



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107789620 A

(43)申请公布日 2018.03.13

(21)申请号 201710546734.3	(51)Int.Cl.
(22)申请日 2010.04.16	A61K 38/48(2006.01)
(30)优先权数据	A61K 47/26(2006.01)
09005470.1 2009.04.17 EP	A61K 47/36(2006.01)
61/212,952 2009.04.17 US	A61K 47/32(2006.01)
(62)分案原申请数据	A61K 9/08(2006.01)
201080016257.6 2010.04.16	A61P 21/00(2006.01)
(71)申请人 德国麦氏大药厂	A61P 25/00(2006.01)
地址 德国法兰克福	A61K 8/73(2006.01)
(72)发明人 哈罗德·泰勒 马库斯·伯格	A61K 8/66(2006.01)
杰德·J·曼德	A61K 8/60(2006.01)
(74)专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002	A61K 8/34(2006.01)
代理人 王朋飞 张晶	A61K 8/49(2006.01)
	A61K 8/81(2006.01)
	A61Q 19/00(2006.01)
	A61K 49/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书17页

(54)发明名称

用于稳定蛋白的不含哺乳动物赋形剂的制剂

(57)摘要

本发明涉及一种包括亲水性聚合物、多元醇与糖的混合物以及去垢剂的制剂,其中多元醇与糖的重量比为2:1~5:1(wt-%),其中所述制剂不含稳定蛋白。

1. 一种不含人血清白蛋白 (HSA)、明胶、组氨酸、赖氨酸、蛋氨酸或免疫球蛋白的制剂，其包括：

(a) 肉毒杆菌毒素，

(b) 亲水性聚合物，其选自透明质酸、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 以及它们的混合物；

(c) 多元醇与糖的混合物，其中所述多元醇选自下组：甘露醇、木糖醇、赤藓糖醇、山梨醇以及它们的混合物；并且所述糖选自葡萄糖、果糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖以及它们的混合物；以及

(d) 非离子表面活性剂，

其中多元醇与糖的重量比为2:1~5:1 (wt-%)。

2. 根据权利要求1所述的制剂，其是冻干的。

3. 根据权利要求1或2所述的制剂，其包括肉毒杆菌毒素、透明质酸、甘露醇、蔗糖、聚山梨酯80及任选的注射用水。

4. 一种可注射的溶液，其包括权利要求1-3任一项所述的制剂。

5. 权利要求2或3所述的制剂在制备药物、化妆品、皮肤护理产品或诊断产品中的应用。

6. 权利要求2或3所述的制剂在制备治疗疾病或病症的药物中的应用，所述疾病或病症由患者的肌肉或外分泌腺中过度活跃的胆碱能神经支配引起。

7. 权利要求2或3所述的制剂在制备治疗疾病或病症的药物中的应用，所述疾病或病症与患者的肌肉或外分泌腺中过度活跃的胆碱能神经支配有关。

8. 试剂盒，其包括

(a) 一个或多个容器，其包含权利要求1-3任一项所述的制剂或权利要求4所述的溶液；
和

(b) 所述制剂的使用说明书，和任选的

(c) 药用无菌溶剂。

用于稳定蛋白的不含哺乳动物赋形剂的制剂

[0001] 本申请要求于2009年4月17日提交的欧洲专利申请No.09005470.1和于2009年4月17日提交的美国专利申请No.61/212,952的优先权;本申请是2010年4月16日提交的中国专利申请No.201080016257.6的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种用于稳定蛋白的不含哺乳动物赋形剂的制剂。尤其涉及一种包括亲水性聚合物、多元醇与糖的混合物以及去垢剂的制剂,其中多元醇与糖的重量比为2:1~5:1(wt-%),其中所述制剂不含稳定蛋白。在一个实施方案中,本发明涉及一种试剂盒,其中所述试剂盒包括包含所述制剂/组合物的一个或多个容器、使用说明书和任选的药用无菌溶剂。

背景技术

[0003] 现有技术中已知不含稳定蛋白的蛋白制剂。WO 2006/020208涉及包括肉毒杆菌毒素和非蛋白质稳定剂的药物组合物,其在水溶液中保留了肉毒杆菌毒素的活性。

[0004] WO 2006/005910涉及包括肉毒杆菌毒素复合物或高纯度肉毒杆菌毒素和表面活性剂的固体或液体药物组合物。其中报道了在23℃~27℃最大6个月的稳定性。

[0005] WO 2007/041664涉及一种包括肉毒杆菌毒素和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和任选的双糖的药物组合物。

[0006] WO 2004/006954涉及一种包括稳定的肉毒杆菌毒素和至少一种加强剂的药物组合物,所述加强剂通过提高患者的皮肤渗透性而促进肉毒杆菌毒素对人类患者的透皮给药。

[0007] WO 01/58472公开了一种适合人类患者注射的药物组合物,包括肉毒杆菌毒素和多糖。其还公开了一种包括神经毒素和羟乙基淀粉的药物组合物。

[0008] WO 2006/079722涉及液体组合物在实施冻干蛋白以稳定所述蛋白的方法中的应用,所述组合物包括:塌陷温度在-18℃和0℃之间的填充剂、稳定剂、缓冲溶液,以及视情况而定可能包括非离子表面活性剂。

[0009] 发明目的

[0010] 本发明的目的是提供一种用于稳定蛋白的新制剂,其不含稳定蛋白。与现有技术的制剂相比,这类制剂可以配制并为蛋白提供优异的稳定性。

[0011] 通过作为本申请主题的制剂可以实现这一目的和其它目的。

发明内容

[0012] 通过作为本申请主题的制剂可以实现本发明的目的。本发明涉及一种包括亲水性聚合物、多元醇与糖的混合物以及去垢剂的制剂,其中多元醇与糖的重量比为[2:1]~[5:1](wt-%),例如[2:1]、[2.5:1]、[3:1]、[3.5:1]、[4:1]、[4.5:1]、[5:1],其中所述制剂不含稳定蛋白。在又一个实施方案中,本发明涉及一种组合物,其包括所述制剂和天然的或改

性的/人工肽、蛋白或它们的混合物。

[0013] 在又一个实施方案中,本发明的组合物是冻干的。

[0014] 本发明的另一方面涉及一种组合物,其包括如本文定义的肽或蛋白,或它们的混合物,用于作为药物、化妆品、皮肤护理产品或诊断产品。

[0015] 本发明的另一方面涉及所述组合物在治疗疾病或病症中的应用,所述疾病或病症由患者的肌肉或外分泌腺中过度活跃的胆碱能神经支配引起或与之有关。

[0016] 本发明的另一方面涉及一种试剂盒,其包括包含所述制剂/组合物的一个或多个容器和所述制剂的使用说明书,以及任选的药用无菌溶剂。

[0017] 发明详述

[0018] 本发明涉及一种包括亲水性聚合物、多元醇与糖的混合物以及去垢剂的制剂,其中多元醇与糖的重量比为[2:1]~[5:1](wt-%),例如[2:1]、[2.5:1]、[3:1]、[3.5:1]、[4:1]、[4.5:1]、[5:1],其中所述制剂不含稳定蛋白。

[0019] 本文使用的术语“制剂”涉及包括药用赋形剂的混合物,并且涵盖液体、固体、半固体、胶体和本领域技术人员已知的所有其它形式。本文所述的制剂不含稳定蛋白。

[0020] 本发明使用的术语“组合物”涉及本文所要求保护的制剂,其进一步包括肽、蛋白或它们的混合物。

[0021] 本发明的制剂包括亲水性聚合物。

[0022] 本文使用的术语“聚合物”涉及由重复单元组成的结构。本发明的术语“聚合物”的范围包括均聚物和共聚物。

[0023] 本文使用的术语“亲水性”涉及水可湿性的物质、材料、赋形剂或药用活性成分。

[0024] 在本发明的一个实施方案中,亲水性聚合物选自下组:透明质酸、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、N-乙烯吡咯烷酮的共聚物、纤维素衍生物、聚乙二醇(PEG)、PEG/PPG嵌段共聚物、丙烯酸与甲基丙烯酸的均聚物和共聚物、聚氨酯、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯醚、马来酸酐基共聚物、聚酯、乙烯胺、聚乙烯亚胺、聚环氧乙烷、聚(羧酸)、聚酰胺、聚酐、聚磷腈以及它们的混合物。

[0025] 所述纤维素衍生物可以选自下组:羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素、葡聚糖以及它们的混合物。

[0026] 本文使用的术语“聚乙烯吡咯烷酮”是指一种水溶性聚合物,由N-乙烯吡咯烷酮单体制得。所用的术语和缩写“PVP、聚维酮(povidone)、聚维酮(polyvidone)、交联聚维酮、Kollidone”均为同一含义。

[0027] 所述的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)可以是Kollidon 12PF、Kollidon 17 PF、Kollidon 25、Kollidon 30、Kollidon 90F、聚维酮、交联聚维酮、Kollidon VA 64和共聚维酮或它们的混合物。

[0028] 本发明含义中的术语“透明质酸(hyaluronic acid)”是指非硫酸化粘多糖。在一个实施方案中,透明质酸的分子量为 $0.8 \sim 1.2 \times 10^6$ Da。此外,在本发明中还可以使用交联透明质酸。术语“透明质酸”与“玻尿酸(hyaluronan)”作为同义词使用。在本发明中术语“透明质酸”还涵盖透明质酸的衍生物,诸如透明质酸盐,例如钠盐、钾盐、镁盐和钙盐。进一步地,术语“透明质酸”涵盖其所有天然的和人工合成的衍生物。其为分子量一般为 $10\text{kDa} \sim 4.5 \times 10^6$ Da的分子。

[0029] 本发明的制剂包括重量比为[2:1]~[5:1] (wt%)的多元醇与糖的混合物。

[0030] 本文使用的术语“多元醇”涉及一组以碳水化合物为基础的成分,其可用于保护蛋白防止其不稳定。术语“多元醇”和“糖醇”在应用时含义相同。

[0031] 本文使用的术语“糖”涉及任何单糖、双糖和多糖。本文使用的术语“单糖”涉及碳水化合物的基本单元。本发明的术语“双糖”的范围涉及两个单糖组成的碳水化合物。本文使用的术语“多糖”涉及单糖的重复单元,其中单糖通过糖苷键连接。

[0032] 本文使用的术语“混合物”涉及同质性或异质性的组合物,其中通过采用本领域技术人员已知的方法或设备将至少两种相同或不同的组合材料或结构的物质混合。本发明的术语“混合物”的范围涵盖固态、液态和半固态形式的混合物。

[0033] 本文使用的术语“混合”涉及将至少两种活性或非活性成分按不同比例组合。混合涉及将来自相同组(group)或不同组的至少两种不同的活性或非活性物质以任何顺序进行组合的任何过程或行动。术语“混合”还披露将任何活性成分与任何赋形剂进行组合的任何过程或行动。

[0034] 在本发明的一个实施方案中,多元醇选自下组:甘露醇、肌醇、乳糖醇、异麦芽糖醇、木糖醇、赤藓糖和山梨醇。

[0035] 在本发明又一个实施方案中,所述糖选自由单糖组成的组,其中所述单糖可以是葡萄糖、硫代葡萄糖(thioglucose)、硫代甘露糖(thiomannose)、硫代果糖(thiofructose)、果糖和半乳糖。在另一个实施方案中,所述糖是一种双糖,其中所述双糖可以是海藻糖、蔗糖、辛-0-乙酰基-硫代海藻糖(octa-0-acetyl-thiotrehalose)、硫代蔗糖(thiosucrose)、硫代麦芽糖(thiomaltose)、麦芽糖和麦芽糖醇。在另一个实施方案中,所述糖是一种多糖,其中所述多糖可以是褐藻胶(alginate)、羟乙基淀粉和羟丙基淀粉。

[0036] 本发明要求保护一种制剂,其中将多元醇与糖混合,得到重量比为[2:1]~[5:1]的多元醇与糖的混合物。在另一个实施方案中,所述多元醇和糖混合的重量比为[2:1]~[3:1],如[2:1]、[2.5:1]、[3:1]。在另一个实施方案中,所述多元醇与糖混合的重量比为[3:1]。

[0037] 根据本发明的一个实施方案中,多元醇和糖的混合物包括重量比为[2:1]~[5:1]的甘露醇和蔗糖,如[2:1]、[2.5:1]、[3:1]、[3.5:1]、[4:1]、[4.5:1]、[5:1]。在本发明的另一个实施方案中,多元醇和糖的混合物包括重量比为[3:1]的甘露醇和蔗糖。

[0038] 所述多元醇和糖可以使用V型搅拌机(双壳搅拌机)、转筒混合器、双螺带搅拌器(double ribbon blender)、犁式混合器、桨式混合器、双锥搅拌机进行混合。本领域技术人员能够根据实验室规模(bench-top scale)或大生产规模(high scale)选择恰当的混合器。混合时间取决于批量大小、赋形剂的质量,例如粉末的颗粒大小和混合类型。

[0039] 本发明的制剂还包括去垢剂。

[0040] 本文使用的术语“去垢剂”涉及可以使另一种物质溶解或稳定的任何物质,其可以是制剂的药物活性成分或其它赋形剂。所述去垢剂可以通过空间排列(sterically)或静电作用稳定所述的蛋白或肽。术语“去垢剂”与术语“表面活性剂”或“表面活性试剂”在应用时含义相同。

[0041] 在本发明的一个实施方案中,去垢剂选自由非离子型表面活性剂组成的组。

[0042] 本发明中术语“非离子型表面活性剂”的含义是指有没有正或负电荷的表面活性

剂。

[0043] 所述非离子型表面活性剂的一方面可以是山梨醇酯(山梨醇单月桂酸酯、山梨醇酐单棕榈酸酯、山梨醇单硬脂酸酯、失水山梨醇单硬脂酸、山梨醇单油酸酯、山梨醇三油酸酯),聚山梨酯(聚氧乙烯(20)山梨醇酐单月桂酸酯(聚山梨酯20)、聚氧乙烯(20)山梨醇酐单棕榈酸酯、聚氧乙烯(20)山梨醇酐单硬脂酸酯、聚氧乙烯(20)山梨醇酐三硬脂酸酯、聚氧乙烯(20)山梨醇三油酸酯、聚氧乙烯(20)-山梨醇酐-单油酸酯(吐温80/聚山梨酯80)),泊洛沙姆(poloxamer)(泊洛沙姆407、泊洛沙姆188),聚氧乙烯蓖麻油(cremophor)以及它们的混合物。

[0044] 在另一个实施方案中所述去垢剂为阴离子表面活性剂。

[0045] 本发明中术语“阴离子表面活性剂”的含义是指包括阴离子亲水基团的表面活性剂。

[0046] 根据一个方面,所述阴离子表面活性剂可以是十四烷基三甲基溴化铵、十二烷基三甲基溴化铵、十二烷基醚硫酸钠(sodium laureth sulphate)、十二烷基硫酸钠(SDS)、溴棕三甲铵(cetrimide)、十六烷基三甲基溴化铵以及它们的混合物。

[0047] 在另一个实施方案中,所述去垢剂为阳离子表面活性剂。

[0048] 本发明的含义中术语“阳离子表面活性剂”涵盖包括阳离子亲水基团的表面活性剂。

[0049] 一方面,所述阳离子表面活性剂可以是苯扎氯铵、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、氯化十六烷基吡啶(CPC)、苜索氯铵(BZT)以及它们的混合物。

[0050] 在本发明的一个实施方案中,以生产的散装组合物(production bulk composition)的总重量,即本发明制剂、待稳定的肽或蛋白、添加的注射用无菌溶剂(通常为水或等渗盐水)的总量计,去垢剂的浓度不超过0.5mg/g。在本发明又一个实施方案中,以生产的散装组合物的总重量计,去垢剂的浓度在0.1mg/g和0.3mg/g之间。在本发明另一个实施方案中,去垢剂为聚山梨酯80,以生产的散装组合物的总重量计,其浓度为0.2mg/g。

[0051] 本文使用的“生产的散装组合物”是指组合物在灌装成个体剂量单位之前的组合物。

[0052] 在本发明的一个实施方案中,所用的亲水性聚合物为透明质酸,去垢剂为聚山梨酯80。

[0053] 在本发明又一个实施方案中,所用的亲水性聚合物为透明质酸,去垢剂为聚山梨酯20。

[0054] 在本发明又一个实施方案中,所用的亲水性聚合物为聚乙烯吡咯烷酮(PVP),去垢剂为聚山梨酯80。

[0055] 本发明的制剂不含稳定蛋白。

[0056] 本发明中术语“不含稳定蛋白”的含义是指制剂不含能稳定活性肽或蛋白的肽或蛋白。赋形剂的实例包括但不限于,人血清白蛋白(HSA)、明胶、氨基酸,例如组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸或免疫球蛋白。

[0057] 本发明的制剂用于稳定蛋白、肽,或它们的混合物。

[0058] 本发明进一步涉及一种组合物,其包括所述制剂和活性试剂,所述活性试剂可以是天然的或改性的/人工的蛋白、肽,或它们的混合物。

[0059] 本文使用的术语“稳定的组合物”涉及一种组合物,其中的蛋白或肽可以在室温、60%RH下贮存至少4周,与冻干后即贮存前的测量值比较,其物理和化学稳定性及完整性高达50%、60%、70%、80%和90%。

[0060] 在又一个实施方案中,本发明的组合物包括这样的蛋白或肽:在室温、60%RH下贮存至少6个月,与冻干后即贮存前的测量值比较,其物理和化学稳定性及完整性高达50%、60%、70%、80%和90%。

[0061] 在另一个实施方案中,本发明的组合物包括这样的蛋白或肽:在室温、60%RH下贮存至少12个月,与冻干后即贮存前的测量值比较,其物理和化学稳定性及完整性高达50%、60%、70%、80%和90%。

[0062] 对于生物活性,“稳定的组合物”是指一种组合物,其中神经毒性成分在药物组合物的重组或水溶液中的毒性高于生物活性神经毒性成分加入到药物组合物之前的毒性约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、至约100%。

[0063] 本发明中的术语“室温”也定义为RT(或环境温度),是指美国药典定义的20~25℃[68~77°F]。

[0064] 本发明中的术语“相对湿度”也定义为RH,是指在特定温度下空气中水汽的量与该温度下空气中可容纳的最大量的比值,以百分比表示。

[0065] 在本发明的一个方面中,所述组合物在25℃和60%RH下以冻干形式可以稳定7个月。在本发明的另一个方面中,所述组合物在25℃和60%RH下以冻干形式可以稳定3个月。在本发明的又一个方面中,所述组合物在25℃和60%RH下以冻干形式可以稳定2个月。在本发明的另一方面中,所述组合物在25℃和60%RH下以冻干形式可以稳定1个月。

[0066] 在本发明的另一方面中,所述组合物在40℃和75%RH下以冻干形式可以稳定7个月。在本发明的又一个方面中,所述组合物在40℃和75%RH下以冻干形式可以稳定3个月。在本发明的又一个方面中,所述组合物在40℃和75%RH下以冻干形式可以稳定2个月。在本发明的再一个方面中,所述组合物在40℃和75%RH下以冻干形式可以稳定1个月。

[0067] 在本发明的一个实施方案中,稳定性是通过测量随时间变化的聚集程度(作为蛋白稳定性的一个指标)来量度的。在另一个实施方案中,可以采用本领域技术人员已知的分析方法测量蛋白组合物的稳定性,测定完整蛋白的%,例如蛋白水解裂解、细胞水平检测(cell based assay)。在另一个实施方案中,蛋白组合物的稳定性采用鼠-偏侧膈(Mouse-hemidiaphragm assay)法检测(HDA-检测)。在本发明的一个实施方案中,采用HDA-检测本文所要求保护的组合物的稳定性。结果以在HDA-检测中测量的效用表明。

[0068] HDA-检测按Góschel等所定义的实施。("Botulinum Toxin Therapy: Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies-Therapeutic Consequences" Experimental Neurology, 1997; 147: 96-102)。

[0069] 本发明进一步涉及包括所述制剂与天然的或改性的/人工的肽、蛋白或它们的混合物的组合物。改性包括化学修饰,如糖基化、乙酰化、酰化等,这对于例如蛋白的吸收或稳定可能是有益的。然而,蛋白的肽链可以替代性或另外地通过添加、替换或缺失一个或多个氨基酸残基进行修饰。

[0070] 本发明中术语“肽”的含义是指 α -氨基酸以固定顺序连接而形成的短聚合物。

[0071] 本文使用的术语“蛋白”涉及直链排列的、通过相邻氨基酸残基的羧基和氨基之间

的肽键连接在一起氨基酸化合物。术语“蛋白”在应用时与术语“肽”的含义相同。本发明的蛋白可以是人工的或天然的。

[0072] 本文所要求保护的制剂中的活性蛋白或肽可以是人工的/改性的或天然的。

[0073] 本发明中的术语“人工蛋白”的含义是指改性的蛋白。术语“改性的蛋白”涵盖了本领域技术人员已知的所有可能的修饰,例如:化学修饰、缺失。

[0074] 本发明中的术语“天然的”的含义是指哺乳动物有机体中天然存在的蛋白或肽。

[0075] 在本发明的一个实施方案中,所述蛋白选自下组:毒素、软骨素、弹性蛋白、肌动蛋白、肌球蛋白、抑肽酶、生长激素、生长激素释放因子、甲状旁腺激素、促甲状旁腺激素、脂蛋白(LDL、IDL、VLDL、VHDL、HDL)、载脂蛋白(ApoA-1、ApoA-II、ApoA-IV、ApoC-I、ApoC-II、ApoC-III、ApoD、ApoE)、 α -1抗胰蛋白酶、胰岛素、胰岛素原、卵泡刺激激素、降钙素、催产素、加压素、醋酸亮丙瑞林、生长抑素、促黄体激素、胰高血糖素、凝血因子、抗凝血因子、纤溶酶原激活物、人巨噬细胞炎性蛋白、血管内皮生长因子(VEGF)、类风湿因子、骨源性神经营养因子(BDNF)、神经生长因子- β (NGF- β)、血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子(TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4、TGF- β 5)、促红细胞生成素、白介素(IL-1至IL-10)、骨形态发生蛋白(BMP)、甲状旁腺激素、脱氧核糖核酸酶(DNase)、阳离子铁蛋白、干扰素(α 、 β 、 γ)及它们的混合物。

[0076] 在本发明的另一个实施方案中,所述蛋白为毒素。在本发明的又一个实施方案中,所述毒素为肉毒杆菌毒素、白喉毒素或破伤风毒素,或者它们中两个或两个以上的混合物。

[0077] 在本发明的一个实施方案中,所述组合物中的蛋白为肉毒杆菌毒素。

[0078] 在本发明又一个实施方案中,肉毒杆菌毒素选自以下类型:A、B、C、C₁、D、E、F和G型,在本发明另一个实施方案中,所述肉毒杆菌毒素为A型。在本发明又一个实施方案中,所述蛋白为A型肉毒杆菌毒素的神经毒性成分。

[0079] 本申请所用的术语“肉毒杆菌毒素”是指不含任何其它梭菌蛋白的神经毒性成分,但也指“肉毒杆菌毒素复合物”。本文所用的术语“肉毒杆菌毒素”基于毒素复合物和神经毒性成分之间没有必要或不需区分。“BoNT”或“NT”是常用的缩写。

[0080] 肉毒杆菌毒素复合物的“神经毒性成分”最初作为单一的肽链形成,若为血清型A,则分子量约为150kDa。若为其它血清型,观察到的神经毒性成分的分子量在约145至约170kDa之间,这取决于细菌来源。当为血清型A的情况下,例如肽的蛋白水解处理会产生由二硫键连接的重链和轻链组成的双链肽形式的激活肽。在人类中,重链介导结合前突触胆碱能神经末梢和毒素内化进入细胞。术语“神经毒性成分”还包括在其它血清型的肉毒杆菌中发现的功能同源物。在本发明的一个实施方案中,神经毒性成分不含任何其它的肉毒杆菌的蛋白,例如不含可能与神经毒性成分潜在相关的RNA。神经毒性成分可以是约150kDa的单链前体蛋白或经蛋白水解处理的神经毒性成分,包括由一个或多个二硫键连接的约50kDa的轻链(Lc)和约100kDa的重链(Hc)(可参考例如Simpson LL, Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2004; 44: 167-93)。在人类中,重链介导结合前突触胆碱能神经末梢和毒素内化进入细胞。轻链被认为是负责毒素效应,作为锌内肽酶和裂解特定的蛋白负责膜融合(SNARE复合)(见如Montecucco C, Shiu G., Rosetto O: 破伤风和肉毒杆菌神经毒素的作用机制(The mechanism of action of tetanus and Botulinum neurotoxins). Arch Toxicol. 1996; 18 (Suppl.): 342-354)。

[0081] 本文中提到的肉毒杆菌毒素复合物的神经毒性亚基是指“神经毒性成分”或“不含复合蛋白 (complexing protein) 的神经毒性成分”。肉毒杆菌毒素的神经毒性成分A型和B型的生产在例如国际专利申请W0 00/74703中描述。

[0082] 在又一个实施方案中,肉毒杆菌毒素为A型肉毒杆菌毒素。在一个实施方案中,所述肉毒杆菌毒素不含任何复合蛋白(神经毒性成分)。在又一个实施方案中,其为纯的神经毒性成分血清型A。此外,通过改性和重组生成的肉毒杆菌毒素的神经毒性成分,包括各自的突变、缺失等,也包含在本发明的范围内。关于合适的突变体,可参考W0 2006/027207 A1、W0 2009/015840 A1、W0 2006/114308 A1和EP 08015287.9,其以参阅的方式全文并入于此。此外,在本发明中,可使用不同血清型的混合物(神经毒性成分的形式或重组的形式或这两种形式,如肉毒神经毒素A型和B型的混合物)。然而,本发明也涉及毒素,如经过化学改性的肉毒杆菌毒素,如通过聚乙二醇化、糖基化、硫酸化、磷酸化或任何其它的改性,尤其是一个或多个表面或溶剂暴露的氨基酸。这种肉毒杆菌毒素在例如EP 08015288.7中及其披露的现有技术中公开。

[0083] 根据本发明的教导,本发明还涵盖含有除神经毒性成分以外不含蛋白的肉毒杆菌毒素复合物的药物。

[0084] 所述肉毒杆菌毒素,优选本文所指的神经毒性成分,可以是唯一的活性成分,或者也可以含有其它的药物活性成分。

[0085] 在一个实施方案中所述组合物是冻干的。

[0086] 在本发明的一个实施方案中,液体组合物可以装入lyo-瓶中,随后冻干。样品的冻干可以在-35℃至-65℃的温度进行冷冻1~10小时,如5~10小时。该步骤后进行初级干燥,在100mTorr至200mTorr的压力下在货架温度-30℃至10℃,如-20℃至10℃或5℃至10℃,干燥10小时至25小时。最后,样品进入冻干工艺的最后一步,进行二级干燥,在货架温度15℃至25℃下干燥5小时至15小时。lyo-瓶的样品体积在0.1~5ml之间,如0.2~1ml或0.4~0.6ml,或0.5ml。在一个实施方案中样品体积在2ml~4ml之间。

[0087] 在本发明又一个实施方案中,冻干工艺可以在货架温度-45℃对样品进行冷冻约2小时,然后在货架温度-25℃和90mTorr下进行初级干燥约12小时,在货架温度25℃下进行二级干燥约12.5小时。

[0088] 在一个实施方案中,一种注射液包括要求保护的所述组合物。

[0089] 本文要求保护的注射液在2~8℃的温度下能稳定24小时。

[0090] 在一个实施方案中,在施用于哺乳动物前,所述注射液通过药用无菌溶剂和所述冻干组合物的重组而获得。

[0091] 在又一个实施方案中,本发明涉及一种制备所述注射液的方法,所述注射液通过静脉内、皮下、肌肉内、关节内、腹腔内、脑脊液内 (intracerebrospinal)、心内、鞘膜内、膀胱内、骨内、玻璃体内、硬脑膜外、滑膜内注射给哺乳动物。所述方法包括施用前,以药用无菌溶剂溶解本文所要求保护的冻干组合物的步骤。

[0092] 在本发明的另一个实施方案中,所述注射液也可以通过其它途径给药。给药的途径包括但不限于,吸入、口腔和鼻腔。对于此类应用的实例包括但不限于,例如,将 α -1抗胰蛋白酶以本文所要求保护的注射液形式给慢性阻塞性肺病 (COPD) 患者吸入。

[0093] 本文所要求保护的组合物可以用作药物、化妆品、皮肤护理产品或诊断产品。

[0094] 本文使用的术语“药物”涉及一种产品或产品的混合物,其中所述产品可以在给药前混合或依次使用,其对施用的哺乳动物具有治疗和/或诊断作用。

[0095] 本文使用的术语“化妆品”涉及用于化妆目的的产品。本文使用的术语“化妆”涉及按FD&C法案,sec.201(i)(联邦食品、药品和化妆品法案(Federal Food, Drug and Cosmetic Act),FDA)定义的将产品擦、倒、洒、或喷上、引入、或以其它方式应用到人体,用于清洁、美化、增加吸引力,或改变外观。

[0096] 本文使用的术语“诊断产品”涉及包括给予患者用于对患者进行诊断或检测的一种或多种化合物的任何产品。

[0097] 本文使用的术语“药用化妆品”涉及非处方的化妆产品,也具有药物或类似药物的益处。

[0098] 在本发明的一个实施方案中,本文所要求保护的制剂可以包括缓冲液。

[0099] 本文使用的术语“缓冲液”涉及由弱酸及其共轭碱或弱碱及其共轭酸的混合物组成的水溶液。

[0100] 在本发明的一个实施方案中,缓冲液选自下组:磷酸盐缓冲液、醋酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、甲酸盐缓冲液、苯甲酸盐缓冲液、TRIS(三(羟甲基)氨基甲烷)和马来酸盐缓冲液。所述缓冲液根据USP(美国药典)、EP(欧洲药典)、JP(日本药典)的质量标准,使用符合药典规定的赋形剂制备。缓冲液的浓度要根据最终产品的pH值确定。

[0101] 本文制剂中使用的赋形剂和活性成分(肽和/或蛋白)均是药用的。

[0102] 本文使用的术语“药用”涉及任何赋形剂、药用活性成分,其能使所述组合物被哺乳动物以治疗有效量的浓度摄取,避免任何一种副作用。

[0103] 本发明的一个方面涉及一种试剂盒,其包括包含制剂/组合物的一个或多个容器和所述制剂/组合物的使用说明书,以及任选的药用无菌溶剂。

[0104] 本文使用的术语“溶剂”涉及能辅助溶解或稀释任何其它物质或物质混合物或产品的任何液体。本发明中术语“溶剂”的含义也可以包括混合溶剂。

[0105] 所述方法中使用的药用无菌溶剂包括但不限于,注射用水(WFI)、等渗盐溶液、林格氏溶液(Ringer's solution)、pH缓冲溶液、5%葡萄糖水溶液。

[0106] 本发明的另一个方面涉及无菌组合物。

[0107] 本文使用的术语“无菌”涉及不存在不希望的微生物,涉及USP(美国药典)、EP(欧洲药典)和JP(日本药典)中定义的规范标准。

[0108] 在一个实施方案中,所述组合物为无热原的(non-pyrogenic),例如每剂量含有<1EU(内毒素单位,一个标准量度),优选每剂量含有<0.1EU。在又一个实施方案中,所述注射液无菌且无热原。

[0109] 在发明的一个实施方案中,所述组合物在脊椎动物,如哺乳动物中使用。

[0110] 术语“脊椎动物”被定义为脊索动物亚门的任何成员,具有脊骨和脊柱的脊索动物。因此,术语“脊椎动物”包括人类、哺乳动物、有袋动物、爬行类、鸟类、两栖类和鱼类。

[0111] 本文中的术语“哺乳动物”是指任何温血动物,以具有汗腺包括产生奶汁的腺体为特征,及以存在头发、用于听觉的三个中耳骨,在大脑中有新皮层区为特征的脊索动物。因此,雄性或雌性的人、狗、猫、猪、牛、马、驴、绵羊、山羊和鹿这些哺乳动物均涵盖于该定义内。

[0112] 本文中的术语“有袋动物”被定义为哺乳动物,其中雌性通常有一个袋,哺育幼年的婴儿。它们不同于繁殖性状为胎盘的哺乳动物。

[0113] 本文中的术语“爬行动物”被定义为任何呼吸空气、外温性脊索动物,被鳞片而不是头发或羽毛覆盖皮肤。

[0114] 本文中的术语“鸟类”被定义为任何双足、温血、产卵的脊索动物。

[0115] 本文中的术语“两栖类”被定义为所有没有羊膜卵的活动四足动物(四足脊索动物),是外温性动物,一般一部分时间在陆地上生存。

[0116] 本文中的术语“鱼”被定义为水生脊索动物,通常为外温动物、有鳞片覆盖,并长有两套成对的鳍和几个未成对鳍。

[0117] 本文的浓度值均以“约”值表示。

[0118] 本文使用的术语“约”是为了反映其所连接数值的20%的变化。

[0119] 本发明进一步涉及制备所述组合物的方法,其特征在于将所述组合物制成水溶性组合物,随后冻干。

[0120] 冻干之前,蛋白或肽溶解在水溶液中,它通过亲水性聚合物、多元醇及糖的混合物以及去垢剂来稳定。溶液中蛋白的稳定化是指蛋白被主要由亲水性聚合物、多元醇及糖的混合物、去垢剂组成的结构包围。

[0121] 通过使用去垢剂,可以减少亲水性聚合物的量。在一个实施方案中,通过使用吐温80,以产品总体组合物的总重量计,PVP的浓度降至150mg/g至80mg/g。由于具有这样的效果,本文组合物的工业生产得到了改进。

[0122] 在本发明的一个实施方案中,以1g生产的散装组合物计,本发明的组合物包括重量约2pg至50ng的肉毒杆菌毒素的神经毒性成分。优选地,每1g水,分别地每1g生产的散装组合物中,重量范围为2pg~200pg、200pg~400pg、400pg~600pg、600pg~800pg、800pg~1ng、1ng~1.5ng、1.5ng~2ng、2ng~2.5ng、2.5ng~3ng、3ng~3.5pg、3.5ng~4ng、4ng~4.5ng、4.5ng~5ng。在本发明的一个实施方案中,神经毒性成分的生物活性为每ng神经毒性成分50~250LD₅₀单位,在小鼠LD₅₀检测中测定。在又一个实施方案中,神经毒性成分的生物活性为每ng神经毒性成分约150LD₅₀。

[0123] 以下对本发明所述稳定性组合物的实施方案予以说明,其中特定组分的量均相对于1g生产的散装组合物而言。

[0124] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约0.5mg透明质酸、约15.0mg甘露醇、约5.0mg蔗糖和约0.1mg聚山梨酯80。

[0125] 在本发明的另一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约1.0mg透明质酸、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0126] 在本发明的另一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约2.0mg透明质酸、约40.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.5mg聚山梨酯80。

[0127] 在本发明的另一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约2.0mg透明质酸、约40.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0128] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约1.0mg透明质酸、约40.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.5mg聚山梨酯80。

[0129] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括≤1.6ng肉毒杆菌毒素的神

经毒性成分、约1.0mg透明质酸、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0130] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约80.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约50.0mg甘露醇和约0.2mg聚山梨酯80。

[0131] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约80.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约50.0mg甘露醇和约0.5mg聚山梨酯80。

[0132] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约100.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0133] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约80.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0134] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约80.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖、约0.2mg聚山梨酯80和约10mM磷酸盐缓冲液(pH值7.4)。

[0135] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约50.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖、约0.2mg聚山梨酯80和约10mM磷酸盐缓冲液(pH值7.4)。

[0136] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约100.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.5mg聚山梨酯80。

[0137] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约100.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约50.0mg甘露醇和约0.2mg聚山梨酯80。

[0138] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约100.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约50.0mg甘露醇和约0.5mg聚山梨酯80。

[0139] 在本发明又一个实施方案中,本文所述的组合物包括 $\leq 1.6\text{ng}$ 肉毒杆菌毒素的神经毒性成分、约150.0mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、约30.0mg甘露醇、约10.0mg蔗糖和约0.2mg聚山梨酯80。

[0140] 本文所述的组合物用于治疗疾病或病症,所述疾病或病症由患者的肌肉或外分泌腺中过度活跃的胆碱能神经支配引起或与之有关,其中神经毒性成分阻挡了乙酰胆碱分泌到突触间隙。因此,本发明所述的组合物可以直接治疗下述任意适应症,其中大部分在Dressier D(2000) (肉毒杆菌毒素治疗(Botulinum Toxin Therapy). Thieme Verlag, Stuttgart, 纽约) 中详细描述:

[0141] 肌张力障碍

[0142] 颅部肌张力障碍

[0143] 眼睑肌张力障碍

[0144] 下颌肌张力障碍

[0145] 开颌型

[0146] 闭颌型

[0147] 磨牙症

- [0148] 美格 (Meige) 综合征
- [0149] 舌肌张力障碍
- [0150] 眼睑张开失用症
- [0151] 颈部肌张力障碍
- [0152] 颈前屈
- [0153] 颈后屈
- [0154] 颈侧屈
- [0155] 斜颈
- [0156] 咽部肌张力障碍
- [0157] 喉部肌张力障碍
- [0158] 痉挛性发声障碍/内收型
- [0159] 痉挛性发音障碍/外展型
- [0160] 痉挛性呼吸困难
- [0161] 四肢肌张力障碍
- [0162] 臂部肌张力障碍
- [0163] 特殊工作性肌张力障碍
- [0164] 书写痉挛
- [0165] 音乐家手部痉挛
- [0166] 高尔夫球手的痉挛
- [0167] 腿部肌张力障碍
- [0168] 大腿内收, 大腿外展
- [0169] 膝关节弯曲, 膝关节伸直
- [0170] 踝关节弯曲, 踝关节伸直
- [0171] 马蹄内翻足畸形
- [0172] 足部肌张力障碍
- [0173] 纹状趾
- [0174] 足趾弯曲
- [0175] 足趾伸直
- [0176] 轴向肌张力障碍
- [0177] 比萨 (pisa) 综合征
- [0178] 肚皮舞者 (belly dancer) 肌张力障碍
- [0179] 节段性肌张力障碍
- [0180] 偏身性肌张力障碍
- [0181] 全身性肌张力障碍
- [0182] lubag型肌张力障碍
- [0183] 皮层基底节变性肌张力障碍
- [0184] lubag型肌张力障碍
- [0185] 迟发性肌张力障碍
- [0186] 脊髓小脑共济失调型肌张力障碍

- [0187] 帕金森氏病肌张力障碍
- [0188] 亨廷顿氏病肌张力障碍
- [0189] Hallervorden Spatz症肌张力障碍
- [0190] 多巴诱导的运动障碍/多巴诱导的肌张力障碍
- [0191] 迟发性运动障碍/迟发性肌张力障碍
- [0192] 阵发性运动障碍/阵发性肌张力障碍
- [0193] 运动源性
- [0194] 非运动源性
- [0195] 行动诱导的
- [0196] 软腭肌阵挛
- [0197] 肌阵挛
- [0198] 肌纤维阵挛
- [0199] 僵直症
- [0200] 良性肌肉痉挛
- [0201] 遗传性下巴颤抖
- [0202] 反常性颌肌活动
- [0203] 半侧咀嚼肌痉挛
- [0204] 肥厚性腮肌病
- [0205] 嚼肌肥大
- [0206] 胫前肌肥大
- [0207] 眼球震颤
- [0208] 振动幻视
- [0209] 核上性凝视麻痹
- [0210] 部分性癫痫持续状态
- [0211] 痉挛性斜颈手术规划(planning of spasmodic torticollis operation)
- [0212] 外展性肌声带麻痹
- [0213] 顽抗性突变发声困难
- [0214] 上部食管括约肌功能障碍
- [0215] 声带肉芽肿
- [0216] 口吃
- [0217] 抽动秽语综合征
- [0218] 中耳肌阵挛
- [0219] 保护性喉部封闭
- [0220] 喉切除术后失语症
- [0221] 保护性上睑下垂
- [0222] 睑内翻
- [0223] 奥狄(Oddi)括约肌功能障碍
- [0224] 假性贲门失弛缓症
- [0225] 非失弛缓性食管动力紊乱

- [0226] 阴道痉挛
- [0227] 术后固定
- [0228] 震颤
- [0229] 膀胱功能障碍
- [0230] 逼尿肌括约肌协同失调
- [0231] 膀胱括约肌痉挛
- [0232] 偏侧面肌痉挛
- [0233] 神经移植运动障碍
- [0234] 化妆品使用
- [0235] 眼角鱼尾纹
- [0236] 皱眉头
- [0237] 面部不对称
- [0238] 颊肌酒窝
- [0239] 僵人综合征
- [0240] 破伤风
- [0241] 前列腺增生
- [0242] 肥胖治疗
- [0243] 小儿脑麻痹
- [0244] 斜视
- [0245] 交替性
- [0246] 麻痹性
- [0247] 共同性
- [0248] 视网膜脱离术后
- [0249] 白内障术后
- [0250] 在无晶状体眼中
- [0251] 肌炎性斜视
- [0252] 肌源性斜视
- [0253] 分离性垂直偏差
- [0254] 斜视手术后遗症
- [0255] 内斜视
- [0256] 外斜视
- [0257] 失弛缓症
- [0258] 肛裂
- [0259] 外分泌腺功能亢进
- [0260] Frey综合征
- [0261] 鳄鱼泪综合征
- [0262] 多汗
- [0263] 腋下
- [0264] 手掌

- [0265] 脚掌
- [0266] 鼻溢
- [0267] 相对多涎
- [0268] 在中风中
- [0269] 在帕金森氏病中
- [0270] 在肌萎缩性侧索硬化症中
- [0271] 痉挛病症
- [0272] 在脑炎和脊髓炎中
- [0273] 自身免疫性过程
- [0274] 多发性硬化症
- [0275] 横贯性脊髓炎
- [0276] 德维克氏 (Devic) 综合征
- [0277] 病毒感染
- [0278] 细菌感染
- [0279] 寄生虫感染
- [0280] 真菌感染
- [0281] 在遗传性痉挛性截瘫中
- [0282] 中风后综合征
- [0283] 大脑半球梗死
- [0284] 脑干梗死
- [0285] 脊髓梗死
- [0286] 在中枢神经系统创伤中
- [0287] 大脑半球损伤
- [0288] 脑干损伤
- [0289] 脊髓损伤
- [0290] 在中枢神经系统出血中
- [0291] 颅内出血
- [0292] 蛛网膜下腔出血
- [0293] 硬膜下出血
- [0294] 椎管内出血
- [0295] 在肿瘤中
- [0296] 大脑半球内肿瘤
- [0297] 脑干肿瘤
- [0298] 脊髓肿瘤

[0299] 在另一个实施方案中,本发明涉及到一种试剂盒,其中所述试剂盒包括包含本文所述的制剂/组合物的一个或多个容器、重组所述制剂/组合物的说明书,以及任选的药用无菌溶剂。适当的容器包括但不限于,单瓶、双室瓶、单独应用的注射器或双室注射器。所述容器可以采用各种材料制成,如适于药用、诊断、化妆品或药用化妆品施用的玻璃或塑料。所述试剂盒可以单独应用,也可以多个并用。

[0300] 本发明参考下面的实施例进行说明。提供这些实施例的目的在于解释本发明,但不应理解为将本发明限制于这些实施例,而是应该理解为涵盖任何及所有的变化,应视为使本文提供的教导变得清楚。随后的实施例提供了以下材料和方法,但不限制本发明所涵盖的大量材料和方法。

实施例

[0301] 实施例:

[0302] 为找到一种A型肉毒杆菌毒素的稳定的组合物进行研究。每个组合物中包括 $\leq 1.6\text{ng}$ A型肉毒杆菌毒素的神经毒性成分。筛选制剂的组合物总结于下表,其中给出的量以mg/1g生产的散装组合物计。

[0303]

制剂编号	PVP [mg/g]	透明质酸 [mg/g]	甘露醇 [mg/g]	蔗糖 [mg/g]	聚山梨酯80 [mg/g]
对比制剂1	100	-	50	-	0.5
对比制剂2	-	1	30	10	-
对比制剂3	-	-	30	10	0.2
实施例1	80	-	30	10	0.2
实施例2	-	2	40	10	0.5
实施例3	-	2	30	10	0.2
实施例4	-	1	30	10	0.2

[0304]

制剂编号	起始值	40℃/75%RH 1个月	40℃/75%RH 3个月	40℃/75%RH 7个月
	$T_{1/2}$ [min]			
对比制剂1	68	76	98	n.m.
对比制剂2	138	110	n.m.	n.m.
对比制剂3	96	n.m.	n.m.	n.m.
实施例1	67	72	87	90
实施例2	66	85	n.m.	n.m.
实施例3	69	78	n.m.	n.m.
实施例4	68	69	n.m.	67

[0305] n.m. = 未测定

[0306]

制剂编号	起始值	25℃/60%RH 1个月	25℃/60%RH 3个月	25℃/60%RH 7个月
	$T_{1/2}$ [min]			
实施例1	67	69	75	n.m.
实施例4	71	64	74	66

[0307] 采用Göschel等(“肉毒杆菌毒素治疗:中和与非中和抗体”,实验神经病学(“Botulinum Toxin Therapy:Neutralizing and Nonneutralizing Antibodies-Therapeutic Consequences”Experimental Neurology),1997;147:96-102)定义的HDA-检测来测定制剂的稳定性。冻干后测定起始值。计算所有四个实验的平均值,与参考材料所产生的数据进行对比。贮存期内停顿时间(paralysis time)的变化表明了神经毒素制剂的稳定性:与原始值相比停顿时间增加表示神经毒素的活性损失。

[0308] 结果以要求达到最初肌肉浓度强度(force)一半所需时间的分钟表示。较短的时间阀(valves)反映了较高量的活性毒素。结果可作如下解释:原则上,本发明的制剂与对比制剂相比更稳定,其中缺少了必要成分之一。

[0309] 从对比制剂1可以明显看出,在不存在蔗糖的情况下,可以制备含活性毒素的制剂,但是,其活性迅速损耗,在3个月内在40℃和75%RH的条件下毒素活性显著降低。对比制剂2显示,在不存在去垢剂的情况下,从冻干后直接测量的较高的起始值138min显然可知,

毒素在生产过程中已经明显损失了活性。对比制剂3显示,在不存在亲水性聚合物的情况下,从较高的起始值96min显然可知,毒素在生产过程中已经明显损失了活性。

Abstract

The present invention pertains to a formulation comprising a hydrophilic polymer, a mixture of a polyalcohol and a sugar, wherein the weight ratio of polyalcohol to sugar is between 2:1 to 5:1 (wt-%), a detergent, wherein said formulation is free of stabilising proteins.