tal como um hemorragia intracerebral, uma hemorragia subaracnoidal, uma hemorragia subdural ou uma hemorragia intra-espinhal ou (6) uma neoplasia, por exemplo, um tumor hemisférico, tumores no tronco cerebral ou um tumor na coluna espinhal. Outros tratamentos podem ser o tratamento de bexiga urinária, bexiga espástica, incontinência, esfíncter espástico, espasticidade causada por paralisia cerebral ou hiperplasia prostática.

O termo "espasticidade pós-derrame" refere-se à espasticidade que ocorre após um acidente vascular. O derrame é uma causa que leva à incapacidade a longo prazo, com espasticidade ocorrendo em 19% (2) a 38% dos pacientes (Watkins CL, Leathley MJ, Gregson JM, Moore AP, Smith TL, Sharma AK. Prevalence of spasticity post stroke. Clin Rehabil 2002; 16(5): 515-522, (ID 1915001)). Espasticidade é definida como um distúrbio motor caracterizado por um aumento velocidade-dependente em reflexos de estiramento tônico (tônus muscular) com contrações exageradas de tendão, resultante de hiperexcitabilidade do reflexo de estiramento, como um componente da síndrome de neurônio motor superior (4). Em alguns pacientes, a espasticidade pode ser benéfica, conforme no caso de espasticidade do extensor de quadril e joelho, a qual pode permitir sustentar peso, com o membro afetado atuando como uma tala (5). Contudo, na maioria dos pacientes, a espasticidade causa dificuldades nas atividades da vida diária, tais como se vestir e limpar a palma da mão contraída (6). De acordo com o ensinamento da presente invenção, padrões clínicos comuns de deformidade as-

sociada à espasticidade nos grupos de músculos correspondentes são tratados com o componente neurotóxico.

O termo "bexiga urinária" refere-se a um distúrbio da bexiga frequentemente, mas não necessariamente, resultante de uma lesão na corda espinhal ou esclerose múltipla ou trauma que resulta em incontinência e urinação deficiente. De preferência, o músculo-alvo de administração de neurotoxina é o músculo esfíncter estriado na uretra, conforme descrito por outros (Schurch B. The role of botulinum toxin in neurourology). *Drugs Today* 2004; 40(3): 205-212. (ID 3097145); Schurch B, De Seze M, Denys P, Chartier-Kastler E, Haab F, Everaert K, e outros. Botulinum toxin type a is a safe and effective treatment for neurogenic urinary incontinence: results of a single treatment, randomized, placebo controlled 6-month study. *J Urol* 2005; 174(1): 196-200. (ID 3528462)).

O termo "incontinência" significa incontinência urinária, a qual é a incapacidade de controlar o fluxo de urina da bexiga. Existem vários tipos e graus de incontinência, os quais estão dentro do escopo do ensinamento da presente invenção: incontinência de transbordamento é uma condição na qual a bexiga retém urina após urinar; como uma consequência, a bexiga continua cheia a maioria do tempo, resultando uma infiltração involuntária de urina da bexiga; incontinência de tensão é a descarga involuntária de urina quando há pressão aumentada sobre a bexiga, como quando se tosse ou levanta objetos pesados; incontinência total é a incapacidade de controlar voluntariamente os esfíncter da bexiga e uretra, resultando em perda total de capacidade retentora. No tratamento de incontinência, a composição mencionada aqui pode, por exemplo, ser injetada cistoscopicamente no músculo detrusor, excluindo a região trigonal (Schurch B. The role of botulinum toxin in neurourology. *Drugs Today* 2004; 40(3): 205-212. (ID 3097145) ; Schurch B, De Seze M, Denys P, Ghartier-Kastler E, Haab F, Everaert K. e outros. Botulinum toxin type a is a safe and effective treatment for neurogenic urinary incontinence: results of a single treatment, randomized, placebo controlled 6-month study. *J Urol* 2005; 174(1): 196-200.(ID 3528462)).

O termo "hiperplasia prostática" refere-se a um alargamento da

próstata no qual os elementos normais da glândula prostática aumentam de tamanho e número. Seu desvio de massa pode comprimir a uretra, a qual trafega através do centro da próstata, impedindo o fluxo de urina da bexiga através da uretra para fora. Isso pode levar à retenção de urina e à necessidade de micção freqüente. Se hiperplasia prostática é grave, bloqueio completo pode ocorrer. Após injeção da composição descrita aqui na próstata, uma redução significativa de sintomas, marcadores de próstata no soro, volume da próstata, volume de urina residual pós-micção e taxas de fluxo urinário de pico são observados. Resultados similares foram descritos por outros (Maria G, Brisinda G, Civello IM, Bentivoglio AR, Sganga G, Albanese A. Relief by botulinum toxin of voiding dysfunction due to benign prostatic hyperplasia: results of a randomized, placebo-controlled study. *Urology* 2003; 62(2): 259-265. (ID 2562820)).

"Paralisia Cerebral" descreve um amplo espectro de deficiências orgânicas piramidais que causam paresia, disfunções extrapiramidais que causam distonia, rigidez, espasticidade e espasmos, componentes apráxicos e disfunções de coordenação. Paralisia cerebral (Koman LA, Mooney JF, Smith BP, Goodman A, Mulvaney T. Management of spasticity in cerebral palsy with botulinum - A toxin: report of a preliminary, randomized, double-blind trial. *J Pediatr Orthop* 1994; 14(3): 299-303. (ID 1767458); Pidcock FS. The emerging role of therapeutic botulinum toxin in the treatment of cerebral palsy. *J Pediatr* 2004; 145(2 Supl.): S33-30 S35. (ID 2994781)) pode acontecer após hemorragia cerebral, asfixia, nascimento prematuro e outras complicações perinatais. Ela é uma condição de longa duração que causa movimentos não-coordenados, paresias e várias formas de hiperatividade muscular. Pacientes afetados por paralisia cerebral, quando tratados de acordo com os métodos descritos aqui, experimentem uma melhora funcional de músculos hiperativos.

Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, o músculo espástico é um músculo liso ou estriado. O tecido-alvo para o componente neurotóxico no tratamento de distúrbios de hiperatividade muscular pode ser, em princípio, todos músculos estriados e lisos do corpo humano,

conforme descrito em Sobotta, Johannes: Atlas der Anatomie des Menschen. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005. Os músculos mencionados nessa referência são incorporados aqui por referência. Os métodos da presente invenção podem objetivar qualquer um desses músculos.

5 A presente invenção também refere-se a um método de redução de linhas faciais ou rugas da pele ou de remoção de assimetrias faciais, o método compreendendo administração, a um indivíduo, de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo des-
10 provida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que (a) o indivíduo é um ser humano; (b) a composição é administrada através de injeção subcutânea ou intramuscular em ou na proximidade de um ou mais músculos faciais ou músculos envolvidos na formação da ruga da pele ou da assimetria; e (c) a composição é admi-
15 nistrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

 Esse método da presente invenção permite tratar músculos fa-
20 ciais ou rugas da pele de um paciente ou uma assimetria facial. Tipicamente, quantidades menores de componente neurotóxico são usadas em tal tratamento cosmético. Tais quantidades estão, de preferência, na faixa de 1 a 5, 5 a 10, 10 a 20 ou 20 a 50 Unidades. Tais quantidades totais podem ser administradas nos mesmos dias ou em um dia subsequente de tratamento. Por
25 exemplo, durante uma primeira sessão de tratamento, uma primeira fração da dose pode ser administrada. Essa primeira fração é, de preferência uma fração subótima, isto é, uma fração que não remove as rugas ou linhas da pele completamente. Durante uma ou mais sessões de tratamento, a fração restante da dose total pode ser administrada.

30 Em uma modalidade preferida da presente invenção, a composição é injetada nas linhas de expressão, linhas horizontais na testa, "pés de galinha", dobras periorais, marcas de expressão, queixo duplo e/ou faixas

platismais.

Em outra modalidade preferida da presente invenção, o referido músculo é selecionado do grupo consistindo dos seguintes músculos: *splenius capitis*, esternocleidomastóide, complexo do escaleno, elevador da escápula, *semispinalis*, *longissimus capitis*, *longissimus cervicis*, *multifidus*, *obliquus capitis inferior*, *obliquus capitis superior*, *rectus capitis posterior maior*, *rectus capitis posterior menor*, trapézio/*pars horizontalis*, trapézio/*pars cervicalis*, músculos supra-hióides, músculos infra-hióides, digástrico, pterigóide medial, pterigóide lateral, masseter, temporal, *orbicularis oculi*, *nasalis*, *procerus*, corrugador do supercílio, depressor do ângulo oral, depressor do lábio inferior, frontal, elevador do lábio superior, elevador do lábio superior *alaeque nasi*, *orbicularis oris*, *risorius*, zigomático menor, zigomático maior, deltóide, tríceps braquial, braquio-radial, bíceps braquial, *pronator quadratus*, *pronator teres*, *flexor carpi radialis*, *flexor carpi ulnaris*, *flexor pollicis longus*, *opponens*, *interossei*, *lumbricales*, *adductor pollicis*, *flexor pollicis brevis*, *flexor digitorum superficialis*, *flexor digitorum profundus*, grupo dos adutores, quadríceps femoral, tendões, tríceps *surae*, *tibialis posterior*, *flexor hallucis longus*, *tibialis anterior*, *extensor hallucis longus*, *extensor digitorum longus*, *flexor hallucis brevis*, *flexor digitorum brevis*, músculos paraverterbrais.

O componente neurotóxico mencionado aqui acima pode ser parte de uma composição ou composição farmacêutica. Essa composição farmacêutica pode conter componentes farmacêuticamente ativos adicionais. "Composição farmacêutica" é uma formulação na qual um ingrediente ativo para uso como um medicamento ou diagnóstico está contido ou compreendido. Tal composição farmacêutica pode ser adequada para diagnóstico ou administração terapêutica (isto é, através de injeção intramuscular ou subcutânea) a um paciente humano. A composição farmacêutica pode ser liofilizada ou seca a vácuo, reconstituída ou estar em solução. Quando reconstituída, é preferido que a solução reconstituída seja preparada adicionando solução salina fisiológica estéril (NaCl a 0,9%).

Tal composição pode compreender componentes adicionais, tais como um tampão de pH, excipiente, diluente, crioprotetor e/ou estabilizante.

zante.

"Tampão de pH" refere-se a uma substância química que é capaz de ajustar o valor de pH de uma composição, solução e similares para um determinado valor ou uma determinada faixa de pH.

5 "Estabilização", "estabiliza" ou "estabilizar" significa que o ingrediente ativo, isto é, o componente neurotóxico em uma composição farmacêutica reconstituída ou em solução aquosa tem mais de cerca de 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e até cerca de 100% da toxicidade que o componente neurotóxico biologicamente ativo tinha antes de ser incorpo-
10 rado na composição farmacêutica. A atividade da preparação pode ser determinada conforme descrito aqui em alguma parte.

"Crioprotetor" refere-se a excipientes os quais resultam no ingrediente ativo, isto é, um componente neurotóxico em uma composição farmacêutica reconstituída ou em solução aquosa, tendo mais de cerca de
15 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e até cerca de 100% da toxicidade que o componente neurotóxico biologicamente ativo tinha antes de ser incorporado na composição farmacêutica. A atividade do preparado pode ser determinada conforme descrito aqui em alguma parte aqui.

Exemplos de tais estabilizantes são gelatina ou albumina, de
20 preferência de origem humana ou obtida de uma fonte recombinante. Os estabilizantes podem ser modificados através de meios químicos ou através de genética recombinante. Em uma modalidade preferida da presente invenção, considera-se o uso de álcoois, por exemplo, inositol, manitol, como excipientes crioprotetores para estabilizar proteínas durante liofilização.

25 Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, o estabilizante pode ser um agente de estabilização não proteináceo compreendendo ácido hialurônico ou polivinilpirrolidona ou polietileno glicol ou uma mistura de dois ou mais dos mesmos. Tal composição é considerada como sendo uma composição mais segura que possui estabilidade acentuada.

30 Em uma modalidade mais preferida da presente invenção, a composição farmacêutica pode compreender o componente neurotóxico e um ácido hialurônico ou uma polivinilpirrolidona ou um polietileno glicol, tal

composição tendo, opcionalmente, o pH estabilizado por um tampão de pH adequado, em particular por um tampão de acetato de sódio e / ou um poliálcool crioprotetor.

Quer a composição farmacêutica compreenda ou não, além do
5 componente neurotóxico, componentes adicionais, tais como albumina, ácido hialurônico, uma polivinilpirrolidona e/ou um estabilizante de polietileno glicol, a composição farmacêutica mantém sua potência substancialmente inalterada durante períodos de seis meses, um ano, dois anos, três anos e/ou quatro anos quando armazenada em uma temperatura entre cerca de
10 +8 °C e cerca de -20°C. Adicionalmente, as composições farmacêuticas indicadas podem ter uma potência ou recuperação percentual de entre cerca de 20% e cerca de 100% quando de constituição.

Uma composição farmacêutica, dentro do escopo da presente invenção, pode incluir o componente neurotóxico ou mais componentes adicionais. De preferência, as composições farmacêuticas descritas aqui têm
15 um pH de entre cerca de 4 e 7,5 quando reconstituídas ou quando de injeção, mais preferivelmente um pH entre cerca de 6,8 e um pH de 7,6 e, ainda mais preferivelmente, um pH entre 7,4 e um pH de 7,6. Geralmente, a composição farmacêutica da presente invenção compreende o componente neurotóxico em uma quantidade de cerca de 6 pg a 30 ng, de preferência o
20 componente neurotóxico tem uma atividade biológica de 50 a 250 unidades de LD₅₀ por 15 ng de componente neurotóxico, conforme determinado em um ensaio de LD₅₀ de camundongo. Mais preferivelmente, o componente neurotóxico tem uma atividade biológica de cerca de 150 LD₅₀.

25 A composição farmacêutica da presente invenção pode compreender uma neurotoxina e um ácido hialurônico. O ácido hialurônico estabiliza a neurotoxina. As composições farmacêuticas descritas aqui podem ter um pH de entre cerca de 4 e 7,5 quando reconstituídas ou quando de injeção. O ácido hialurônico na presente composição farmacêutica é, de preferência, combinado com o presente componente neurotóxico em uma quantidade de 0,1 a 10 mg, especialmente 1 mg de ácido hialurônico por ml em
30 uma solução de toxina botulínica a 200 U/ml. Mais preferivelmente, a solu-

ção em questão contém também um tampão de acetato de sódio a 1-100 mM, especialmente a 10 mM.

Em outra modalidade preferida, a composição pode conter um poliálcool como crioprotetor. Exemplos de poliálcoóis que poderiam ser usados incluem, por exemplo, inositol, manitol e outros álcoois de não-redução.

Em particular, aquelas modalidades da composição farmacêutica da presente invenção não compreendendo um estabilizante proteínico, de preferência, não contêm trealose ou maltotriose ou açúcar relacionado ou compostos de polihidróxi os quais são, algumas vezes, usados como crioprotetores.

A polivinilpirrolidona na presente composição farmacêutica é, de preferência, combinada com o presente componente neurotóxico em uma quantidade de 10 a 500 mg, especialmente 100 mg de polivinilpirrolidona por ml em uma solução de toxina botulínica a 200 U/ml. Mais preferivelmente, a solução em questão contém também um tampão de acetato de sódio a 1-100 mM, especialmente a 10 mM.

O polietileno glicol na presente composição farmacêutica é, de preferência, combinado com o presente componente neurotóxico em uma quantidade de 10 a 500 mg, especialmente 100 mg de polietileno glicol por ml em uma solução de toxina botulínica a 200 U/ml. Mais preferivelmente, a solução em questão também contém um tampão de acetato de sódio a 1-100 mM, especialmente a 10 mM.

Assim, a presente invenção abrange, em uma modalidade mais preferida, um componente neurotóxico formulado em uma composição farmacêutica, a qual contém um estabilizante de ácido hialurônico ou um estabilizante de polivinilpirrolidona ou um estabilizante de polietileno glicol. Adicionalmente, a composição farmacêutica pode conter um sistema tampão de acetato de sódio e/ou um crioprotetor alcoólico.

Os exemplos a seguir são fornecidos por meio de ilustração apenas e não se destinam a ser limitativos.

Exemplo 1: Terapia com toxina botulínica para tratamento de distonia cervical

Um paciente de 45 anos de idade sofrendo de distonia cervical é avaliado com relação à terapia com toxina botulínica. Após todos os exames apropriados, um esquema de injeção é construído e toxina botulínica isenta de proteínas de formação de complexo é aplicado conseqüentemente em uma dose total de 300 MU. Quando de reavaliação após 2 semanas, a sintomatologia é melhorada, mas há a necessidade de incluir músculos-alvo adicionais e aumentar a dose de toxina botulínica nos músculos-alvo inicialmente injetados. Duas semanas depois, o paciente é reavaliado novamente e o resultado do tratamento é ótimo.

Efeitos adversos não ocorrem. Até o momento, quando de 7 séries de injeção subseqüentes, os resultados de tratamento são mantidos sem qualquer indicação de falha de terapia anticorpo-induzida.

Exemplo 2: Terapia com toxina botulínica para tratamento de blefarospasmo. Curta duração de ação

Uma paciente de 62 anos de idade sofrendo de blefarospasmo é tratada com um medicamento contendo o componente neurotóxico da presente invenção, isento de proteínas de formação de complexo, em uma dose total de 48 MU com excelentes resultados. 4 semanas após as injeções com o componente neurotóxico, o efeito começa a declinar. Após mais 2 semanas, o efeito do tratamento cessou quase que completamente. Reinjeções são realizadas 7 semanas após a série de injeções iniciais. Terapia com o componente neurotóxico é repetida na dose inicial e com efeitos idênticos. Terapia com o componente neurotóxico é continuada durante 6 séries de injeções subseqüentes com excelentes resultados terapêuticos e sem qualquer indicação de falha de terapia anticorpo-induzida.

Exemplo 3: Terapia com toxina botulínica para tratamento de espasticidade generalizada. Aplicação em alta dose

Um paciente de 35 anos de idade sofrendo de lesão cerebral hipóxica com espasticidade generalizada. O componente neurotóxico da presente invenção, isento de proteínas de formação de complexo em uma dose total de 750 MU, é administrado em três alíquotas de 250 MU fornecidas em intervalos de 1 dia. 2 semanas após a aplicação, a condição melhorou subs-

tancialmente. Efeitos adversos, nem locais nem regionais nem sistêmicos, não podem ser detectados. Quando de 7 séries de injeções subseqüentes, o efeito terapêutico é estável sem ocorrência de efeitos adversos. Não há indicação de falha de terapia anticorpo-induzida.

5 Exemplo 4: Uso cosmético de toxina botulínica. Dificuldades na construção do esquema de injeção e curta duração de ação

10 Uma cliente de 40 anos de idade apresentando linhas de expressão franzida na testa e linhas frontais horizontais foi tratada com 20 MU de toxina botulínica isenta de proteínas de formação de complexo (isto é, o componente neurotóxico da presente invenção). 2 semanas depois, houve uma melhora da sintomatologia, mas injeção adicional de 20 MU de toxina botulínica é necessária. 2 semanas depois, o resultado é totalmente satisfatório para a paciente. 4 semanas depois, o efeito favorável começa a declinar, de modo que reinjeções de toxina botulínica em uma dose total de 40 MU se tornam necessárias. Até o momento, a cliente sofreu 4 séries de injeções subseqüentes com doses totais de 40 MU cada. Não há indicação de falha de terapia anticorpo-induzida.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de uma doença ou condição causada por ou associada à inervação colinérgica hiperativa de músculos ou glândulas exócrinas em um paciente, o método compreendendo administração de
5 uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina *Clostridium botulinum*, em que:

(a) o paciente é um ser humano

10 (b) a composição é administrada através de injeção e

(c) a composição é administrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro
15 tratamento.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o segundo tratamento é realizado de forma a melhorar o efeito de tratamento do primeiro tratamento.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que:

20 (a) o paciente é um paciente com um distúrbio grave ou movimento ou espasticidade grave; e

(b) a quantidade eficaz administrada excede a 500 U de componente neurotóxico em adultos ou excede a 15 U/kg de peso corporal em crianças.

25 4. Método de acordo com a reivindicação 3, em que a quantidade a qual excede a 500 U é uma quantidade total em adultos ou excede a 15 U/kg de peso corporal em crianças e em que a quantidade é administrada através de:

30 (a) injeção de uma primeira fração dessa quantidade durante uma primeira sessão de tratamento, e

(b) injeção da fração restante durante uma ou mais sessões de tratamento subsequentes, em que as sessões de tratamento subsequentes

são esquematizadas pelo menos um dia após a primeira sessão de tratamento.

5 5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, em que o paciente é um ser humano que tenha sido tratado com toxina *Clostridium botulinum*, mas que se queixa de uma diminuição do efeito de tratamento e que requer tratamento antes de expirar 3 meses após o tratamento.

10 6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em que a glândula hiperativa é uma glândula exócrina autonômica e em que a composição é injetada em ou próximo dessa glândula.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, em que:

(a) a glândula é selecionada do grupo consistindo em glândula sudorípara, glândula lacrimal, glândula salivar e glândula mucosal; ou

15 (b) a glândula está associada a uma condição ou doença selecionada do grupo consistindo em síndrome de Frey, síndrome de lágrimas de Crocodilo, hiperidrose axilar, hiperidrose palmar, hiperidrose plantar, hiperidrose da cabeça e pescoço, hiperidrose do corpo, rinorréia ou hipersalivação relativa em pacientes com derrame, mal de Parkinson ou esclerose lateral amiotrófica.

20 8. Método de tratamento de uma doença ou condição causada por inervação colinérgica hiperativa de um músculo em um paciente, o método compreendendo administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente de proteína do complexo de toxina *Clostridium botu-*
25 *linum*, em que:

(a) o paciente é um ser humano com um distúrbio grave de movimento ou espasticidade grave;

(b) a composição é administrada através de injeção; e

30 (c) a quantidade eficaz administrada excede a 500 U de componente neurotóxico em adultos ou excede a 15 U/kg de peso corporal em crianças.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, em que a quantidade de a qual excede a 500 U é uma quantidade total em adultos ou excede a 15 U/kg de peso corporal em crianças e em que a quantidade é administrada através de:

5 (a) injeção de uma primeira fração dessa quantidade durante uma primeira sessão de tratamento; e

(b) injeção da fração restante durante uma ou mais sessões de tratamento subsequêntes, em que a sessão de tratamento subsequente é esquematizada pelo menos um dia após a primeira sessão de tratamento.

10 10. Método de acordo com a reivindicação 8 ou 9, em que a composição é administrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

15 11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em que a doença ou condição é ou envolve distonia de um músculo.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, em que a distonia:

(a) é selecionada do grupo consistindo em (1) distonia craniana, incluindo blefarospasmo, distonia oromandibular do tipo com abertura da mandíbula ou fechamento da mandíbula, bruxismo, síndrome de Meige, distonia lingual, apraxia de abertura da pálpebra, (2) distonia cervical, incluindo antecolo, retrocolo, laterocolo, torcicolo, (3) distonia faríngea, (4) distonia laringeal, incluindo disfonia espasmódica do tipo adutor ou do tipo abductor, 20 dispnéia espasmódica, (5) distonia de membros, incluindo distonia do braço, tais como distonias tarefa-específicas, incluindo câimbra do escritor, câimbras de músicos ou câimbras de golfista, distonia da perna envolvendo adução da coxa, abdução da coxa, flexão de joelho, extensão de joelho, flexão de tornozelo, extensão de tornozelo ou deformidade *equinovarus*, distonia 25 dos pés envolvendo dedo estriatal, flexão de dedos ou extensão de dedos, 30 distonia axial, tal como síndrome de Pisa ou distonia do dançarino de balé, distonia segmentária, hemidistonia ou distonia generalizada, (6) distonia em

Lubag, (7) distonia em degeneração córtico-basal, (8) distonia tardia, (9) distonia em ataxia espino-cerebelar, (10) distonia em mal de Parkinson, (11) distonia em doença de Huntington, (12) distonia em doença de Hallervorden Spatz, (13) discinesias dopa-induzidas/distonia dopa-induzida, (14) discinesias tardias/distonia tardia, (15) discinesias /distonias paroxísmicas (cinesio-gênicas, não cinesiogênicas, ação-induzidas); ou

(b) envolve um padrão clínico selecionado do grupo consistindo em torcicolo, laterocolo, retrocolo, anterocolo, cotovelo flexionado, antebraço protonado, pulso flexionado, polegar-na-palma ou punho apertado.

10 13. Método de acordo com a reivindicação 11, em que o músculo é selecionado do grupo consistindo em *splenius ipsilateral*, esternocleidomastóide contralateral, esternocleidomastóide ipsilateral, *splenius capitis*, complexo do escaleno, elevador da escápula, *postvertebralis*, trapézio ipsilateral, elevador da escápula, *splenius capitis* bilateral, trapézio superior, post-
15 vertebralis inferior, esternocleidomastóide bilateral, complexo do escaleno, complexo submental, *brachioradialis*, *bicepsbrachialis*, *pronator quadratus*, *pronator teres*, *flexor carpi radialis*, *flexor carpi ulnaris*, *flexor pollicis longus*, *adductor pollicis*, *flexor pollicis brevis / opponens*, *flexor digitorum superficialis*, *flexor digitorum profundus*.

20 14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em que a doença ou condição é ou envolve espasticidade de um músculo.

15. Método de acordo com a reivindicação 14, em que a espasticidade é ou está associada a:

25 (1) uma condição espástica em encefalite e mielite relativa a (a) processos auto-imunes, incluindo com relação à esclerose múltipla, mielite transversal, síndrome de Devic, (b) infecções virais, (c) infecções bacterianas, (d) infecções parasitárias ou (e) infecções fúngicas, (2) paraparesia espástica hereditária, (3) síndrome pós-apoplética resultante de enfarte hemisférico, enfarte do tronco cerebral ou enfarte da coluna espinhal, (4) um trauma no sistema nervoso central envolvendo, por exemplo, uma lesão hemisférica, uma lesão no tronco cerebral, uma lesão na coluna espinhal, (5) uma
30

hemorragia no sistema nervoso central, tal como um hemorragia intracerebral, uma hemorragia subaracnoidal, uma hemorragia subdural ou uma hemorragia intra-espinhal ou (6) uma neoplasia, por exemplo, um tumor hemisférico, tumores no tronco cerebral ou um tumor na coluna espinhal. Outros

5 tratamentos podem ser o tratamento de bexiga urinária, bexiga espástica, incontinência, esfíncter espástico, espasticidade causada por paralisia cerebral ou hiperplasia prostática.

16. Método de acordo com a reivindicação 14, em que o músculo é um músculo liso ou estriado.

10 17. Método de redução de linhas faciais ou rugas da pele ou de remoção de assimetrias faciais, o método compreendendo administração, a um indivíduo, de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de um componente neurotóxico de um complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, a composição sendo desprovida de qualquer outro componente

15 de proteína do complexo de toxina de *Clostridium botulinum*, em que:

(a) o indivíduo é um ser humano;

(b) a composição é administrada através de injeção subcutânea ou intramuscular em ou na proximidade de um ou mais músculos faciais ou músculos envolvidos na formação da ruga da pele ou da assimetria; e

20 (c) a composição é administrada em um intervalo de menos de três meses, o intervalo compreendendo um primeiro tratamento e um segundo tratamento, em que a quantidade administrada no segundo tratamento pode ser menor, maior ou idêntica à quantidade administrada no primeiro tratamento.

25 18. Método de acordo com a reivindicação 17, em que a composição é injetada nas linhas de expressão, linhas horizontais na testa, "pés de galinha", dobras periorais, marcas de expressão, queixo duplo e/ou faixas platismais.

30 19. Método de acordo com a reivindicação 17 ou 18, em que o músculo injetado é selecionado do grupo consistindo em corrugador do supercílio, *orbicularis oculi*, *procerus*, *venter frontalis* do occipito-frontal, parte orbital do *orbicularis oculi*, *nasalis*, lábio superior: *orbicularis oris*, lábio inferi-

or; depressor do ângulo oral, *mentalis e platisma*. Esses são os músculos envolvidos na formação das linhas mencionadas acima.

20. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, em que o componente neurotóxico é selecionado do grupo consistindo do tipo A, B, C, D, E, F, G ou uma mistura dos mesmos.

RESUMO

Patente de Invenção: "**APLICAÇÃO EM ALTA FREQUÊNCIA DE COMPONENTE NEUROTÓXICO DE TOXINA BOTULÍNICA**".

5 A presente invenção refere-se a métodos para tratar doenças e distúrbios através de administração de uma composição contendo o componente neurotóxico de um complexo de toxina *Clostridium botulinum*, em que a composição é desprovida de qualquer outra proteína do complexo de toxina *Clostridium botulinum* e em que a composição é administrada em pequenos intervalos e/ou em elevadas doses.