



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2009102848/15**, **28.06.2007**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.06.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
29.06.2006 US 60/817,756

(43) Дата публикации заявки: **10.08.2010** Бюл. № 22

(45) Опубликовано: **20.06.2012** Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **WO 00/74703**, **14.12.2000**. **US 20040126397**,
01.07.2004. **EP 1366770**, **03.12.2003**.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **29.01.2009**

(86) Заявка РСТ:
EP 2007/005754 (28.06.2007)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2008/000490 (03.01.2008)

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. А.В.Мицу, рег.№ 364**

(72) Автор(ы):

**МАРКС Маттиас (DE),
ГРАФЕ Зузанне (DE),
БЕНЕККЕ Райнер (DE),
ДРЕССЛЕР Дирк (DE)**

(73) Патентообладатель(и):

**МЕРЦ ФАРМА ГМБХ УНД КО.
КГАА (DE)**

**(54) ВЫСОКАЯ ЧАСТОТА ВВЕДЕНИЯ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА
БОТУЛОТОКСИНА**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине и может быть использована для лечения заболеваний и расстройств введением композиции, содержащей нейротоксический компонент токсинового комплекса *Clostridium botulinum*. При этом композиция лишена любого другого белка токсинового

комплекса *Clostridium botulinum*. Композицию вводят через короткие интервалы и/или в больших дозах. Группа изобретений позволяет увеличить дозы и частоту лечения, не вызывая образования нейтрализующих антител против нейротоксического компонента. 4 н. и 15 з.п.ф-лы, 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 38/48 (2006.01)**A61P 21/00** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2009102848/15, 28.06.2007**(24) Effective date for property rights:
28.06.2007

Priority:

(30) Convention priority:
29.06.2006 US 60/817,756(43) Application published: **10.08.2010 Bull. 22**(45) Date of publication: **20.06.2012 Bull. 17**(85) Commencement of national phase: **29.01.2009**(86) PCT application:
EP 2007/005754 (28.06.2007)(87) PCT publication:
WO 2008/000490 (03.01.2008)

Mail address:

**129090, Moskva, ul.B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. A.V.Mitsu, reg.№ 364**

(72) Inventor(s):

**MARKS Mattias (DE),
GRAFE Zuzanne (DE),
BENEKKE Rajner (DE),
DRESSLER Dirk (DE)**

(73) Proprietor(s):

MERTs FARMA GMBKh UND KO. KGAA (DE)**(54) HIGH INTRODUCTION RATE OF NEUROTOXIC COMPONENT OF BOTULINUM TOXIN**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions refers to medicine and is applicable for treating diseases and disorders by introducing a composition containing a neurotoxic component of the toxin complex Clostridium botulinum. The composition is free from

any other protein of the toxin complex Clostridium botulinum The composition is introduced in short intervals and/or in large doses.

EFFECT: group of inventions allows increasing doses and rate of treatment not causing formation of neutralised antibodies to the neurotoxic component.

18 cl, 4 ex

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к способам лечения заболеваний и расстройств введением композиции, содержащей нейротоксический компонент токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где композиция лишена любого другого белка токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, и где композицию вводят через короткие интервалы и/или в больших дозах.

В частности, настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, вызванного или связанного с гиперактивной холинергической иннервацией мышц или экзокринных желез пациента, способ, включающий введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где (a) пациент является человеком, (b) композицию вводят инъекцией, и (c) композицию вводят в интервале менее трех месяцев, интервал, включающий первую терапию и вторую терапию, где количество, введенное при второй терапии, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному при первой терапии. Настоящее изобретение также относится к способу лечения заболевания или состояния, вызванного или связанного с патологической активностью мышцы пациента, способ, включающий введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, в котором (a) пациент является человеком с тяжелым нарушением движения или тяжелой мышечной спастичностью; (b) композицию вводят инъекцией; и (c) эффективное вводимое количество превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей. Наконец, настоящее изобретение относится к способу сокращения складок или морщин или устранения асимметрии лица, способ, включающий введение субъекту композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где (a) субъект является человеком; (b) композицию вводят в виде подкожной или внутримышечной инъекции в, или рядом, одну или более мимических мышц или мышц, вовлеченных в образование морщин или асимметрии; и (c) композицию вводят в интервале менее чем три месяца, интервал, включающий первую терапию и вторую терапию, где количество, введенное при второй терапии, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному при первой терапии.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Ботулотоксин производится бактерией *Clostridium*. Есть семь антигенно-различных серотипов ботулотоксина, а именно, ботулотоксин А, В, С, D, Е, F и G. Ботулотоксины при выделении из лизированных культур *Clostridium* в целом ассоциируются с другими бактериальными белками, которые вместе образуют токсинный комплекс.

Нейротоксическая подгруппа этого комплекса упомянута здесь как "нейротоксический компонент" комплекса ботулотоксина. Термины "ботулотоксин" или "ботулотоксины" относятся к нейротоксическому компоненту, лишенному любых других клостридийных белков, но также и к "комплексу ботулотоксина": это используется в случаях, когда отсутствие дискриминации между двумя состояниями нейротоксического компонента необходимо или желательно. Этот комплекс обычно содержит дополнительные, так называемые "нетоксичные" белки, которые заявители называют "комплексообразующими белками" или "бактериальными белками".

Комплекс нейротоксических составляющих и бактериальных белков упоминается как «токсиновый комплекс *Clostridium botulinum*» или «комплекс ботулотоксина».

Молекулярная масса этого комплекса может изменяться от приблизительно 300000 до приблизительно 900000 Да. Комплексообразующими белками являются, например, различные гемагглютинины. Белки этого токсинового комплекса непосредственно не токсичны, но обеспечивают стабильность нейротоксическому компоненту и ответственны за оральную токсичность при ботулиновых интоксикациях. В отличие от токсинового комплекса, нейротоксический компонент в его выделенной и чистой форме, то есть лишенный любых комплексообразующих клостридийных белков, является неустойчивой кислотой и не сопротивляется агрессивной среде в желудочно-кишечном тракте.

Нейротоксичный ботулиновый компонент токсинового комплекса ботулизма первоначально образован как одиночная полипептидная цепь, имеющая, в зависимости от серотипа А, молекулярную массу приблизительно 150 кДа. В других серотипах нейротоксический компонент, как наблюдали, изменялся приблизительно между 145 и приблизительно 170 кДа, в зависимости от бактериального источника. В случае серотипа А, например, в результате протеолитической обработки полипептида образуется активированный полипептид в форме двойной полипептидной цепи, состоящей из тяжелой цепи и легкой цепи, которые связаны дисульфидным мостиком. У людей тяжелая цепь обуславливает закрепление с пресинаптическими холинергическими нервными окончаниями и поглощение клеткой токсина. Легкая цепь, как полагают, ответственна за токсические эффекты, действуя как цинк-эндопептидаза и расщепляя определенные белки, ответственные за мембранное слияние (SNARE комплекс) (см. например, Montecucco C., Shiavo G., Rosetto O: The mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. Arch Toxicol. 1996; 18 (Suppl.): 342-354)). Нарушая процесс мембранного слияния в пределах клеток, ботулотоксины предотвращают высвобождение ацетилхолина в синаптической щели. Полный эффект ботулотоксина в нервно-мышечной передаче должен прервать нервно-мышечную передачу и в действительности денервировать мышцы. У ботулотоксина также имеется активность в других периферических холинергических синапсах, вызывающая уменьшение слюноотделения или потоотделения.

Каждый серотип ботулинового токсина связан с серотипом определенным клеточным рецептором на пресинаптическом нервном окончании. Специфичность ботулотоксина для холинергических нейронов основана на высоком сродстве тяжелой цепи к клеточным рецепторам этих нервных окончаний (Ссылка: Katsekas S., Gremminlon G., Pich E.V.: Nerve terminal proteins; to fuse to learn. Transneuro Science; 1994; 17: 368-379).

Несмотря на его токсические эффекты, комплекс ботулинового токсина использовали как терапевтическое средство для лечения большого количества заболеваний. Применение у людей серотипа А ботулинового токсина одобрили в Соединенных Штатах в 1989 г. для лечения страбизма, блефароспазма и других нарушений. Это коммерчески доступно в виде белкового комплекса ботулинового токсина А, например, под торговым наименованием BOTOX (Allergan Inc) или под торговым наименованием DYSPORT (Ipsen Ltd). Для терапевтического применения комплекс вводили непосредственно в мышцу, которую следует лечить. При физиологическом рН токсин высвобождается из белкового комплекса, что дает желательный фармакологический эффект. Действие ботулотоксина только временное, по этой причине может потребоваться повторное введение ботулотоксина для

поддержания терапевтического эффекта. Во многих случаях устойчивость к ботулотоксину наблюдалась после повторного введения комплекса белка ботулотоксина. У пациентов развивались соответствующие уровни нейтрализующих антител, направленных против нейротоксического компонента и блокирования его активности (Göschel H, Wohlfarth K, Frevert J, Dengler R, Bigalke H. (1997) *Exp Neurol*. 1997 Sep; 147(1):96-102). В результате терапия комплексом ботулотоксина становилась не эффективной для упомянутых пациентов (использующих, например, Botox или Dysport). Последующее применение препаратов ботулотоксина, таких как Botox или Dysport, неэффективно. Титр антител может снизиться, если лечение комплексами белка ботулотоксина приостановлено. Однако период времени, в течение которого должно быть приостановлено лечение, может быть продолжительным (см., например, Dressier D, Bigalke H (2002) *Botulinum toxin antibody titres after cessation of botulinum toxin therapy*. *Mov Disord* 17:170-173).

Первоначально устойчивость к комплексу ботулотоксина считали редкой. Последующие сообщения позволили предположить частоту приблизительно 5% неэффективности лечения, вызванного антителами при терапии ботулотоксином пациентов при лечении цервикальной дистонии (Ссылка: 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*. 1999 Apr; 246(4):265-74). Это наблюдение было основано на ретроспективных исследованиях пациентов в единственном месте. Недавно, однако, сообщили о намного большей частоте случаев, предполагая, что это приблизительно 20% пролеченных субъектов, которых это затронуло (Ссылка: *The Muscular Nerve* May 2004, p. 630). Вообще, полагают, что риск вызванного антителами неблагоприятного исхода терапии убедительно коррелирует с введенной единственной дозой ботулотоксина.

Полагают, что белки, содержащиеся в комплексе, могут усиливать иммунный ответ. Другим фактором риска вызванного антителами неблагоприятного исхода терапии ботулотоксином является интервал между инъекциями, то есть интервал между последующей серией инъекций. Поэтому общей практикой является введение ботулотоксина только раз в три месяца, чтобы снизить риск образования антител. Пациентов, у которых эффект введения ботулина заканчивается раньше, можно лечить пероральными формами лекарственных средств. Эффективность таких пероральных лекарственных средств, однако, ограничена.

Другой неблагоприятный эффект комплексов белка ботулотоксина - его местное или системное распространение после инъекций в мышцы-мишени. Электромиография каждого отдельного волокна (SF-EMG) показала увеличение колебаний в мышцах, удаленных от места инъекции. Например (Alny et al., 1988 (Alny R.K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Löwenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. *Neurology* 1988; 38: 1780-1783), показано, что у пациентов, которых лечили, делая инъекции в мышцы шеи, увеличились колебания и плотность волокон в мышцах, удаленных от места инъекции. Эти расстройства возвращаются к норме приблизительно через три-шесть месяцев. Другим признаком системного распространения ботулотоксина после местной инъекции является возникновение изменений сердечно-сосудистых рефлексов и кровяного давления. (Ссылка: Alny R.K., Aminoff M.J., Gelb D.J., Löwenstein D.H.: Myomuscular effects distant from the site of botulinum neurotoxin injection. *Neurology* 1988; 38: 1780-1783)).

У некоторых пациентов введение протеинового комплекса ботулотоксина в больших дозах может воздействовать на мышцы, не предназначенные для лечения.

Например, при лечении блефароспазма протеиновым комплексом ботулотоксина распространение может повредить мышцу, поднимающую веко, вызвав птоз.

Поэтому не только риск образования антител, но также и риск системного распространения заставляют вводить ботулотоксин в сравнительно низких и, таким образом, менее эффективных дозах. Следовательно, врачам настоятельно рекомендуют вводить BOTOX или DYSPORT не чаще, чем раз в три месяца. Это относится, в особенности, к пациентам, которые настаивают на больших дозах ботулинового токсина.

Ввиду вышеизложенного, объектом изобретения является предоставление лечения пациентам, страдающим упомянутыми нарушениями, которое делает возможным введение препарата терапевтического ботулотоксина через более короткие интервалы и/или при использовании сравнительно больших доз. Так как препараты терапевтического ботулотоксина следует применять в определенных тканях-мишенях (например, определенных мышцах или железах), важным требованием является то, чтобы его распространение в соседнюю ткань было ограничено. Последним, но не менее важным требованием является сниженная антигенность препарата терапевтического ботулотоксина. Также объектом изобретения является обеспечение способов лечения заболевания, связанного со спазмом или дистонией мышц, подходящим лекарственным средством в режиме гибких и/или частых интервалов. Другим объектом изобретения является обеспечение косметического лечения с применением лекарственного средства через короткие интервалы со сниженным риском формирования антител и/или сниженным системным распространением.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, вызванного или связанного с гиперактивной холинергической иннервацией мышц или экзокринных желез пациента, включающему введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, когда (а) пациент является человеком, (b) композицию вводят инъекцией и (с) композицию вводят в интервале менее чем три месяца, интервал, включающий первую терапию и вторую терапию, когда количество, введенное при второй терапии, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному при первой терапии.

Примечательно, что идея настоящего изобретения, которое включает введение нейротоксического компонента комплекса ботулотоксина, в целом, делает возможным лечение любого состояния, связанного с гиперактивной холинергической иннервацией мышцы или экзокринной железы, где нейротоксический компонент блокирует секрецию ацетилхолина в синаптической щели. Поэтому лечение, предлагаемое в соответствии с настоящим изобретением, может быть направлено на любое из следующих показаний, большинство которых описано подробно в Dressler D. (2000) (*Botulinum Toxin Therapy*. Thieme Verlag, Stuttgart, New York):

- дистония
- краниальная дистония
- блефароспазм
- нижнечелюстная дистония
- по открыточелюстному типу
- по закрыточелюстному типу
- бруксизм
- синдром Meige

язычная дистония
 апраксия открытия века
 цервикальная дистония
 насильственный наклон головы вперед
 5 насильственный наклон головы назад
 насильственный наклон головы в сторону
 кривошея
 фарингеальная дистония
 10 гортанная дистония
 спазматический тип дисфонии/по приводящему типу
 спазматический тип дисфонии/по отводящему типу
 спазматическое диспноэ
 дистония конечности
 15 дистония верхней конечности
 дистония при выполнении специфических задач
 писчий спазм
 судороги музыканта
 20 спазм игрока в гольф
 дистония нижней конечности
 приведение бедра, отведение бедра
 коленное сгибание, коленное разгибание
 сгибание лодыжки, разгибание лодыжки
 25 эквиноварусная деформация
 дистония стопы
 стриарный палец ноги
 сгибание пальца ноги
 30 вытяжение пальца ноги
 осевая дистония
 пизанский синдром
 балетная дистония
 сегментарная дистония
 35 гемидистония
 генерализованная дистония
 дистонии при Lubag
 дистония при кортикобазальной дегенерации
 40 дистонии при Lubag
 остаточная дистония
 дистония при спиноцеребральной атаксии
 дистония при болезни Паркинсона
 дистония при болезни Хантингтона
 45 дистония при болезни Hallervorden Spatz
 допа-индуцированная дискинезия/допа-индуцированная дистония
 остаточная дискинезия/остаточная дистония
 пароксизмальные дискинезии/дистонии
 50 кинезиогенная
 некинезиогенная
 вызванная действием
 небный миоклонус

миоклонус
 миокимия
 ригидность
 доброкачественные мышечные спазмы
 наследственный дрожащий подбородок
 парадоксальная активность жевательных мышц
 спазмы жевательных мышц
 гипертрофическая бронхиальная миопатия
 гипертрофия жевательных мышц
 переднебольшеберцовая гипертрофия
 нистагм
 осциллопия
 супрануклеарный паралич фиксации взора
 эпилепсия парциальная непрерывная
 планируемая операция при спастической кривошее
 паралич отводящей мышцы голосовой складки
 устойчивая мутационная дисфония
 дисфункция верхнего сфинктера глотки
 гранулема голосовой складки
 заикание
 синдром Туретта
 миоклонус среднего уха
 защитное смыкание голосовой щели
 постларингэктомическое нарушение речи
 защитный птоз
 заворот век
 дисфункция сфинктера Одди
 псевдоахалазия
 неахалазийное эзофагиальное расстройство моторики
 вагинизм
 послеоперационная неподвижность
 тремор
 дисфункция мочевого пузыря
 асинергия сфинктера детрузора
 спазм сфинктера мочевого пузыря
 гимифасциальный спазм
 дискинезии реиннервации
 косметическое использование
 «гусиные лапки»
 нахмуренный лоб
 асимметрии лица
 ямки подбородочной мышцы
 синдром застывшего человека
 столбняк
 гиперплазия простаты
 лечение ожирения
 детский церебральный паралич
 косоглазие

смешанное
 паралитическое
 содружественное
 после операции при отслойке сетчатки
 после операции удаления катаракты
 при афакии
 миозитное косоглазие
 миопатическое косоглазие
 диссоциированное вертикальное отклонение
 как дополнение к хирургии косоглазия
 сходящееся косоглазие
 расходящееся косоглазие
 ахалазия
 анальные трещины
 экзокринная гиперфункция железы
 синдром Frey
 синдром крокодиловых слез
 гипергидроз
 подмышечный
 ладонный
 подошвенный
 ринорея
 относительная гиперсаливация
 при инсульте
 при болезни Паркинсона
 при боковом амиотрофическом склерозе
 спастические состояния
 при энцефалите и миелите
 аутоиммунные процессы
 рассеянный склероз
 поперечные миелиты
 синдром Devic
 вирусные инфекции
 бактериальные инфекции
 паразитарные инфекции
 микозы
 при наследственном спастическом парапарезе
 постапплектический синдром
 инфаркт полушарий
 инфаркт ствола мозга
 инфаркт спинного мозга
 при травме центральной нервной системы
 поражение полушарий
 поражение спинного мозга
 повреждение ствола мозга
 при кровоизлиянии центральной нервной системы
 кровоизлияние в мозг
 субарахноидальное кровоизлияние

субдуральное кровоизлияние
 кровоизлияние в спинной мозг
 при неоплазиях
 опухоли полушарий
 5 опухоли ствола головного мозга
 опухоли спинного мозга

Ботулотоксин получают, например, путем культивирования бактерий *Clostridium*. Предпочтительной разновидностью *Clostridium* согласно настоящему изобретению является *Clostridium botulinum*. Однако важно отметить, что нейротоксический компонент можно получить из любых других разновидностей бактерий, при условии, что это функциональный гомолог нейротоксического компонента, полученного из *Clostridium botulinum*. Композиция, используемая в способах настоящего изобретения, будет всегда содержать нейротоксический компонент, лишенный каких-либо белков *Clostridium botulinum*. Однако, производя нейротоксический компонент, токсин можно выделить из бактерий как комплекс, содержащий нейротоксический компонент, то есть белок, ответственный за токсическое действие у людей, а также другие бактериальные белки. Впоследствии нейротоксический компонент можно очистить от токсинового комплекса. Термины "токсиновый комплекс" или "комплекс ботулотоксина" или "комплекс ботулонейротоксина" означают, что они являются взаимозаменяемыми и относятся к комплексу с высоким молекулярным весом, включающему нейротоксический компонент приблизительно 150 кДа и, кроме того, нетоксичные белки *Clostridium botulinum*, включая гемагглютинин и белки негемагглютинина (Sakaguchi 1983; Sugiyama 1980).

Настоящее изобретение предусматривает лечение пациентов, характеризующихся наличием заболевания, связанного с гиперактивной холинергической иннервацией мышц или экзокринных желез. Термин "пациент" относится к пациентам, которые никогда не подвергались воздействию ботулотоксина, а также и к пациентам, которых подвергали воздействию ботулотоксина. У последней группы пациентов, возможно, образовались антитела, направленные против комплекса ботулотоксина или его компонентов. Такие антитела могут быть нейтрализующими антителами. Преимущественно, у пациентов нет титра антител выше 7 мЕд, в особенности, титра нейтрализующих антител выше 7 мЕд. Термин "титр антител не выше..." означает меньше чем 7 мЕд, например, от 1 мЕд до 6 мЕд или от 0,01 мЕд до 1 мЕд.

Термин "гиперактивная холинергическая иннервация" относится к синапсу, который характеризуется необычно высоким количеством высвобождения ацетилхолина в синаптическую щель. "Необычно высоко" относится к увеличению до 25%, до 50% или больше относительно активности, которую можно получить, сравнивая, например, высвобождение с тем же параметром в синапсе того же типа, но не находящемся в гиперактивном состоянии, при котором дистония мышцы может быть показателем гиперактивного состояния. «До 25%» означает, например, приблизительно от 1% до приблизительно 25%. Способы выполнения необходимых измерений известны в уровне техники.

Термин "приблизительно" в контексте настоящего изобретения означает "приблизительно" или "около". В контексте числовых значений, не передавая строгое числовое определение, термин можно рассмотреть для оценки значения, которое составляет $\pm 10\%$ от значения или указанного диапазона.

Термины "нейротоксический компонент" или "компонент нейротоксина" в контексте описания относятся к подгруппе комплекса ботулотоксина, который имеет

нейротоксическую активность и молекулярную массу приблизительно 150 кДа для серотипа А. Термин "нейротоксический компонент" также включает функциональные гомологи, обнаруженные в других серотипах *Clostridium botulinum*. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения нейротоксический компонент лишен любого другого белка *C. botulinum*, желательным также и РНК, потенциально связанной с нейротоксическим компонентом. Нейротоксический компонент может быть одноцепочечным белком-предшественником приблизительно 150 кДа или протеолитически обработанным нейротоксическим компонентом, включающим легкую цепь (L_c) приблизительно 50 кДа и тяжелую цепь (H_c) приблизительно 100 кДа, которые могут быть связаны одним или более дисульфидными мостиками (для обзора см. например, Simpson LL, Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004; 44:167-93). Специалисты в данной области будут принимать во внимание, что полная биологическая активность достигнута только после протеолитической активации, даже при том, что, предположительно, необработанный предшественник может проявлять некоторые биологические функции или быть частично активным. "Биологическая активность" относится к (а) закреплению рецептора, (b) интернализации, (c) транслокации через эндосомальную мембрану в цитозоль, и/или (d) эндопротеолитическому распаду белков, вовлеченных в слияние мембраны синаптического пузырька. Пробы *in vitro* для оценки биологической активности включают LD₅₀ для мыши и гемидиафрагмальную пробу мыши, как описано 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) and Dressler D, Lange M, Bigalke H (2005) (The mouse diaphragm assay for detection of antibodies against botulinum toxin type B. Mov Disord 20:1617-1619).

Биологическая активность обычно выражается в Мышиных Единицах (МЕд). 1 МЕд означает количество нейротоксического компонента, который убивает 50% указанной популяции мышей после интраперитонеальной инъекции, то есть введения мыши LD₅₀ внутривентрально (Schantz & Kauter, 1978). Термины "МЕд" и "Единица" или "Ед" являются взаимозаменяемыми. Альтернативно, биологическая активность может быть выражена в единицах летальной дозы (LDEд)/нг белка (то есть нейротоксического компонента). Термин "МЕд" используют в настоящем описании взаимозаменяемо с терминами "Ед" или "LDEд".

Термин "эффективное количество" означает количество нейротоксического компонента, после введения которого симптомы заболевания исчезают частично или полностью. Эффективное количество находится, в целом, в диапазоне от 1 до 2000 МЕд, но также можно использовать и дозы до 5000 МЕд. Когда пациенту следует вводить большие дозы нейротоксического компонента, это может быть целесообразно для деления лечения на более чем одну процедуру. Термин "более чем одна процедура" означает, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 процедур.

Предпочтительно, чтобы нейротоксический компонент, применяемый в способах по настоящему изобретению, был очищен от культуры *C. botulinum*. Способы для культивирования *C. botulinum* и очистки токсинового комплекса были описаны в уровне техники, рассмотренном в (Schantz & Kauter, 1978. Microbiological methods. Standardized assay for *Clostridium botulinum* neurotoxins. J Assoc Off Anal Chem 1978; 61(1): 96-99). Нейротоксический компонент может быть очищен от *C. Botulinum* по существу, как описано в способе DasGupta & Sathyamoorthy (DasGupta BR, Sathyamoorthy V. Purification and amino acid composition of type A botulinum neurotoxin. Toxicon. 1984; 22(3): 415-24). С этой целью *Clostridium botulinum* типа А культивировали, например, в 20 I

биореакторе в питательной среде, состоящей из 2% пептона протеозы, 1% экстракта дрожжей, 1% глюкозы и 0,05% тигликолата натрия. После роста в течение 72 часов токсин осаждали, добавляя 3N серной кислоты (окончательный pH 3,5). Осажденную и центрифугированную биомассу извлекали с помощью 0,2М фосфатно-натриевого буфера при pH 6,0. После удаления нуклеиновых кислот осаждением сульфатом протамина, токсин преципитировали, добавляя сульфат аммония. Осадок, который растворили и диализировали при 50 мМ фосфата натрия и pH 6,0, связали с колонкой DEAE-Sephadex® при том же pH и элюировали со 150 мМ NaCl. Это сопровождалось хроматографией на колонке QAE-Sephadex®, которая была уравновешена 50 мМ Tris/HCl буфером pH 7,9. Токсин элюировали через градиент NaCl. На последней стадии токсин хроматографировали с помощью SP-SEPHADEX® при pH 7,0. В этом случае связанный токсин элюировали из колонки, используя градиент NaCl (0-300 мМ). Очищенный токсин проанализировали с помощью электрофореза SDS-полиакриламидным гелем (SDS-PAGE), и в целом он демонстрирует чистоту 95±5%.

Ботулонейротоксины, в особенности токсиновый комплекс, описанный выше, были ранее отнесены к семи серологически различным типам A, B, C, D, E, F и G. В последние годы были идентифицированы различные группы A-(A1 и A2) и C-серотипов (C1 и C2). Здесь эти группы определяются как "подтипы".

Нейротоксический компонент серотипа A коммерчески доступен под торговой маркой XEOMIN производства Merz Pharmaceuticals в композиции, лишенной любых других белков токсинного комплекса *Clostridium botulinum*.

Альтернативно, нейротоксический компонент, используемый в способах настоящего изобретения, может быть произведен рекомбинантной генной экспрессией. С этой целью открытая рамка считывания, кодирующая нейротоксический компонент или его мутант, может быть клонирована в вектор, приспособленный к генной экспрессии в клетке-хозяине. Способы рекомбинантной генной экспрессии и белковой очистки известны опытным в данной области специалистам.

Рекомбинантная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая нейротоксический компонент, может быть получена из известной последовательности нуклеиновой кислоты или может быть повторно объединена из двух или более известных последовательностей рекомбинантными способами или химическим синтезом. Примером рекомбинантного нейротоксического компонента является молекула, образованная слиянием, например, легкой цепи первого серотипа с тяжелой цепью второго серотипа нейротоксического компонента. Примером химического синтеза является химический синтез всего нейротоксического компонента.

Также включены генетически модифицированные нейротоксические компоненты, содержащие 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или до 20 мутаций аминокислоты. Мутация может быть заменой, вставкой или делецией. Предпочтительно, мутация не ставит под угрозу ни одну из биологических активностей, указанных выше. Однако также предусмотрено использование мутации для модулирования биологической активности нейротоксического компонента.

Также включены нейротоксические компоненты ботулотоксинов, содержащих химически измененные аминокислоты, например, одну или более аминокислот, которые являются гликозилированными, ацетилированными или модифицированными иначе, что может быть целесообразно для поглощения или стабильности токсина. Особенно предпочтительна липидизация нейротоксического компонента.

Модифицирующие остатки можно добавить к нейротоксическому компоненту, например, посредством ферментативной реакции *in vitro* или при использовании адекватных химических условий реакции. Альтернативно, изменение ферментативных функций можно обеспечить *in trans* экспрессией фермента в клетке-хозяине.

Применение способа, описанного выше, позволяет значительно увеличивать частоту лечения, не вызывая образования нейтрализующих антител, направленных против нейротоксического компонента. В этом отношении следует отметить, что до настоящего изобретения известные режимы лечения строго избегали введения ботулотоксина в интервалах менее чем три месяца, так как более частое введение ботулотоксина, как считали, увеличивало вероятность стимулирования иммунного ответа у пациента, которого лечили. Примеры раскрыли подтверждение понятия, что использование нейротоксического компонента вместо комплекса ботулотоксина позволяет избежать таких проблем.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения вторая процедура лечения выполнена надлежащим образом для улучшения эффекта первой процедуры лечения. Это позволит более эффективно вводить адекватные дозы ботулотоксина. Например, в первой процедуре лечения можно вводить субоптимальную дозу нейротоксического компонента. Если симптомы заболевания пациента не отвечают в достаточной степени, во второй или последующей процедуре(х) лечения можно вводить большее количество нейротоксического компонента. Поэтому, с точки зрения снижения риска, связанного со способами настоящего изобретения, несколько процедур лечения можно применять, чтобы приблизиться к оптимальной дозе, необходимой для эффективного лечения пациента.

В соответствии с настоящим изобретением, первую, вторую и последующую процедуру лечения можно наметить спустя, по меньшей мере, один день после предыдущей процедуры лечения. Термин "спустя, по меньшей мере, один день после" означает, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дней или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель. Однако идеей настоящего изобретения также предусмотрено, что второе лечение намечают спустя лишь несколько часов после первого лечения, например, через 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 часов.

В предпочтительном воплощении второе (последующее) лечение выполняют тогда, когда эффективность первого (предыдущего) лечения начинает снижаться. Такой режим лечения позволяет достичь устойчивого качества жизни для пациентов.

Определение параметра "устойчивое качество жизни" пациентов в виде примера описано далее в отношении одного состояния, которое лечат согласно настоящему изобретению, а именно, блефароспазма, на основе так называемого индекса BSDI (Blepharospasm Disability Index). Индекс BSDI - это опросник для самооценки, путем исследования, ухудшения определенных повседневных действий, обусловленного BEB Goertelmeyer R, Brinkmann S, Comes G, Delcker A, The Blepharospasm Disability Index (BSDI) for the Assessment of Functional Health in Focal Dystonia, Clin. Neurophysiol. 2002; 113(1): S77-S78.

Пациент должен заполнять опросник при каждом посещении врача. Вопросник включает 6 вопросов для оценки с помощью перечня из 5 пунктов (то есть, 0-4 пункта в вопросе) в диапазоне от "нет ухудшения", "небольшое/умеренное/тяжелое ухудшение" до "уже невозможно из-за моего заболевания". Это следующие 6 вопросов: "Вождение транспортного средства", "Чтение", "Просмотр телевизора", "Покупки", "Ходьба" и "Выполнение повседневных действий". В отличие от других функциональных опросников, которые игнорируют вычисление в случае

неприменимых тем, BSDI учитывает ответ как «не применимый» для пяти тем, за исключением темы "Выполнение повседневных действий".

BSDI означает, что оценку не пропущенных вопросов вычисляли путем сложения всех применимых вопросов, а также вопросов, на которые ответили, и путем деления на количество вопросов, на которые ответили.

Однако такие параметры действительны для многих других заболеваний и состояний, которые будут лечить в пределах настоящего изобретения, например, опросник при краниоцервикальной дистонии (CCDQ 24) для цервикальной дистонии (Mueller J, Wissel J, Kemmler G, Bodner T, Poewe W, Quality of life in patients with craniocervical dystonia: development of the CCDQ-24, *Mov. Disord.* 2000; 15(Suppl 3): 761, and HRQL, by the Swedish Short Form 36 Health Survey Questionnaire (SF-36) for spasticity (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. Dis.* 2006; 21 (4): 247-253).

При каждой повторной инъекции в процессе лечения или при последнем лечении пациента, разница Δ_{BSDI} между фактическим BSDI и исходным BSDI вычисляется следующим образом:

$$\Delta_{\text{BSDI}} = \text{BSDI}_{\text{факт}} - \text{BSDI}_{\text{исходн}}$$

$\text{BSDI}_{\text{исходн}}$ определяют во время первого посещения пациента для лечения и перед первой инъекцией препарата. $\text{BSDI}_{\text{actual}}$ определяют после соответствующей (повторной) инъекции препарата и через 3 недели после нее, соответственно.

На основе оценки Δ_{BSDI} , зарегистрированной при первом лечении, каждого пациента относят к одному из трех уровней следующим образом:

Уровень 1 (умеренное улучшение): $-1,00 \leq \Delta_{\text{BSDI}} \leq -0,65$.

Уровень 2 (отмеченное улучшение): $-1,35 \leq \Delta_{\text{BSDI}} < -1,00$.

Уровень 3 (исчезновение признаков и симптомов): $\Delta_{\text{BSDI}} < -1,35$.

Пациент классифицирован как респондент, то есть, пациент демонстрирует устойчивый уровень качества жизни, если ни одна из вычисленных оценок Δ_{BSDI} не превышает порог Δ_{C} . Оценка порога Δ_{C} зависит от уровня, к которому отнесен пациент. Оценки порогов следующие:

Уровень 1: $\Delta_{\text{C}} = -0,40$

Уровень 2: $\Delta_{\text{C}} = -0,75$

Уровень 3: $\Delta_{\text{C}} = -1,10$

Респонденты демонстрируют снижение их первоначальной оценки BSDI и, тем самым, улучшение качества их жизни. Минимальная величина улучшения выражена порогом Δ_{C} . Оценки Δ_{C} снижаются с номером уровня, потому что пациенты уровня 2 показывают более сильную реакцию на начальную инъекцию, чем пациенты уровня 1 (заканчивающегося меньшей разницей BSDI), и пациенты уровня 3 реагируют даже сильнее, чем пациенты уровня 2.

Наконец, наблюдаемые различия между уровнем BSDI в день повторной инъекции и начальным уровнем BSDI анализируют, чтобы исследовать, есть ли какое-нибудь улучшение уровня качества жизни в течение продолжительного времени ко времени повторной инъекции (ожидаемое время снижения эффекта лечения).

Вышеуказанные (и заявленные в формуле изобретения) способы введения лекарственного средства, как применяют в настоящем изобретении, обычно относят к активностям врачей, лечащих пациентов. Однако способ введения может быть описан в инструкции к лекарственному средству, например, упаковка лекарственного средства содержит специально предназначенную листовку с инструкциями для врача

и/или пациента, и/или упаковка специально предназначена для того, чтобы осуществить введение согласно настоящему изобретению.

Как используется везде в описании настоящего изобретения, термин "общее количество, введенное при лечении" относится к полной дозировке и означает, что количество нейротоксина вводилось пациенту во время единственного лечения. Единственное лечение может включать одну или более инъекций. Например, лечение *M. sternocleidomastoideus*, *M. splenius capitis*, *M. semispinalis capitis* и *M. trapezius* может включать 1, 2, 3, 4 или 5 инъекций, тогда как лечение *M. levator scapulae* или *Mm scaleni* может включать только 1-3 инъекции. Как указано ранее, количество, используемое для лечения, зависит от ряда параметров, которые известны в уровне техники. Такие параметры включают, например, серотип нейротоксического компонента, ткань-мишень, в которую будут делать инъекцию, и многие определенные факторы, зависящие от пациента. Идеей настоящего изобретения предусмотрено, что единственное лечение может быть разделено на две или более процедуры лечения, во время которых вводят вышеупомянутое общее количество нейротоксического компонента. Это будет в особенности иметь место в случае, если следует вводить большое количество нейротоксического компонента.

Кроме того, основанным на этом воплощении способом настоящего изобретения теперь будет возможно более эффективно лечить пациента при необходимости дополнительного введения нейротоксического компонента. Это может иметь место, например, после первого или предыдущего лечения, если установлено, что дополнительные мышцы способствуют симптомам болезни или в случае, когда мышцы были пропущены.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения пациент является пациентом, нуждающимся в введении больших доз нейротоксического компонента. В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения, (а) пациент является пациентом с тяжелым нарушением движения или тяжелой мышечной спастичностью, и (б) эффективное введенное количество превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей.

На основании воплощения настоящего изобретения, теперь возможно лечить пациентов значительно большими количествами нейротоксического компонента. У взрослых пациентов это количество может, например, превысить 500 Ед нейротоксического компонента.

Как применено везде в настоящем изобретении, количество, превышающее 500 Ед, является, например, количеством, большим, чем 500 Ед и до 550 Ед, до 600 Ед, до 700 Ед, до 800 Ед, до 900 Ед, до 1000 Ед, до 1100 Ед, до 1200 Ед, до 1300 Ед, до 1400 Ед, до 1500 Ед, до 1600 Ед, до 1700 Ед, до 1800 Ед, до 1900 Ед, или до 2000 Ед. Предпочтительно, вводимая доза находится в диапазоне 500-900 Ед, более предпочтительно - приблизительно 850 Ед. У детей «большое количество» составляет количества, превышающие 15 Ед/кг и до 16 Ед/кг, до 17 Ед/кг, до 18 Ед/кг, до 19 Ед/кг, до 20 Ед/кг.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения количество, которое превышает 500 Ед, является общим количеством у взрослых, или 15 Ед/кг массы тела у детей, и это количество вводится (а) инъекцией первой части этого количества во время первой процедуры лечения и (б) инъекцией остающейся части во время одной или более последующих процедур лечения, при котором последующую процедуру(ы) лечения намечают спустя, по меньшей мере, один день после первой процедуры лечения. Полное эффективное количество нейротоксического компонента

может быть введено в один день или в разные дни, то есть, во время разных процедур лечения. Предпочтительно, при введении высокой дозы нейротоксического компонента общее количество, которое будут вводить, может быть разделено и введено в две или более процедуры лечения. Таким образом, высокие дозы, которые
 5 иначе не было бы удобно вводить в виде единственной процедуры лечения, могут быть введены пациенту без наблюдения при этом значительных отрицательных эффектов.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения пациент является
 10 человеком, которого лечили ботулотоксином, но который жалуется на снижение эффекта лечения и настаивает на лечении до истечения 3 месяцев после лечения.

Такие снижения терапевтического эффекта можно проверять с помощью календарей лечения, в которых пациент делает запись о серьезности его нарушения на
 15 ежедневной основе (такие календари лечения, например, распространяет Merz Pharmaceuticals).

В еще одном предпочтительном воплощении настоящего изобретения гиперактивная железа является автономной экзокринной железой, и композиция вводится в нее или около этой железы.

В предпочтительном воплощении автономная экзокринная железа (a) выбрана из группы, состоящей из потовой железы, слезной железы, слюнной железы и слизистой железы; или (b) гиперактивной железы, которая связана с заболеванием или состоянием, выбранным из группы, состоящей из синдрома Frey, синдрома крокодиловых слез, подмышечного гипергидроза, ладонного гипергидроза,
 25 подошвенного гипергидроза, гипергидроза головы и шеи, гипергидроза тела, ринореи или относительной гиперсаливации у больных с инсультом, болезнью Паркинсона или боковым амиотрофическим склерозом. Следует, однако, отметить, что ткань-мишень при терапии нейротоксическим компонентом воздействует на любую экзокринную железу, вызывая ее гиперфункцию. Соответственно, предусмотрено, что настоящее изобретение может быть применимо к лечению, вовлекающему любые железы,
 30 упомянутые в Sobotta, Johannes: (Atlas der Anatomie des Menschen. 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005), который включен в данное описание в виде ссылки.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения заболевания или
 35 состояния, вызванного или связанного с патологической активностью мышцы пациента, способу, включающему введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной любых других белковых компонентов токсинового
 40 комплекса *Clostridium botulinum*, в котором (a) пациент является человеком с тяжелым нарушением движения или тяжелой мышечной спастичностью; (b) композицию вводят инъекцией; и (c) эффективное вводимое количество превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения количество, которое превышает 500 Ед, является общим количеством у взрослых или 15 Ед/кг массы тела у детей, и количество вводят (a) инъекцией первой части этого количества во время первой процедуры лечения и (b) инъекцией оставшейся части во время одной или более
 50 последующих процедур лечения, когда последующую процедуру лечения намечают спустя, по меньшей мере, один день после первой процедуры лечения.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения композицию вводят в интервале менее чем три месяца, интервал, включающий первое лечение и

второе лечение, в котором количество, вводимое во втором лечении, может быть ниже, выше или идентично количеству, вводимому в первом лечении.

Еще в одном предпочтительном воплощении настоящего изобретения заболевание или состояние является мышечной дистонией или включает мышечную дистонию.

Термин "заболевание или состояние, которое является мышечной дистонией или включает мышечную дистонию" относится к состоянию, включающему дистоническую мышцу. Предпочтительно, условие выбрано из группы, состоящей из генерализованной дистонии, сегментальной дистонии, центральной дистонии, мультифокальной дистонии и гемидистонии. Центральная дистония, предпочтительно, выбрана из группы, состоящей из краниальной дистонии, цервикальной дистонии, дистонии конечностей, дистонии ствола и спазматической дистонии. Цервикальная дистония, также названная спастической кривошеей, характеризуется ненамеренной несоответствующей гиперфункцией мышц шеи и плеча, приводя к патологическим движениям головы и нарушению осанки, судорогам или тремору (Fahn S. Assessment of the Primary Dystonias. In: Munsat TL, editor. Quantification of Neurologic Deficit. Boston: Butterworths; 1989. p. 241-270. (ID 1760137)). Инъекции нейротоксического компонента в поврежденные мышцы шеи и плеча приводят к существенному облегчению симптомов у большинства пациентов.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения дистония (a) выбрана из группы, состоящей из (1) краниальной дистонии, включая блефароспазм, нижнечелюстной дистонии открыточелюстного типа или закрыточелюстного типа, бруксизма, синдрома Meige, язычной дистонии, апраксии открытия века, (2) цервикальной дистонии, включая насильственный наклон головы вперед, насильственный наклон головы назад, насильственный наклон головы в сторону, кривошею, (3) фарингеальной дистонии, (4) гортанной дистонии, включая спазматическую дистонию отводящего типа или приводящего типа, спазматическую одышку, (5) дистонии конечности, включая дистонию верхней конечности, такую как дистония при выполнении конкретных задач, включая писчий спазм, судороги музыканта или судороги игрока в гольф, дистонию нижней конечности, включая приведение бедра, отведение бедра, коленное сгибание, коленное разгибание, сгибание лодыжки, разгибание лодыжки или эквиноварусную деформацию, дистонию ступни, включая стриарный палец ноги, сгибание пальца ноги или разгибание пальца ноги, осевую дистонию, такую как пизанский синдром или дистония исполнителя танца живота, сегментальную дистонию, гемидистонию или генерализованную дистонию, (6) дистонии Lubag, (7) дистонии при кортикобазальной дегенерации, (8) поздней дистонии, (9) дистонии при мозжечковой атаксии, (10) дистонии при болезни Паркинсона, (11) дистонии при болезни Хантингтона, (12) дистонии при болезни Hallervordea Spatz, (13) допа-индуцированной дискинезии/допа-индуцированной дистонии, (14) поздней дискинезии/поздней дистонии, (15) пароксизмальной дискинезии/дистонии (кинезиогенные, некинезиогенные, вызванные действием); или (b) включает клиническое состояние, выбранное из группы, состоящей из кривошеи, насильственного наклона головы в сторону, насильственного наклона головы вперед, насильственного наклона головы назад, согнутого локтя, пронированного предплечья, согнутого запястья, прижатого большого пальца или сжатых в кулак пальцев.

В следующей таблице приводится неограничивающий список клинических примеров и потенциально вовлеченных мышц, предпочитаемых мышц-мишеней в соответствии с идеей настоящего изобретения.

Клинический пример	Потенциальные мышцы-мишени
Кривошея	<i>splenius capitis, sternocleidomastoid, trapezius</i>
Насильственный наклон головы в сторону	<i>sternocleidomastoid, splenius capitis, scalene complex, levator scapulae</i>
Насильственный наклон головы назад	<i>splenius capitis, trapezius-pars cervicalis</i>
Насильственный наклон головы вперед	<i>sternocleidomastoid, scalene complex, submental complex, suprahyoid and infrahyoid muscles</i>

"Спазматическая дисфония" является голосовым нарушением, вызванным ненамеренными движениями одной или более мышц гортани. У пациентов, страдающих спазматической дисфонией, есть трудности при разговоре. Спазматическая дисфония заставляет голос ломаться или напрягаться или быть приглушенным, искаженным или форсированного качества. Как раскрыто здесь, инъекция нейротоксического компонента в поврежденные мышцы гортани в целом улучшает голос.

Блефароспазм является прогрессирующим заболеванием, характеризующимся непосредственными двусторонними периодическими или постоянными ненамеренными сокращениями круговых глазных мышц (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. Blepharospasm: Demographic and clinical survey of 250 patients. Ann Ophthalmol 1984; 16(4): 371-376. (ID 1761786); Mauriello JA, Leone T, Dhillon S, Pakeman B, Mostafavi R, Yezpe MC. Treatment choices of 119 patients with hemifacial spasm over 11 years. Clin Neurol Neurosurg 1996; 98(3): 213-216. (ID 1777068)). Введенный в качестве местной инъекции в круговые мышцы глаза, на основе способов настоящего изобретения, ботулотоксин является очень эффективным и хорошо переносимым симптоматическим лечением блефароспазма.

В другом предпочтительном воплощении пациентов с доброкачественным выраженным блефароспазмом, которым предварительно ввели ботулотоксин типа А и продемонстрировали непродолжительную эффективность, лечили введением ботулотоксина, свободного от комплексообразующих белков упомянутого ботулотоксина, в сокращенных интервалах между инъекциями, то есть в интервалах меньше чем три месяца. Предпочтительно, ботулотоксин, свободный от комплексообразующих белков, является высокоочищенным ботулотоксином типа А. Новая инъекция ботулотоксина показана, если пациент сообщает о снижении эффекта лечения. В связи с упомянутым режимом лечения, указанные пациенты могут достигать устойчивого качества жизни, также обсужденного выше, которое, предпочтительно, определено, как обсуждено выше.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения мышца выбрана из группы, состоящей из Ipsilateral splenius, contralateral sternocleidomastoid, ipsilateral sternocleidomastoid, splenius capitis, scalene complex, levator scapulae, postvertebralis, ipsilateral trapezius, bilateral splenius capitis, верхняя trapezius, глубокая postvertebralis, bilateralis sternocleidomastoid, scalene complex, submental complex, 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.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения заболевание или состояние является спастичностью мышцы или включает спастичность мышцы.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения спастичность является мышечной спастичностью или связана с (а) мышечной спастичностью после инсульта, мышечной спастичностью, вызванной церебральным параличом; или (b) (1)

спастическим состоянием при энцефалите и миелите, касающимся (а) аутоиммунных процессов, включая относящиеся к рассеянному склерозу, поперечному миелиту, синдрому Devic, (b) вирусных инфекций, (c) бактериальных инфекций, (d) паразитарных инфекций или (е) микозов, (2) наследственным спастическим парепарезом, (3) постапплексическим синдромом в результате инфаркта полушарий, инфаркта ствола мозга или инфаркта спинного мозга, (4) травмой центральной нервной системы, включающей, например, поражение полушарий, повреждение ствола мозга, поражение спинного мозга, (5) кровоизлиянием центральной нервной системы, таким как интрацеребральное кровоизлияние, субарахноидальное кровоизлияние, субдуральное кровоизлияние или интраспинальное кровоизлияние, или (6) неоплазией, например опухолями полушарий, опухолями ствола мозга или опухолью спинного мозга. Другие виды лечения могут быть лечением мочевого пузыря, спастического мочевого пузыря, недержания, спастического сфинктера, мышечной спастичности, вызванной церебральным параличом или гиперплазией простаты.

Термин "постинсультная мышечная спастичность" относится к мышечной спастичности, встречающейся после инсульта. Инсульт является ведущей причиной длительной инвалидности, с мышечной спастичностью, встречающейся в 19% (2) у 38% пациентов (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)). Мышечную спастичность определили как моторное нарушение, характеризующееся частотно-зависимым увеличением тонического рефлекса растяжения (мышечный тонус) с выраженными судорогами сухожилий вследствие повышенной возбудимости рефлекса растяжения как одного компонента синдрома верхнего моторного нейрона (4). У некоторых пациентов мышечная спастичность может быть полезной, как в случае мышечной спастичности бедренного и коленного разгибателя, которая может позволить перенести вес с поврежденной конечности, действующей, как шина (5). Однако в большинстве случаев мышечная спастичность вызывает у пациентов трудности в повседневной жизни, такие как одевание и мытье ладоней сжатых рук (6). В соответствии с идеей настоящего изобретения, общие клинические случаи деформации, связанной с мышечной спастичностью в соответствующих группах мышц, лечат нейротоксичным компонентом.

Термин "мочевой пузырь" часто, но не обязательно, относится к расстройствам мочевого пузыря в результате поражения спинного мозга или рассеянного склероза или травмы, приводящей к недержанию и ухудшенному выделению мочи. Предпочтительно, мышцей-мишенью для введения нейротоксина является поперечно-полосатая мышца сфинктера уретры, как описано в другом источнике (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, et al. 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)).

Термин "недержание" означает недержание мочи, которое является неспособностью контролировать поток мочи из мочевого пузыря. Есть различные виды и степени недержания, которые включены в объем настоящего изобретения: недержание переполнения - состояние, при котором мочевой пузырь задерживает мочу после мочеиспускания; как следствие, мочевой пузырь остается полным большую часть времени, что вызывает непроизвольное подтекание мочи из мочевого пузыря;

недержание напряжения - непроизвольное выделение мочи при увеличении давления на мочевой пузырь при кашле или поднятии тяжестей; полное недержание - неспособность самостоятельно осуществлять контроль над сфинктерами шейки мочевого пузыря и уретры, приводящая к полной потере удерживающей способности.

В лечении недержания упомянутую композицию можно, например, ввести цистоскопически в мышцу детрузор, исключая треугольную область (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, et al. 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)).

Термин "гиперплазия простаты" относится к увеличению простаты, при котором нормальные элементы предстательной железы увеличиваются в размере и количестве. Их масса может сдавливать уретру, которая проходит через середину простаты, препятствуя потоку мочи из мочевого пузыря через уретру наружу. Это может привести к задержке мочи и потребности в частом мочеиспускании. Если гиперплазия простаты выражена, может встречаться полная блокада. После введения композиции, как описано здесь, в простату, значительно уменьшаются симптомы, серологические маркеры простаты, объем простаты, объем остаточной мочи после мочеиспускания, и наблюдают увеличение уровня выделения мочи. Подобные результаты были описаны в другом источнике (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)).

"Церебральный паралич" описывает широкий спектр пирамидных дисфункций, вызывающих парезы, экстрапирамидные дисфункции, вызывающие дистонию, ригидность, мышечную спастичность и спазмы, апраксические компоненты и координационные дисфункции. Церебральный паралич (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 Suppl): S33-S35. (ID 2994781)) может встречаться после кровоизлияния в мозг, асфиксии, преждевременных родов и других перинатальных осложнений. Это пожизненное состояние, вызывающее некоординированные движения, парез и различные формы гиперфункции мышц. Пациенты, страдающие церебральным параличом, при лечении в соответствии со способами, раскрытыми здесь, испытывают функциональное улучшение состояния гиперактивных мышц.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения спастическая мышца является гладкой или поперечно-полосатой мышцей. Ткань-мишень для нейротоксического компонента при лечении нарушений, связанных с гиперфункцией мышц, может быть, в принципе, любой поперечно-полосатой и гладкой мышцей человеческого тела, как описано в Sobotta, Johannes: *Atlas der Anatomie des Menschen*, 22. Auflage. Band 1 und 2. Urban & Fischer, 2005. Мышцы, упомянутые в этом источнике, включены в настоящее описание в виде ссылки. Способы согласно настоящему изобретению могут предназначаться для любой из этих мышц.

Настоящее изобретение также относится к способу ослабления лицевых складок или морщин либо устранения лицевых асимметрий, способ, включающий введение человеку композиции, включающей эффективное количество нейротоксического

компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, композиции, лишенной
любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*,
в котором (а) субъект является человеком; (b) композицию вводят в виде подкожной
или внутримышечной инъекции в, или около, одну или более мимических мышц или
5 мышц, вовлеченных в образование морщин или асимметрии; и (с) композицию вводят
в интервале меньше чем три месяца, интервал, включающий первое лечение и второе
лечение, в котором количество, вводимое во втором лечении, может быть ниже, выше
или идентично количеству, которое вводят в первом лечении.

10 Этот способ согласно настоящему изобретению позволяет лечить мимические
мышцы или морщины пациента или асимметрию лица. Как правило, в таком
косметическом лечении применяют меньшее количество нейротоксического
компонента. Такое количество находится, предпочтительно, в диапазоне от 1 до 5,
от 5 до 10, от 10 до 20 или от 20 до 50 Ед. Такие общие количества можно вводить в
15 тот же или последующий день лечения. Например, во время первой процедуры лечения
можно ввести первую часть дозы. Эта первая часть является, предпочтительно,
субоптимальной, то есть частью, которая не удаляет морщины или складки кожи
полностью. Во время одной или более процедур лечения можно ввести оставшуюся
20 часть суммарной дозы.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения композицию вводят в
складки нахмуренного лба, горизонтальные складки лба, «гусиные лапки»,
носогубные складки, ямочку на подбородке и/или шейные складки.

В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения упомянутая
25 мышца выбрана из группы, состоящей из следующих мышц: *splenius capitis*,
sternocleidomastoid, *scalene complex*, *levator scapulae*, *semispinalis*, *longissimus capitis*,
longissimus cervicis, *multifidus*, *obliquus capitis inferior*, *obliquus capitis superior*, *rectus*
capitis posterior major, *rectus capitis posterior minor*, *trapezius/pars horizontalis*,
30 *trapezius/pars cervicalis*, *suprahyoid muscles*, *infrahyoid muscles*, *digastricus*, *pterygoideus*
medialis, *pterygoideus lateralis*, *masseter*, *temporalis*, *orbicularis oculi*, *nasalis*, *procerus*,
corrugator supercilii, *depressor anguli oris*, *depressor labii inferioris*, *frontalis*, *levator*
labii superioris, *levator labii superioris alaeque nasi*, *orbicularis oris*, *risorius*,
zygomaticus minor, *zygomaticus major*, *deltoideus*, *triceps brachii*, *brachioradialis*, *biceps*
35 *brachii*, *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*, *adductor*, группы *quadriceps*
femoris, *triceps surae*, *tibialis posterior*, *flexor hallucis longus*, *tibialis anterior*, *extensor*
40 *hallucis longus*, *extensor digitorum longus*, *flexor hallucis brevis*, *flexor digitorum brevis*,
paravertebral muscles.

Нейротоксический компонент, упомянутый здесь выше, может быть частью
композиции или фармацевтической композиции. Эта фармацевтическая композиция
может содержать дополнительные фармацевтически активные компоненты.

45 "Фармацевтическая композиция" является препаративной формой, в которой
активный компонент для применения лекарственного или диагностического средства
содержится или из него состоит. Такая фармацевтическая композиция может
подходить для диагностического или терапевтического введения (то есть
50 внутримышечной или подкожной инъекции) пациенту-человеку. Фармацевтическую
композицию можно лиофилизировать или высушить в вакууме, восстановить или
растворить. Если раствор восстановили, предпочтительно, чтобы восстановленный
раствор приготовили, добавляя стерильный физиологический солевой раствор (NaCl

0,9%).

Такая композиция может включать дополнительные компоненты, такие как буфер pH, наполнитель, разбавитель, криопротекторное средство и/или стабилизатор.

"Буфер pH" относится к химическому веществу, способному регулировать уровень pH композиции, раствора и тому подобного до определенного показателя или определенного диапазона pH.

"Стабилизирующий", "стабилизируется" или "стабилизация" означают, что активный, то есть, нейротоксический, компонент в восстановленном или водном растворе фармацевтической композиции имеет более чем приблизительно 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% и приблизительно до 100% токсичности, которой биологически активный нейротоксический компонент обладал до того, как был включен в фармацевтическую композицию. Активность приготовления можно определить, как описано в данном документе.

"Криопротекторное средство" относится к наполнителям, которые образуют активный компонент, то есть, нейротоксический компонент в восстановленном или водном растворе фармацевтической композиции имеет более чем приблизительно 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, и приблизительно до 100% токсичности, которой биологически активный нейротоксический компонент обладал до того, как был высушен в фармацевтической композиции. Активность приготовления можно определить, как описано в настоящем документе.

Примеры таких стабилизаторов - желатин или белок, предпочтительно, человеческого происхождения или полученный из рекомбинантного источника.

Стабилизаторы можно изменить химическими средствами или методами рекомбинантной генетики. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения это предусмотрено с использованием спирта, например, инозитола, маннитола как криопротекторных наполнителей для стабилизации белков во время лиофилизации.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения стабилизатор может быть непротеиноподобным средством стабилизации, включающим гиалуроновую кислоту или поливинилпирролидон или полиэтиленгликоль или смесь двух или более таких компонентов. Такая композиция, как полагают, является более безопасной, обладающей значительной стабильностью.

В более предпочтительном воплощении настоящего изобретения фармацевтическая композиция может включать нейротоксический компонент и гиалуроновую кислоту или поливинилпирролидон или полиэтиленгликоль, такая композиция, является, необязательно, стабилизированной подходящим буфером pH, в особенности, ацетатным буфером натрия, и/или криопротекторным полиспиртом.

Включает ли фармацевтическая композиция, помимо компонента нейротоксина, дополнительные компоненты, такие как белок, гиалуроновая кислота, стабилизаторы поливинилпирролидон и/или полиэтиленгликоль, фармацевтическая композиция сохраняет свою активность существенно неизменной в течение шестимесячного, годового, двухлетнего, трехлетнего и/или четырехлетнего периодов, если хранится при температуре между приблизительно +8°C и приблизительно -20°C. Дополнительно, указанные фармацевтические композиции могут обладать активностью или процентным восстановлением приблизительно между 20% и приблизительно 100% на воссоздание.

Фармацевтическая композиция в рамках настоящего изобретения может включать нейротоксический компонент и один или более дополнительных компонентов. Предпочтительно, фармацевтические композиции, раскрытые в настоящем описании,

имеют рН между приблизительно 4 и 7,5, при восстановлении или в инъекции, более предпочтительно между приблизительно 6,8 и 7,6 и, наиболее предпочтительно, между 7,4 и 7,6. Вообще, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению включает нейротоксический компонент в количестве приблизительно от 6 пг до 30 нг.

Предпочтительно, нейротоксический компонент обладает биологической активностью от 50 до 250 Ед LD₅₀ в нг нейротоксического компонента, как определено в мышинной пробе LD₅₀. Более предпочтительно, нейротоксический компонент обладает биологической активностью приблизительно 150 LD₅₀.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать нейротоксин и гиалуроновую кислоту. Гиалуроновая кислота стабилизирует нейротоксин. У фармацевтических композиций, раскрытых в настоящем описании, рН может быть между приблизительно 4 и 7,5, при восстановлении или в инъекции.

Гиалуроновая кислота в быстрорастворимой фармацевтической композиции, предпочтительно, объединена с быстрорастворимым нейротоксическим компонентом в количестве от 0,1 до 10 мг, особенно, 1 мг гиалуроновой кислоты на мл в 200 Ед/мл раствора ботулотоксина. Более предпочтительно, собственно раствор также содержит 1-100 мМ, особенно 10 мМ ацетатного буфера натрия.

В другом предпочтительном воплощении композиция может содержать полиспирт в качестве криопротектора. Примеры полиспирта, который можно применять, включают, например, инозитол, маннитол и другие невосстановленные спирты.

В конкретных воплощениях фармацевтические композиции по настоящему изобретению, не включающие протеиноподобный стабилизатор, предпочтительно, не содержат трегалозу или мальтитриозу или связанный сахар или полигидроксильные соединения, которые иногда используются как криопротекторы.

Поливинилпирролидон в быстрорастворимой фармацевтической композиции, предпочтительно, объединен с быстрорастворимым нейротоксическим компонентом в количестве от 10 до 500 мг, особенно 100 мг поливинилпирролидона на мл в 200 Ед/мл раствора ботулотоксина. Более предпочтительно, собственно раствор также содержит 1-100 мМ, особенно 10 мМ ацетатного буфера натрия.

Полиэтиленгликоль в быстрорастворимой фармацевтической композиции, предпочтительно, объединен с быстрорастворимым нейротоксическим компонентом в количестве от 10 до 500 мг, особенно, 100 мг полиэтиленгликоля на мл в 200 Ед/мл раствора ботулотоксина. Более предпочтительно, собственно раствор также содержит 1-100 мМ, особенно, 10 мМ ацетатного буфера натрия.

Таким образом, настоящее изобретение охватывает в более предпочтительном воплощении нейротоксический компонент, созданный в фармацевтической композиции, которая содержит гиалуроновый кислотный стабилизатор или стабилизатор поливинилпирролидон или стабилизатор полиэтиленгликоль. Дополнительно, фармацевтическая композиция может содержать систему ацетатного буфера натрия и/или спиртовой криопротектор.

Следующие примеры представлены только для иллюстрации и не предназначены для ограничения.

Пример 1: Терапия ботулотоксином для лечения цервикальной дистонии.

45-летнему пациенту мужского пола, страдающему цервикальной дистонией, назначили терапию ботулотоксином. После всех соответствующих обследований разработана схема инъекций, и ботулотоксин, свободный от комплексообразующих белков, введен, соответственно, в суммарной дозе 300 МЕд. При повторном обследовании через 2 недели симптомы улучшились, но была необходимость

включить дополнительные мышцы-мишени и увеличить дозу ботулотоксина в первоначально инъецированных мышцах-мишенях. Спустя две недели пациента обследовали снова, и результат лечения был оптимальным.

Отрицательные эффекты не отмечены. На 7 последующих сериях инъекций результаты лечения поддерживались без каких-либо признаков неэффективности терапии, вызванной антителами.

Пример 2: Терапия ботулотоксином для лечения блефароспазма. Короткая продолжительность действия.

61-летнюю пациентку, страдающую блефароспазмом, лечили лекарственным препаратом, содержащим нейротоксический компонент согласно настоящему изобретению, свободный от комплексообразующих белков, в суммарной дозе 48 МЕд с превосходными результатами. Спустя 4 недели после инъекций нейротоксического компонента эффект начал снижаться. Спустя еще 2 недели эффект лечения почти полностью прекратился. Повторные инъекции выполнены через 7 недель после первоначальной серии инъекций. Терапию нейротоксическим компонентом повторили в первоначальной дозе и с идентичными эффектами. Терапия нейротоксическим компонентом продолжена для 6 последующих серий инъекций с превосходными терапевтическими результатами и без каких-либо признаков неэффективности терапии, вызванной антителами.

Пример 3: Терапия ботулотоксином для лечения генерализованной мышечной спастичности. Применение большей дозы.

35-летний пациент мужского пола, страдающий гипоксическим повреждением головного мозга с генерализованной мышечной спастичностью. Нейротоксический компонент согласно настоящему изобретению, свободный от комплексообразующих белков, в суммарной дозе 750 МЕд, вводили в трех определенных количествах 250 МЕд с 1-дневными интервалами. Спустя 2 недели после применения состояние существенно улучшилось. Неблагоприятных местных, регионарных или системных эффектов не обнаружено. На 7 последующих сериях инъекций терапевтический эффект устойчив без появления отрицательных воздействий. Нет признаков неэффективности терапии, вызванных антителами.

Пример 4: Косметическое использование ботулотоксина. Трудности в разработке схемы инъекций и короткая продолжительность действия.

40-летнюю женщину с мышечными «нахмуренными» складками и горизонтальными лобными складками лечили 20 МЕд ботулотоксина, свободного от комплексообразующих белков (то есть нейротоксическим компонентом по настоящему изобретению). 2 недели спустя имелось улучшение симптоматики, но необходима дополнительная инъекция 20 МЕд ботулотоксина. Через 2 недели результат полностью удовлетворителен для пациентки. 4 недели спустя благоприятный эффект начинал снижаться, так что стали необходимы повторные инъекции ботулотоксина в суммарной дозе 40 МЕд. Пациентка перенесла 4 последующие серии инъекций с суммарными дозами 40 МЕд каждая. Нет признаков неэффективности терапии, вызванных антителами.

Формула изобретения

1. Способ лечения заболевания или состояния, вызванного или связанного с гиперактивной холинергической иннервацией мышц у пациента, включающий введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, причем композиция лишена

любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где

- (а) пациент является человеком,
- (б) композицию вводят инъекцией, и

(с) композицию вводят с интервалом менее чем три месяца, причем интервал, включает первое лечение и второе лечение, где количество, введенное во втором лечении, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному в первом лечении, и

(д) где второе лечение может быть назначено только через несколько часов после проведения первой процедуры лечения.

2. Способ по п.1, где

(а) пациент является пациентом с тяжелым нарушением движения или тяжелой спастичностью; и

(б) эффективное вводимое количество превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей.

3. Способ по п.2, где количество, которое превышает 500 Ед у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей, вводят

- (а) инъекцией первой части этого количества во время первой процедуры лечения; и
- (б) инъекцией оставшейся части во время одной или более последующих процедур лечения, где последующую процедуру(ы) лечения назначают по меньшей мере через один день после первой процедуры лечения.

4. Способ по п.1, где нейротоксический компонент выбран из группы, состоящей из типа А, В, С, D, Е, F, G или их смеси.

5. Способ лечения заболевания или состояния, вызванного гиперактивной холинергической иннервацией мышцы пациента, включающий введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, причем композиция лишена любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где

(а) пациент является человеком с тяжелым нарушением движения или тяжелой мышечной спастичностью;

(б) композицию вводят инъекцией; и

(с) эффективное вводимое количество превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей.

6. Способ по п.5, где количество, которое превышает 500 Ед нейротоксического компонента у взрослых или превышает 15 Ед/кг массы тела у детей, вводят

- (а) инъекцией первой части этого количества во время первой процедуры лечения; и
- (б) инъекцией оставшейся части во время одной или более последующих процедур лечения, где последующую процедуру лечения назначают, по меньшей мере, через один день после первой процедуры лечения.

7. Способ по п.5 или 6, где композицию вводят с интервалом менее чем три месяца, причем интервал включает первое и второе лечение, где количество, вводимое во втором лечении, может быть ниже, выше или идентично количеству, вводимому в первом лечении, и где второе лечение может быть назначено только через несколько часов после первой процедуры лечения.

8. Способ по п.5, где заболевание или состояние включает дистонию мышц.

9. Способ по п.8, где дистония

(а) выбрана из группы, состоящей из (1) краниальной дистонии, включающей блефароспазм, нижнечелюстную дистонию открыточелюстного или

закрыточелюстного типа, бруксизм, синдром Meige, язычную дистонию, апраксию открытия века, (2) цервикальной дистонии, включающей насильственный наклон головы вперед, назад и в сторону, кривошею, (3) фарингеальной дистонии, (4) гортанной дистонии, включающей спазматическую дисфонию типа приводящей или отводящей мышцы, спазматическую одышку, (5) дистонии конечности, включающей дистонию верхней конечности, такую как дистония при выполнении конкретных задач, включая писчий спазм, судороги музыканта или судорогу игрока в гольф, дистонию нижней конечности, включая приведение и отведение бедра, коленное сгибание и разгибание, сгибание и разгибание лодыжки или эквиноварусную деформацию, дистонию стопы, включая стриарный палец ноги, сгибание и разгибание пальца ноги, осевую дистонию, такую как пизанский синдром или дистония исполнителя танца живота, сегментальную дистонию, гемидистонию или генерализованную дистонию, (6) дистонии при Lubag, (7) дистонии при кортикобазальной дегенерации, (8) поздней дистонии, (9) дистонии при спиноцеребральной атаксии, (10) дистонии при болезни Паркинсона, (11) дистонии при болезни Хантингтона, (12) дистонии при болезни Hallervorden Spatz, (13) допа-индуцированной дискинезии/допа-индуцированной дистонии, (14) поздней дискинезии/дистонии, (15) пароксизмальной дискинезии/дистонии (кинезио- и некинезиогенные, вызванные действием); или

(b) представляет собой выбранную из группы, состоящей из кривошеи, насильственного наклона головы вперед, назад и в сторону, согнутого локтя, пронирированного предплечья, согнутого запястья, большого пальца в ладони или сжатого кулака.

10. Способ по п.8, где мышца выбрана из группы, состоящей из относящихся к одной стороне тела Ipsilateral splenius, contralateral sternocleidomastoid, ipsilateral sternocleidomastoid, splenius capitis, scalene complex, levator scapulae, postvertebralis, ipsilateral trapezius, levator scapulae, bilateral splenius capitis, upper trapezius, deep postvertebralis, bilateral sternocleidomastoid, scalene complex, submental complex, brachioradialis, biceps brachialis, 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.

11. Способ по п.5, где заболевание или состояние включает спастичность мышцы.

12. Способ по п.11, где мышечная спастичность является или связана с (1) спастическим состоянием при энцефалите и миелите, относящимся к (a) аутоиммунным процессам, включающим относящиеся к рассеянному склерозу, поперечному миелиту, синдрому Devic, (b) вирусным инфекциям, (c) бактериальным инфекциям, (d) паразитарным инфекциям или (e) грибковым инфекциям, (2) наследственным спастическим парапарезом, (3) постапоплектическим синдромом в результате инфаркта полушарий, инфаркта ствола мозга или инфаркта спинного мозга, (4) травмой центральной нервной системы, включающей, например, поражение полушарий, поражение ствола мозга, поражение спинного мозга, (5) кровоизлиянием центральной нервной системы, таким как кровоизлияние в мозг, субарахноидальное кровоизлияние, субдуральное кровоизлияние или кровоизлияние в спинной мозг, или (6) неоплазией, например, опухолями полушарий, опухолями ствола мозга или опухолью спинного мозга или (7) мышечной спастичностью после инсульта, или (9) мышечной спастичностью, вызванной церебральным параличом.

13. Способ по п.11, где мышца является гладкой или поперечно-полосатой мышцей.

14. Способ расслабления лицевых складок или морщин кожи или устранения

асимметрий лица, включающий введение субъекту композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, причем композиция лишена любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где

(a) субъект является человеком;

(b) композицию вводят подкожной или внутримышечной инъекцией в или около одну или более мимических мышц или мышц, вовлеченных в образование морщин или асимметрии; и

(c) композиции вводят с интервалом менее чем три месяца, причем интервал включает первое и второе лечение, где количество, введенное во втором лечении, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному в первом лечении; и

d) где вторая процедура лечения может быть назначена через несколько часов после первой процедуры лечения.

15. Способ по п.14, где композицию вводят инъекцией в складку между бровями, горизонтальную складку лба, «гусиные лапки», носогубные складки, складку на подбородке, кожу типа апельсиновой корки и/или подкожные складки шеи.

16. Способ по п.14 или 15, где мышца, в которую делают инъекцию, выбрана из группы, состоящей из corrugator supercillii, orbicularis oculi, procerus, venter frontalis occipitofrontalis, орбитальной части orbicularis oculi, nasalis, верхней губы: orbicularis oris, нижней губы: depressor angulis oris, mentalis и platysma, которые являются мышцами, вовлеченными в образование вышеуказанных складок.

17. Способ лечения заболевания или состояния, вызванного или связанного с гиперактивной холинергической иннервацией экзокринных желез у пациента, включающий введение композиции, включающей эффективное количество нейротоксического компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, причем композиция лишена любого другого белкового компонента токсинового комплекса *Clostridium botulinum*, где

(a) пациент является человеком,

(b) композицию вводят инъекцией, и

(c) композицию вводят с интервалом менее чем три месяца, причем интервал включает первое лечение и второе лечение, где количество, введенное во втором лечении, может быть ниже, выше или идентично количеству, введенному в первом лечении, и

(d) где второе лечение может быть назначено только через несколько часов после первой процедуры лечения.

18. Способ по п.17, где гиперактивная железа является автономной экзокринной железой, и где композицию вводят инъекцией в железу или около нее.

19. Способ по п.18, где

(a) железу выбирают из группы, состоящей из потовой железы, слезной железы, слюнной железы и слизистой железы; или

(b) железа связана с заболеванием или состоянием, выбранным из группы, состоящей из синдрома Frey, синдрома крокодиловых слез, подмышечного гипергидроза, ладонного гипергидроза, подошвенного гипергидроза, гипергидроза головы и шеи, гипергидроза тела, ринореи или относительной гиперсаливации у пациентов с ударом, болезнью Паркинсона или боковым амиотрофическим склерозом.