



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 301**

51 Int. Cl.:
C07K 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06748281 .0**

96 Fecha de presentación : **03.03.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1856139**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.11.2007**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para aplicaciones tópicas y liberación transdérmica de un oligopéptido.**

30 Prioridad: **03.03.2005 US 658741 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.07.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.07.2011

73 Titular/es: **REVANCE THERAPEUTICS, Inc.**
2400 Bayshore Parkway, Suite 100
Mountain View, California 94043, US

72 Inventor/es: **Dake, Michael, D. y**
Waugh, Jacob, M.

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 362 301 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y procedimientos para aplicaciones tópicas y liberación transdérmica de un oligopéptido

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional de EE.UU. nº de serie 60/658.741, presentada el 3 de marzo de 2005, que se incorpora en el presente documento en su totalidad por referencia.

Campo de la invención

- 10 La invención se refiere a una aplicación transdérmica de oligopéptidos para reducir la transmisión sináptica en tejidos de un animal.

Antecedentes de la invención

- 15 La presente invención se refiere a nuevas composiciones que comprenden un oligopéptido, más específicamente a composiciones tales que permiten el transporte o liberación de un oligopéptido a través de la piel o el epitelio (también denominada "liberación transdérmica") y que, por tanto, se pueden usar como aplicaciones tópicas para proporcionar un oligopéptido a un sujeto con varios fines terapéuticos, estéticos y/o cosméticos, como se describe en el presente documento.

- 20 Las toxinas botulínicas (también conocidas como toxinas de botulina o neurotoxinas botulínicas) son neurotoxinas producidas por la bacteria grampositiva *Clostridium botulinum*. Actúan produciendo parálisis de los músculos al impedir la transmisión sináptica o la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular y se piensa que también actúan de otros modos. Esencialmente, su acción bloquea las señales que normalmente producirían espasmos o contracciones musculares, dando lugar a parálisis.

- 25 Allan B. Scott usó por primera vez la toxina botulínica (BTX-A) en monos en 1973. Scott demostró una parálisis reversible del músculo ocular que duró 3 meses (Lamanna, Science, 130:763-772 (1959)). Poco después se notificó el éxito del tratamiento con BTX-A en seres humanos para estrabismo, blefaroespasma y tortícolis espasmódica (Baron y col., En: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Eds), Bailey & Scotts Diagnostic Microbiology, St. Louis, MO: Mosby Year Book, 504-523 (1994); Carruthers y Carruthers, Adv Dermatol, 12:325-348 (1997); Markowitz, En: Strickland GT (Eds) Hunters Tropical Medicine, 7ª ed. Filadelfia: W.B. Saunders, 441-444 (1991)). En 1986, Jean y Alastair Carruthers, equipo matrimonio compuesto por un cirujano oculoplástico y un dermatólogo, comenzaron a desarrollar el uso estético de BTX-A para el tratamiento de las arrugas asociadas con el movimiento en el área del entrecejo (Schantz y Scott, En Lewis GE (Ed) Biomedical Aspects of Botulinum, New York: Academic Press, 143-150 (1981)). El uso por Carruther de BTX-A para el tratamiento de las arrugas condujo a su publicación semanal de este enfoque en 1192 (Schantz y Scott, En Lewis GE (Ed) Biomedical Aspects of Botulinum, New York: Academic Press, 143-150 (1992)). Hacia 1994, el mismo equipo notificó experiencias con otras arrugas de la cara asociadas con el movimiento (Scott, Ophthalmol, 87:1044-1049 (1980)). Esto, a su vez, condujo al nacimiento de la era del tratamiento estético con BTX-A.

- 30 La piel protege los órganos del cuerpo de las amenazas ambientales externas y actúa como termostato para mantener la temperatura corporal. Consta de varias capas, cada una con funciones especializadas. Las capas principales incluyen la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es una capa de estratificación de células epiteliales que cubre la dermis, que está compuesta por tejido conjuntivo. Tanto la epidermis como la dermis se apoyan en la hipodermis, una capa interna de tejido adiposo.

- 35 La epidermis, la capa más superior de la piel, tiene un espesor de únicamente 0,1 a 1,5 milímetros (Inlander, Skin, New York, NY: People's Medical Society, 1-7 (1998)). Está compuesta por queratinocitos y se divide en varias capas en función de su estado de diferenciación. La epidermis puede clasificarse por su parte en el estrato córneo y la epidermis viable, que consiste en células malpighianas granulares y basales. El estrato córneo es higroscópico y requiere al menos un 10% de humedad en peso para mantener su flexibilidad y suavidad. La higroscopicidad se puede atribuir, en parte, a la capacidad de la queratina para retener agua. Cuando la capa córnea pierde su suavidad y flexibilidad se convierte en áspera y frágil, lo que da como resultado sequedad de la piel.

- 40 La dermis, que se encuentra justo debajo de la epidermis, tiene un espesor de 1,5 a 4 milímetros. Es la más espesa de las tres capas de la piel. Además, la dermis es también el hogar de la mayoría de las estructuras de la piel, incluidas las glándulas sudoríparas y oleosas (que secretan sustancias a través de orificios en la piel denominados poros, o comedos), folículos pilosos, terminaciones nerviosas y vasos sanguíneos y linfáticos (Inlander, Skin, New York, NY: People's Medical Society, 1-7 (1998)). No obstante, los principales componentes de la dermis son colágeno y elastina.

- 45 La hipodermis es la capa más profunda de la piel. Actúa como aislante para la conservación del calor del cuerpo y como absorbedor de shock para protección de órganos (Inlander, Skin, New York, NY People's Medical Society, 1-7 (1998)). Además, la hipodermis también almacena grasa para reservas de energía. El pH de la piel suele estar entre 5 y 6. Esta acidez se debe a la presencia de aminoácidos anfotéricos, ácido láctico y ácidos grasos de las

secreciones de las glándulas sebáceas. La expresión “manto ácido” se refiere a la presencia de sustancias hidrosolubles en la mayoría de las regiones de la piel. La capacidad de tamponamiento de la piel se debe en parte a estas secreciones almacenadas en la capa córnea de la piel.

5 Una de las principales funciones de la piel es proporcionar una barrera al transporte de agua y sustancias potencialmente dañinas para la homeostasis normal. El cuerpo se deshidrataría rápidamente sin una piel fuerte y semipermeable. La piel ayuda a prevenir la entrada de sustancias dañinas en el cuerpo. Aunque la mayoría de las sustancias no pueden penetrar la barrera, se han desarrollado numerosas estrategias para incrementar de forma selectiva la permeabilidad de la piel con un éxito variable.

10 Se dice que la toxina botulínica de tipo A es el agente biológico natural más letal que conoce el hombre. Al mismo tiempo, los efectos paralizantes de músculo de la toxina botulínica se han usado para efectos terapéuticos. La administración controlada de la toxina botulínica se ha usado para proporcionar parálisis muscular para tratar afecciones, por ejemplo trastornos neuromusculares, que se caracteriza por músculos esqueléticos hiperactivos. Las afecciones que se han tratado con la toxina botulínica incluyen espasmo hemifacial, tortícolis espasmódico de inicio 15 en la edad adulta, fisura anal, blefaroespasmo, parálisis cerebral, distonía cervical, cefaleas migrañosas, estrabismo, trastorno articular temporomandibular y varios tipos de calambres y espasmos musculares. Más recientemente, los efectos paralizantes del músculo de la toxina botulínica han tomado ventaja en las aplicaciones faciales terapéuticas y cosméticas tales como el tratamiento de las arrugas, las líneas del ceño y otros resultados de espasmos o 20 contracciones de músculos faciales,

En todos los tratamientos usados en la actualidad, la toxina botulínica se administra mediante inyección controlada o monitorizada cuidadosamente, creando grandes pozos de toxina en el sitio de tratamiento. En la literatura hay unas pocas referencias dispersas al tratamiento tópico. Por ejemplo, en la patente de EE.UU. 6.063.768 de Eric R. First se 25 pueden hacer aseveraciones de que la toxina botulínica se puede aplicar tópicamente, pero no se proporciona información alguna sobre cómo se puede conseguir. En otra patente en la que First figura como inventor, la patente de EE.UU. 6.087.327 (de Pearce y First), se menciona que la toxina botulínica se puede administrar tópicamente mediante solubilización en tampón fosfato normal que contiene estabilizante de gelatina y se administra tópicamente en la cavidad nasal de un perro. La patente cita una publicación de Shaari y col., (Otolaryngol. Head Neck Surg. 112; 30 566, 1995) en la que se realizó dicho experimento. La solicitud de patente publicada alemana 198 52 981 describe composiciones tópicas que contienen toxina botulínica y sulfóxido de dimetilo para el tratamiento de la hiperhidrosis. Se incluye un ejemplo en la que se trató un único paciente.

La patente de EE.UU. 5.670.484 (Binder) describe el uso de la toxina botulínica para tratar trastornos de la proliferación de células cutáneas (por ejemplo, psoriasis y dermatitis) usando neurotoxinas, incluida la toxina 35 botulínica. La patente afirma que las composiciones se pueden aplicar típicamente, pero no se proporcionan ejemplos de formulaciones adecuadas y en los ejemplos de prueba, la toxina botulínica se administró mediante inyección. La solicitud de EE.UU. publicada 2003/0113349 (Coleman III) representa que las formulaciones tópicas que contienen toxina botulínica se pueden usar para tratar afecciones glandulares hiperactivas de la piel. No obstante, la descripción se refiere a afecciones en las glándulas cutáneas y no tratar aplicaciones transdérmicas. Además, como la mayoría de las publicaciones tratadas en el presente documento, no contiene ejemplos de trabajo. Por último, la solicitud publicada de EE.UU. 2004/0009180 (Donovan) divulga el uso de la toxina botulínica en 40 tratamientos tópicos para una serie de afecciones, algunas de las cuales aparentemente implican liberación transdérmica, por ejemplo aplicación tópica para relajar los músculos. La publicación indica que la liberación transdérmica se consigue mediante el uso de un agente potenciador. Los agentes que se dice que son adecuados para este fin incluyen varios alcoholes, incluidos polialcoholes, aminas, amidas, transferomas y liposomas. Todos los ejemplos están escritos en presente, lo que indica que algunos, o todos, pueden ser conceptuales en lugar de empíricos.

50 Un enfoque para resolver los problemas asociados con la terapia con la toxina botulínica es usar fragmentos de la toxina u otros agentes que interfieren en el complejo SNARE. El complejo SNARE es un ensamblaje de tres proteínas que desempeña un papel central en la exocitosis neuronal, El proceso en el que las vesículas cargadas con neurotransmisor se fusionan con la membrana de la neurona y expulsan su contenido. (Gutiérrez, L.M., y col. FEBS Lett. 372, 39-43 (1995); Gutiérrez, L.M., y col. J. Biol. Chem. 272, 2634-2639 (1997); Ferrer-Montiel, A.V., y 55 col. FEBS Lett. 435,84-88 (1998))

Este trabajo ha tenido como resultado la identificación de oligopéptidos eficaces de 20 o más aminoácidos. No obstante, también se ha descubierto que estos agentes, como las propias toxinas botulínicas, tienen una capacidad extremadamente mala para penetrar en la piel. Más recientemente, se ha demostrado que un péptido de 6 60 aminoácidos con la secuencia de ácido glutámico-ácido glutámico-metionina-glutamina-arginina-arginina (EEMQRR) conserva alguna actividad en un modelo. (C. Blanes-Mira, y col. International Journal of Cosmetic Science, 2002, 24, 303-310).

Este hexapéptido, cuando se deriva para mejorar la penetración en la piel y se emplea a concentraciones muy altas tal como al 10% produce reducción de arrugas en ciertos casos (hexapéptido de acetilo o ARGIRELINE®). No obstante, la penetración transdérmica de este péptido, incluso cuando se ha derivado con palmitato o acilado como

en ARGIRELINE®, permanece tan baja que la eficacia en la reducción de arrugas requiere concentraciones altas de compuestos caros, la mayoría de los cuales no atraviesa la piel. Las ventajas de seguridad respecto a las toxinas botulínicas completas son probables, pero todavía tienen que establecerse en estas aplicaciones, dada la elevada carga necesaria por la penetración baja en la piel. Por tanto, las limitaciones de las toxinas botulínicas en términos de la vía de administración están conservadas considerablemente con estos agentes.

Breve resumen de la invención

Es evidente que hay al menos dos problemas asociados con el uso terapéutico de la toxina botulínica. El primero es la toxicidad inherente de la toxina botulínica que tiene como resultado la necesidad de una estrecha supervisión médica de su uso. El segundo es la gran dificultad para conseguir que la toxina botulínica penetre en la piel de modo que pueda alcanzar el sitio en el que es necesario ejercer sus efectos biológicos. La presente invención aborda ambos problemas proporcionando un oligopéptido que tiene actividad biológica similar a la de la toxina botulínica, pero con un nivel mucho menor de toxicidad y un peso molecular menor para potenciar su penetración en la piel.

En un aspecto, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden un oligopéptido y, opcionalmente, un vehículo que comprende una “estructura” cargada positivamente que tiene grupos de ramificación cargados positivamente o “eficiencia”, como se ha descrito en el presente documento. Más preferentemente, el vehículo cargado positivamente es un polipéptido de cadena larga cargado positivamente o un polímero no peptídico cargado positivamente, por ejemplo una polialquilenimina. La invención además se refiere a procedimientos para producir un efecto biológico de reducir la transmisión sináptica en un tejido aplicando tópicamente una cantidad eficaz de dicha composición, preferentemente en la piel, de un sujeto o paciente que necesite dicho tratamiento.

La presente invención también proporciona kit para preparar o formular una composición que comprende el oligopéptido y, opcionalmente, un vehículo, así como dichos elementos adicionales que se necesitan para producir una formulación utilizable, o una premezcla que, a su vez, puede usarse para producir dicha formulación. Como alternativa, el kit comprende medios para administrar al sujeto, por separado pero en conjunto, el oligopéptido y un vehículo.

Por tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende un primer oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, en el que dicho primer oligopéptido comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID N° la composición comprende además un vehículo cargado positivamente que comprende una polilisina cargada positivamente, con grupos de ramificación fijados cargados positivamente seleccionados de forma independiente de $(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD, o mezclas de los mismos, en los que el subíndice $n1$ es un número entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es, de forma independiente, un número entero impar de aproximadamente 5 a aproximadamente 25, en el que el oligopéptido no está modificado covalentemente mediante el vehículo cargado positivamente.

La presente invención se puede usar en un procedimiento para reducir los síntomas asociados con una afección médica seleccionada de la lista que consiste en distonía, espasmos musculares, trastornos nerviosos autónomos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos del oído interno, trastornos musculares, trastornos de atrapamiento nervioso, hiperhidrosis, acné, secreciones mucosas, psoriasis, trastornos cutáneos relacionados con la diabetes, cicatrización de heridas, trastornos de las glándulas mamarias, crecimiento de vello, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hipercalcemia, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición, que comprende un primer oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, comprendiendo dicho primer oligopéptido la secuencia de aminoácidos de SEC ID N° 1, comprendiendo además la composición un segundo oligopéptido que tiene fijado grupos de ramificación cargados positivamente seleccionados de forma independiente de $(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD, o mezclas de los mismos, en los que el subíndice $n1$ es un número entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es, de forma independiente, un número entero impar de aproximadamente 5 a aproximadamente 25. El compuesto puede comprender un oligopéptido de 7 a aproximadamente 20 aminoácidos, en el que dicho oligopéptido comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID N° 1. En algunas formas de realización, el oligopéptido puede comprender de 8, 9 ó 10 a aproximadamente 20 aminoácidos.

La presente invención se puede usar en un procedimiento para reducir los síntomas asociados con una afección médica seleccionada de la lista que consiste en distonía, espasmos musculares, trastornos nervioso autónomos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos del oído interno, trastornos musculares, trastornos de atrapamiento nervioso, hiperhidrosis, acné, secreciones mucosas, psoriasis, trastornos cutáneos relacionados con la diabetes, cicatrización de heridas, trastornos de las glándulas mamarias, crecimiento de vello, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hipercalcemia, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que comprende un oligopéptido de 7 a aproximadamente 20 aminoácidos, comprendiendo dicho oligopéptido la secuencia de aminoácidos de SEC ID N° 1.

Descripción breve de las figuras

La Figura 1 es una serie de fotografías que representan la producción de sudor en el pie de ratón visualizado mediante tinción de yodo-almidón (positivos azul-negro) 7 días después de la aplicación tópica del oligopéptido EEMQ RR (pie izquierdo) o toxina botulínica (pie derecho) sin vehículo (a y c) o el oligopéptido EEMQRR (pie izquierdo) o la toxina botulínica (pies derecho) con KNR (b y d) en dos animales diferentes.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona composiciones y procedimientos para la liberación, particularmente la liberación transdérmica, de un oligopéptido mediante aplicación tópica de una formulación adecuada.

El oligopéptido comprende de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos y comprende la secuencia de aminoácidos EEMQRR (SEC ID N° 1). Dado que el oligopéptido tiene que liberarse transdérmicamente, se prefiere que el oligopéptido comprenda unos pocos aminoácidos más de 6 si es posible, con un tamaño máximo de aproximadamente 20 aminoácidos. En algunas formas de realización, el oligopéptido comprende de 7, 8, 9 o 10 a aproximadamente 20 aminoácidos y comprende la secuencia de aminoácidos EEMQRR (SEC ID N° 1). Los aminoácidos pueden estar en forma D o L. Para potenciar la liberación transdérmica, este oligopéptido puede estar opcionalmente modificado por la adición de grupos cargados, incluidos, entre otros, un grupo acetilo, un grupo amida, un grupo fosfato, o ácidos grasos, incluidos, entre otros, un grupo palmitoilo, o modificaciones similares. En algunas formas de realización, el oligopéptido contiene una secuencia de 3-14 aminoácidos neutros o apolares inmediateamente adyacentes a la SEC ID N° 1 para proporcionar al nucleótido una naturaleza antipática, potenciando su capacidad para penetrar la piel. Estas modificaciones del oligopéptido pueden estar en el extremo C-terminal o el extremo N-terminal del oligopéptido o en ambos extremos. Las modificaciones también pueden combinarse en un oligopéptido, como ejemplo no limitante el oligopéptido podría ser acetilado en el extremo N-terminal y contener aminoácidos neutros en el extremo C-terminal o a la inversa. En algunas formas de realización podrían también combinarse oligopéptidos con diferentes modificaciones.

Para las formas de realización en las que el oligopéptido se va a usar junto con un vehículo cargado positivamente, el oligopéptido puede contener secuencias de aminoácidos adyacentes a la SEC ID N° 1, que potencian la interacción no covalente entre el oligopéptido y el vehículo cargado positivamente. Por ejemplo, las secuencias de aminoácidos ácidos cargados negativamente interaccionarían fuertemente con el vehículo cargado positivamente. Dos formas de realización no limitantes de tal oligopéptido son los deca péptidos DDDDEEMQRR (SEC ID N° 2) y la EEMQRRDDDD (SEC ID N°: 3). En algunas formas de realización se pueden usar mezclas de diferentes oligopéptidos, por ejemplo se podrían usar combinados ambos deca péptidos, de SEC ID N° 2 y de SEC ID N° 3.

La secuencia de aminoácidos de SEC ID N° 1 del oligopéptido interfiere con el funcionamiento del complejo SNARE de un modo similar a la toxina botulínica, lo que tiene como resultado la inhibición de la liberación de acetilcolina y la disminución resultante de la transmisión sináptica. Se ha demostrado que la SEC ID N° tiene efectos biológicos similares a los de la toxina botulínica (C. Blanes-Mira, y col. International Journal of Cosmetic Science, 2002, 24, 303-310).

Dada la capacidad de la SEC ID N° para reducir la transmisión sináptica, existe una serie de afecciones médicas que podrían tratarse con este oligopéptido. Estas incluyen, entre otras, afecciones en las que las contracciones o espasmos musculares crónicos producen dolor o discapacidad. Dichas afecciones incluyen, entre otras, migrañas y otras cefaleas, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, epilepsia, temblores, distonías, espasmos musculares, trastornos del sistema nervioso autónomo, estrabismo y mioclonía palatina. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la administración del oligopéptido de la presente invención bloquearía o reduciría los impulsos nerviosos que alcanzan los músculos afectados, de modo que se paliaría o aliviaría la afección. La presente invención no tiene por objeto mejorar el aspecto estético reduciendo o eliminando las líneas finas o arrugas de la cara.

El oligopéptido de la presente invención también podría usarse para tratar varias afecciones glandulares. Muchos tejidos glandulares están controlados por impulsos del sistema nervioso autónomo y el oligopéptido de la presente invención podría usarse para bloquear estos impulsos nerviosos y, de este modo, reducir la secreción de estos tejidos. Entre las afecciones médicas específicas que se beneficiarían de este tratamiento se incluyen hiperhidrosis, acné, dermatitis seborreica, trastornos de las glándulas mamarias y exceso de la secreción mucosa.

Aunque el mecanismo no está claro, se ha descubierto que los compuestos neurotóxicos con actividad sobre el complejo SNARE similar a la del oligopéptido de la presente invención tienen actividad en ciertos trastornos cutáneos proliferativos tales como psoriasis, manifestaciones cutáneas de la diabetes y cicatrización de heridas. Cabe esperar que el tratamiento con el oligopéptido de la presente invención reduzca o mejore los síntomas de los trastornos cutáneos proliferativos.

De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que una molécula vehículo que tiene grupos de eficiencia, como se ha descrito en el presente documento, es adecuada como sistema de transporte para un oligopéptido, lo que permite que se administre el oligopéptido transdérmicamente a los músculos y a otras estructuras asociadas con

la piel. El transporte se produce sin modificación covalente del oligopéptido.

Por "positivamente cargado" se quiere decir que el vehículo tiene una carga positiva en al menos algunas condiciones de fase de solución, incluidas al menos algunas condiciones fisiológicamente compatibles. Más específicamente, "positivamente cargado", como se usa en el presente documento, quiere decir que el grupo en cuestión contiene funcionalidades que se cargan en todas las condiciones de pH, por ejemplo, una amina cuaternaria, o que contiene una funcionalidad que puede adquirir una carga positiva en ciertas condiciones de fase de solución. Más preferentemente, "positivamente cargado", como se usa en el presente documento, se refiere a los grupos que tienen el comportamiento de asociarse con aniones en condiciones fisiológicamente compatibles. Los polímeros con múltiples restos cargados positivamente no tienen que ser homopolímeros, como será evidente para el experto en la técnica. Otros ejemplos de restos cargados positivamente son bien conocidos en la técnica anterior y pueden emplearse fácilmente, como será evidente para los expertos en la técnica.

En general, el vehículo cargado positivamente (también denominado "estructura cargada positivamente") suele ser una cadena lineal de átomos, bien con grupos en la cadena que porta una carga positiva a pH fisiológico o bien con grupos portadores de una carga positiva fijada a las cadenas laterales que se extienden desde la estructura. Preferentemente, la estructura cargada positivamente por sí misma no tendrá una actividad biológica enzimática o terapéutica. La estructura lineal es una estructura de hidrocarburo que está, en algunas formas de realización, interrumpida por heteroátomos seleccionados de nitrógeno, azufre, silicio y fósforo. La mayoría de los átomos de la cadena de la estructura son, normalmente, carbono. Adicionalmente, la estructura a menudo será un polímero de unidades repetitivas (p. ej., aminoácidos, poli(etiloxi), poli(propilenamina), polialquilenimina y similares), pero puede ser un heteropolímero. En un grupo de formas de realización, la estructura cargada positivamente es una polipropilenamina en la que hay una serie de átomos de nitrógeno de amina presentes como grupos amonio (tetra sustituidos) portadores de una carga positiva. En otra forma de realización, la estructura cargada positivamente es un polímero no peptídico, que puede ser un hetero u homopolímero tal como polialquilenimina, por ejemplo una polietilenimina o polipropilenimina, que tenga un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 2.500.000, preferentemente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.800.000 y, más preferentemente, de aproximadamente 500.000 a aproximadamente 1.400.000. En otro grupo de formas de realización, la estructura ha fijado una pluralidad de restos de cadenas laterales que incluyen grupos cargados positivamente (p. ej., grupos amonio, grupos piridinio, grupos fosfonio, grupos sulfonio, grupos guanidinio o grupos amidino). Los restos de cadenas laterales en este grupo de formas de realización pueden estar en espacios a lo largo de la estructura que son consistentes en separaciones o son variables. Adicionalmente, la longitud de las cadenas laterales puede ser similar o diferente. Por ejemplo, en un grupo de formas de realización, las cadenas laterales se pueden ser cadenas de hidrocarburo lineales o ramificadas que tienen de uno a veinte átomos de carbono y terminan en el extremo distal (lejos de la estructura) en uno de los grupos cargados positivamente citados con anterioridad. En todos los aspectos de la presente invención, la asociación entre el vehículo y el oligopéptido se realiza mediante interacción no covalente, ejemplos no limitantes de los cuales incluyen interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, o combinaciones de las mismas.

En un grupo de formas de realización, la estructura cargada positivamente es un polipéptido que tiene múltiples grupos de cadena lateral cargados positivamente (p. ej., lisina, arginina, ornitina, homoarginina y similares). Preferentemente, el polipéptido tiene un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 1.500.000, más preferentemente de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 1.200.000, más preferentemente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.000.000. Un experto en la técnica apreciará que cuando se usan aminoácidos en esta parte de la invención, las cadenas laterales pueden tener la forma D o L (configuración R o S) en el centro de unión. Como alternativa, la estructura puede ser un análogo de un polipéptido tal como un peptoide. Véase, por ejemplo, Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 32:543 (1993); Zuckermann y col. *Chemtracts-Macromol. Chem.* 4:80 (1992); y Simon y col. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 89:9367 (1992)). Brevemente, un peptoide es una poliglicina en la que la cadena lateral está unida a los átomos de nitrógeno de la estructura en lugar de a los átomos de α -carbono. Como se ha indicado anteriormente, una porción de las cadenas laterales normalmente terminará en un grupo cargado positivamente para proporcionar un componente de la estructura cargado positivamente. La síntesis de peptoides se describe en, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 5.877.278, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Como el término se usa en el presente documento, las estructuras cargadas positivamente que tienen una construcción en estructura de peptoide se consideran un "no péptido", ya que no están compuestas por aminoácidos con cadenas laterales naturales en las localizaciones de α -carbono.

Se pueden usar otras diversas estructuras empleando, por ejemplo, miméticos estéricos o electrónicos de polipéptidos en los que los enlaces amida del péptido están reemplazados con sustitutos tales como enlaces éster, tioamidas (-CSNH-), tioamida inversa (-NHCS-), aminometileno (-NHCH₂-) o los grupos de metilenoamino inverso (-CH₂NH-), grupos cetometileno (-COCH₂), éster fosfinato (-PO₂RCH₂-) fosfonamido y fosfonamido (-PO₂RNH-) péptido inverso (-NHCO-), trans-alqueno (-CR=CH-), fluoroalqueno (-CF=CH-), dimetileno (-CH₂CH₂-), tioéter (-CH₂S-), hidroxietileno (-CH(OH)CH₂-), metilenoxi (-CH₂O-) tetrazol (CN₄), sulfonamido (-SO₂NH-), metilensulfonamido (-CHRSO₂NH-), sulfonamida inversa (-NHSO₂-), y estructuras con subunidades de malonato y/o germ-diaminoalquilo, tal como, por ejemplo, lo revisado por Fletcher y col. ((1998) *Chem. Rev.* 98:763) y las referencias detalladas citadas en el mismo. Muchas de las sustituciones anteriores tienen como resultado estructuras poliméricas

aproximadamente isostéricas respecto a las estructuras formadas a partir de α -aminoácidos.

En cada una de las estructuras proporcionadas con anterioridad, se pueden añadir grupos de cadenas laterales que portan un grupo cargado positivamente. Por ejemplo, las estructuras unidas a sulfonamida ($\text{SO}_2\text{NH-}$ y $-\text{NH}\text{SO}_2-$) pueden tener grupos de cadenas laterales fijados a los átomos de nitrógeno. De forma similar, el enlace de hidroxietileno ($-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$) puede llevar un grupo de cadena lateral fijado al sustituyente hidroxilo. Un experto en la técnica puede adaptar fácilmente las otras químicas del enlace para proporcionar grupos laterales cargados positivamente usando procedimientos sintéticos estándar.

En una forma de realización, la estructura cargada positivamente es un polipéptido que tiene grupos de ramificación (también denominados grupos de eficiencia). Como se usa en el presente documento, un grupo de eficiencia o grupo de ramificación que tiene el efecto de estimular la translocación de la estructura positivamente cargada a través de un tejido o membrana celular. Ejemplos no limitantes de los grupos de ramificación o eficiencia incluyen $-(\text{gly})_1-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT o fragmentos del mismo, o el dominio de transducción de proteína de Antennapedia, o un fragmento del mismo, en el que el subíndice n1 es un número entero de 0 a 20, en algunas formas de realización de 0 a 8, en otras formas de realización de 2 a 5, y el subíndice n2 es, de forma independiente, un número entero impar de aproximadamente 5 a aproximadamente 25, en algunas formas de realización de aproximadamente 7 a aproximadamente 17, en otras formas de realización de aproximadamente 7 a aproximadamente 13. Otras formas de realización son las cuales en las que el fragmento HIV-TA tiene la fórmula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$ o $(\text{gly})_q\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$ en la que los subíndices p y q son, cada uno de forma independiente, un número entero de 0 a 20 y el fragmento está fijado a la estructura a través del extremo C o el extremo N del fragmento.

Fragmentos preferidos de HIV-TAT son aquéllos en los que los subíndices p y 1 son, cada uno de forma independiente, números enteros de 0 a 8, más preferentemente de 2 a 5. En otra forma de realización, la cadena lateral o el grupo de ramificación cargados positivamente es el dominio de transducción (PTD) de la proteína Antennapedia (Antp) o el fragmento del mismo que conserve su actividad.

El vehículo cargado positivamente puede también incluir grupos de ramificación de la cadena lateral cargados positivamente en una cantidad de al menos 0,05%, como porcentaje del peso total del vehículo, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 45% y, en algunas formas de realización, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30% en peso. Para los grupos de ramificación cargados positivamente que tienen la fórmula $(\text{gly})_{n1}\text{-arg}^{n2}$, la cantidad es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25%.

En otra forma de realización, la porción de estructura es una polilisina y los grupos de ramificación cargados positivamente están unidos a los grupos amino de lisina de la cadena lateral. La polilisina puede tener un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 1.500.000, en algunas formas de realización de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 1.200.000, y en otras formas de realización de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.000.000. Puede ser cualquiera de las polilisinias comercialmente disponibles (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, EE.UU.) tales como, por ejemplo, polilisina con un PM > 70.000, la polilisina que tiene un PM de 70.000 a 150.000, polilisina que tiene un PM de 150.000 a 300.000 y polilisina que tiene un PM > 300.000. La selección de una polilisina adecuada dependerá de los componentes restantes de la composición y será suficiente para proporcionar a la composición una carga global neta positiva y proporcionará una longitud que es de una a cuatro veces la longitud combinada de los componentes cargados negativamente. Grupos de ramificación o grupos de eficiencia cargados positivamente adecuados incluyen, por ejemplo, $-\text{gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg}$ ($-\text{Gly}_3\text{Arg}_7$) o HIV-TAT. En otra forma de realización, la estructura positivamente cargada es una polialquilenimina de cadena larga, tal como polietilenimina, por ejemplo uno que tiene un peso molecular de aproximadamente 1.000.000.

Las estructuras o moléculas vehículo positivamente cargadas que comprenden polipéptidos o polialquileniminas, que tienen los grupos de ramificación descritos con anterioridad, son compuestos nuevos y forman un aspecto de la presente invención.

En una forma de realización de la invención, sólo es necesario un vehículo cargado positivamente que tenga grupos de ramificación cargados positivamente para la liberación transdérmica de la toxina botulínica. En ciertas formas de realización, el vehículo cargado positivamente (p. ej., lisina, arginina, ornitina, homoarginina y similares) que tienen múltiples cadenas laterales cargadas positivamente, tal como se ha descrito en el presente documento. El polipéptido tiene un peso molecular de al menos aproximadamente 10.000. En otra forma de realización, el vehículo cargado positivamente es un polímero no peptídico tal como polialquilenimina que tiene múltiples grupos de cadena lateral cargados positivamente que tienen un peso molecular de al menos aproximadamente 100.000. Dichas polialquileniminas incluyen polietileno y polipropileniminas. En cualquier caso, para usar como el único agente necesario para liberación transdérmica, la molécula vehículo cargada positivamente incluye grupos de ramificación o de eficiencia cargados positivamente, que comprenden $-(\text{gly})_{n1}\text{-}(\text{arg})_{n2}$, en el que el subíndice n1 es un número entero de 0 a 20 en algunas formas de realización de 0 a 8, en otras formas de realización más de 2 a 5, y el subíndice n2 es, de forma independiente, un número entero impar de aproximadamente 5 a aproximadamente 25, en algunas formas de realización de aproximadamente 7 a aproximadamente 17, y otras formas de realización de aproximadamente 7 a aproximadamente 13, HIV-TAT o fragmentos del mismo, o un PTD de Antennapedia o y

fragmento del mismo. Los grupos de la cadena lateral o de ramificación tienen la fórmula general $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, como se ha descrito anteriormente. Otras formas de realización son aquéllas en las que los grupos de ramificación o de eficiencia son fragmentos de HIV-TAT que tienen la fórmula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-}(\text{gly})_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-}(\text{gly})_q$ o $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-}(\text{gly})_q$, en la que los subíndices p y q son, cada uno de forma independiente, un número entero de 0 a 20 y el fragmento está fijado a la molécula vehículo a través del extremo C o el extremo N del fragmento. Los grupos de ramificación laterales pueden tener la forma D o L (configuración R o S) en el centro de unión. Fragmentos de HIV-TAT adecuados son los que en los subíndices p y q son, cada uno de forma independiente, números enteros de 0 a 8, en algunas formas de realización de 2 a 5. Otras formas de realización son aquéllas en las que los grupos de ramificación son grupos de PTD de Antennapedia o fragmentos de los mismos que conservan la actividad del grupo. Éstos son conocidos en la técnica, por ejemplo de Console y col., J. Biol. Chem. 278:35109 (2003). El vehículo cargado positivamente incluye grupos de ramificación de la cadena lateral cargados positivamente en una cantidad de al menos 0,05 %, como porcentaje del peso total del vehículo, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 45% y, en algunas formas de realización, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25% en peso. Para los grupos de ramificación cargados positivamente que tienen la fórmula $(\text{gly})_{n1}\text{-}(\text{arg})_{n2}$, la cantidad es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25%.

En otra forma de realización, el vehículo es una polilisina y los grupos de ramificación cargados positivamente están unidos a los grupos amino de lisina de la cadena lateral. La polilisina usada en esta forma de realización concreta puede ser cualquiera de las polilisinias comercialmente disponibles (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, EE.UU., p. ej.) tales como, por ejemplo, polilisina con un PM > 70.000, la polilisina que tiene un PM de 70.000 a 150.000, polilisina que tiene un PM de 150.000 a 300.000 y polilisina que tiene un PM > 300.000. No obstante, una polilisina adecuada tiene un PM de al menos aproximadamente 10.000. Grupos de ramificación o grupos de eficiencia adecuados cargados positivamente incluyen, por ejemplo, $-\text{gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg}$ ($-\text{Gly}_3\text{Arg}_7$), HIV-TAT o fragmentos del mismo, y un PTD de Antennapedia o fragmentos de los mismos.

En otras formas de realización de la presente invención, el vehículo es una estructura de polilisina o polietilenimina (PEI) relativamente corta (que puede ser lineal o ramificada) y que tiene grupos de ramificación positivamente cargadas. Dichos vehículos son útiles para minimizar la agregación no controlada de las estructuras y la toxina botulínica en una composición terapéutica, que produce que la eficiencia del transporte disminuya espectacularmente. Cuando el vehículo es una estructura de polilisina o PE lineal relativamente corta, la estructura tendrá un peso molecular inferior a 75.000, en algunas formas de realización inferior a 30.000 y, en otras formas de realización, inferior a 25.000. Cuando el vehículo es una estructura de polilisina o PEI ramificada relativamente corta, no obstante, la estructura tendrá un peso molecular inferior a 60.000, en algunas formas de realización inferior a 55.000 y, en otras formas de realización, inferior a 50.000. Si, no obstante, se incluyen en la composición agentes de reparto tal como se han descrito en el presente documento, el peso molecular de las estructuras de polilisina y PEI ramificadas puede ser de hasta 75.000, mientras que el peso molecular de las estructuras de polilisina y PEI lineales puede ser de hasta 150.000.

Las composiciones de la presente invención están en forma de productos que se van a aplicar a la piel o el epitelio de sujetos o pacientes, es decir seres humanos u otros mamíferos que necesiten el tratamiento concreto. Con la expresión "que lo necesite" se pretende incluye las necesidades tanto farmacéuticas como relacionadas con la salud, por ejemplo tratar la hiperhidrosis, el acné u otras afecciones que implican exceso de producción de secreciones o sudor. En general, las composiciones se preparan mezclando el oligopéptido con el vehículo, y, normalmente, con uno o más vehículos o excipientes adicionales farmacéuticamente aceptables. En su forma más simple, pueden contener un simple vehículo o diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada. No obstante, las composiciones pueden contener otros ingredientes típicos en las composiciones tópicas farmacéuticas o cosméticas, es decir, un excipiente, vehículo o medio dermatológica o farmacéuticamente aceptable, es decir un excipiente, vehículo o medio que sea compatible con los tejidos a los que se aplicarán. La expresión "dermatológica o farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, significa que las composiciones o componentes de las mismas descritas de este modo son adecuadas para usar en contacto con estos tejidos o para usar en pacientes, en general, sin indebida toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica y similares. Según sea adecuado, las composiciones de la invención pueden comprender cualquier ingrediente usado convencionalmente en los campos en consideración, y, particularmente, en cosmética y dermatología. Las composiciones pueden también incluir una cantidad de un anión pequeño, Preferentemente un anión polivalente, por ejemplo fosfato, aspartato o citrato.

En términos de su forma, las composiciones de la presente invención pueden incluir soluciones, emulsiones (incluidas microemulsiones), suspensiones, cremas, lociones, geles, polvos u otras composiciones típicas sólidas o líquidas usadas para aplicar a la piel y a otros tejidos en los que se puedan usar las composiciones. Dichas composiciones pueden contener, además del oligopéptido y el vehículo, otros ingredientes de uso habitual en dichos productos, tales como antimicrobianos, hidratantes y agentes de hidratación, agentes de penetración, conservantes, emulsionantes, aceites naturales o sintéticos, disolventes, tensioactivos, detergentes, agentes de gelificación, emolientes, antioxidantes, fragancias, cargas, espesantes, ceras, absorbentes de olor, pigmentos, agentes colorantes, polvos, agentes de control de la viscosidad y agua, y, opcionalmente, incluyen anestésicos, principios activos anti-picores, extractos botánicos, agentes de acondicionamiento, agentes de oscurecimiento y aclaramiento, brillos, humectantes, mica, minerales, polifenoles, siliconas o derivados de los mismos, filtros solares, vitaminas y

fitomedicamentos.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden estar en forma de composiciones de liberación controlada o de liberación sostenida, en las que el oligopéptido y el vehículo opcional están encapsulados o, de otro modo, contenidos dentro de un material tal que se liberan sobre la piel de un modo controlado en el tiempo. El oligopéptido y el vehículo opcional puede estar contenido dentro de matrices, liposomas, vesículas, microcápsulas, microesferas y similares, o dentro de un material particulado sólido, todos los cuales se seleccionan y/o construyen para proporcionar la liberación del oligopéptido en el tiempo. El oligopéptido y el vehículo opcional pueden estar encapsulados juntos (p. ej., en la misma cápsula) o por separado (en cápsulas distintas).

En formas de realización concretas, las composiciones incluyen agentes de gelificación y/o modificadores de la viscosidad. En general, estos agentes se añaden para incrementar la viscosidad de la composición para facilitar la aplicación de la composición y que sea más precisa. Adicionalmente, estos agentes ayudan a evitar que la solución acuosa de oligopéptido/vehículo se seque, lo que tiende a causar una disminución de la actividad del oligopéptido. Agentes adecuados son aquellos que no están cargados y no interfieren en la actividad del oligopéptido o la eficiencia de los complejos del oligopéptido-vehículo al atravesar la piel. Los agentes de gelificación pueden ser ciertos agentes de gelificación con base de celulosa, tales como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa (HPC). En algunas formas de realización, el complejo oligopéptido/vehículo está formulado en una composición que tiene 2-4% de HPC. Como alternativa, la viscosidad de una solución que contiene un complejo oligopéptido/vehículo puede alterarse añadiendo polietilenglicol (PEG). En otras formas de realización, la solución de oligopéptido/vehículo se combina con agentes viscosos pre-mezclados, tal como el hidratante Cetaphil®.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir, opcionalmente, agentes de reparto. Como se usa en el presente documento, un "agente de partición" es cualquier sustancia o aditivo que tiene la propiedad de prevenir o minimizar la agregación indeseada o no controlada del oligopéptido con los vehículos de la presente invención. Los agentes de reparto pueden ser útiles cuando, por ejemplo, se debe empelar un oligopéptido concentrado debido a restricciones de volumen. En estos casos, el agente de partición mantiene el oligopéptido disperso, previniendo de este modo la agregación del oligopéptido que, de otro modo, se produciría sin el agente de partición. En general, un agente de partición es (1) no irritante, (2) no destruye el oligopéptido, (3) no confiere ningún incremento de la permeabilidad, (4) da tamaños de partícula fiables y estables, (5) no está cargado y (6) no interfiere con los complejos del oligopéptido y el vehículo transdérmico. Un ejemplo de un agente de partición adecuado es etanol (EtOH). En algunas formas de realización, el EtOH es menos del 20% de la composición y en otras formas de realización menos del 5% de la composición.

El oligopéptido se puede liberar en las estructuras glandulares dentro de la piel con una cantidad eficaz para producir una reducción del rendimiento glandular u otros efectos deseados. La liberación local del oligopéptido de este modo podría dar reducciones de la dosis, reducir la toxicidad y permitir una optimización de la dosis más precisa para los efectos deseados con respecto a las composiciones inyectables o implantables. En el caso de la hiperhidrosis que afecta a la palma de la mano, el oligopéptido se puede aplicar junto con un guante, de modo que se maximiza la absorción del oligopéptido.

Las composiciones de la invención se aplican de modo que se administre una cantidad eficaz del oligopéptido. La expresión "cantidad eficaz", tal como se usa en el presente documento, quiere decir una cantidad de un oligopéptido tal como se ha definido con anterioridad que es suficiente para producir la reducción deseada de la transmisión sináptica, pero que, implícitamente, es una cantidad segura, es decir una que es suficientemente baja para evitar efectos secundarios graves. Los efectos deseados incluyen, entre otros, relajación de músculos, reducción de temblores y una reducción de la cantidad de las secreciones glandulares producidas. Las composiciones de la invención pueden contener una cantidad eficaz adecuada del oligopéptido para su aplicación como tratamiento monodosis o puede ser más concentrado, bien para dilución en el lugar de la administración o bien para usar en múltiples aplicaciones. A través del uso de los vehículos positivamente cargados de la presente invención, el oligopéptido se puede administrar transdérmicamente a un sujeto para tratar afecciones tales como hiperhidrosis o acné. El oligopéptido se administra tópicamente para liberación transdérmica a los músculos o a otras estructuras asociadas a la piel. Como ejemplos no limitantes, la administración puede realizarse en, por ejemplo, las piernas, los hombros, la espalda (incluida la parte inferior), las axilas, las palmas, los pies, el cuello, la ingle, el dorso de las manos o de los pies, los codos, los brazos, las rodillas, los muslos, las nalgas, el torso, la pelvis o cualquier otra parte del cuerpo en la que se desee administrar el oligopéptido.

Las composiciones son administradas por un médico u otro profesional sanitario, o bajo su dirección. Pueden administrarse en forma de un único tratamiento o en una serie de tratamientos periódicos en el tiempo. Para la liberación transdérmica del oligopéptido para los fines mencionados con anterioridad, una composición como se ha descrito anteriormente se aplica tópicamente a la piel en un lugar o lugares en las que se desea el efecto. En las formas de realización en las que se aplica una solución acuosa del oligopéptido directamente en la piel, es preferible cubrir la zona tratada (p. ej., con el hidratante Cetaphil®) o tapar la zona tratada con una barrera (p. ej., Telfa) con el fin de prevenir que la solución se seque, que podría conducir a una disminución de la actividad del oligopéptido. En algunas formas de realización, la cantidad del oligopéptido aplicada deberá aplicarse con precaución, a una tasa de aplicación y frecuencia de aplicación que producirá el resultado deseado sin producir ningún resultado adverso o no deseado. De acuerdo con esto, por ejemplo, las composiciones de la invención se aplicarán a una tasa de

aproximadamente 0,1 a aproximadamente 800 µg, preferentemente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 50 µg de oligopéptido por cm² de superficie de piel. Se podrían emplear dosis mayores dentro de estos intervalos junto con materiales de liberación controlada, por ejemplo, o se puede dejar un tiempo de residencia más corto sobre la piel antes de la eliminación.

5 La preparación adecuada de la superficie de la piel antes de la aplicación de la composición oligopeptídica es importante para mantener la eficacia de la solución. Por ejemplo, la introducción de tensioactivos sobre la superficie de la piel con el fin de limpiar los aceites de la superficie de la piel antes de su aplicación es sorprendentemente contraproducente, dado que los tensioactivos parecen destruir la actividad de la toxina botulínica. Esto se produce
10 incluso si la piel se lava después con agua varias veces antes de la aplicación de la solución oligopeptídica. Incluso los tensioactivos extremadamente suaves, tales como los que se encuentran en los pañales para bebé, parecen producir este fenómeno. De acuerdo con esto, en los procedimientos de administración de las composiciones de la presente invención, la piel se lava previamente usando solo agua. Lavar sólo con agua también parece mejorar moderadamente el transporte transdérmico de la toxina botulínica.

15 Adicionalmente, puede rasparse la piel para reducir la capa del estrato córneo antes de la aplicación del complejo oligopeptídico. En principio, el procedimiento de raspado de la piel conduciría a una potenciación de la eficiencia del transporte transdérmico del oligopéptido. No obstante, el procedimiento usado para raspar la piel es importante. Por ejemplo, la reducción mediada por acetona de la capa de estrato córneo en seres humanos o animales parece
20 reducir la actividad del oligopéptido aplicado después. En contraste con ello, el raspado con esparadrapo (es decir, aplicar esparadrapo sobre la piel y después extraer el esparadrapo) parece permitir una penetración más profunda del oligopéptido y una reducción de la dosis. Se supone que la abrasión de la superficie de la piel (p. ej., mediante el uso de almohadillas abrasivas) produciría un efecto similar al raspado con esparadrapo.

25 La presente invención también comprende dispositivos para la transmisión transdérmica de un oligopéptido que contiene una composición que, a su vez, comprende un vehículo que tiene una estructura cargada positivamente con grupos de ramificación fijados como se ha definido en el presente documento, y un oligopéptido. Dichos dispositivos pueden ser de construcción sencilla como parche cutáneo o puede ser un dispositivo más complicado que incluye medios para dispensar y monitorizar la dispensación de la composición y, opcionalmente, medios para
30 monitorizar el estado del sujeto en uno o más aspectos, incluida la monitorización de la reacción del sujeto a las sustancias que se le están dispensando.

Las composiciones, en general, y en dichos dispositivos, se pueden preformular o preinstalar en el dispositivo como tal, o se pueden preparar más tarde usando, por ejemplo, un kit que contiene los dos ingredientes (oligopéptido y
35 vehículo opcional) para combinar en o antes del tiempo de aplicación. La cantidad de la molécula vehículo o su proporción con el oligopéptido dependerá de qué vehículo se elige para usar en la composición en cuestión. La cantidad adecuada o la proporción de la molécula vehículo en un caso dado se pueden determinar con facilidad realizando, por ejemplo, uno o más experimentos como los descritos más adelante.

40 En general, la invención también comprende un procedimiento para administrar el oligopéptido a un sujeto o paciente que lo necesite, que comprende administrar por vía tópica una cantidad eficaz del oligopéptido opcionalmente junto con un vehículo que comprende una estructura cargada positivamente con los grupos de ramificación cargados positivamente fijados, como se describe en el presente documento. Por "junto con" se quiere decir que los dos componentes (oligopéptido y vehículo) se administran en un procedimiento de combinación, que
45 puede implicar bien combinarlos en una composición, que después se administra al sujeto, o administrarlos por separado, pero de un modo tal que actúan juntos para proporcionar la liberación requerida de una cantidad eficaz de la proteína terapéutica. Por ejemplo, una composición que contiene el vehículo puede aplicarse primero en la piel del sujeto, seguido por la aplicación de un parche cutáneo u otro dispositivo que contenga el oligopéptido. El oligopéptido puede incorporarse en forma seca en un parche cutáneo u otro dispositivo de dispensación, y el
50 vehículo cargado positivamente puede aplicarse a la superficie de la piel antes de la aplicación del parche de modo que los dos actúen juntos, lo que tiene como resultado la liberación transdérmica deseada. Por tanto, en este sentido, las dos sustancias (vehículo y oligopéptido) actúan en combinación, o quizá interaccionan, para formar una composición o combinación in situ. De acuerdo con esto, la invención también comprende un kit que incluye un dispositivo para dispensar el oligopéptido a través de la piel y un líquido, gel, crema o similar que contiene el
55 vehículo o estructura, y que es adecuado para aplicar a la piel o al epitelio de un sujeto. Los kits para administrar las composiciones de las invenciones, bien bajo la dirección de un profesional de la atención sanitaria o por parte del paciente o sujeto, pueden también incluir un aplicador adaptado adecuado para tal fin.

60 Las composiciones, kit y procedimientos de la presente invención permiten la liberación de un oligopéptido más puro con una actividad específica más alta y farmacocinética potencialmente mejorada. Además, el vehículo puede actuar como estabilizante, reduciendo la necesidad de proteínas auxiliares extrañas (p. ej., seroalbúmina humana que varía de 400-600 mg o seroalbúmina recombinante que varía de 250-500 mg) y/o estabilizantes polisacáridos y puede dar reducciones beneficiosas de las respuestas inmunitarias al oligopéptido. Además, las composiciones son adecuadas para usar en ambientes fisiológicos con un pH que varía de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,3, y, por
65 tanto, puede tener tal pH. Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden almacenarse bien a temperatura ambiente o bien en condiciones de refrigeración.

Los siguientes son ejemplos representativos no limitantes de implementaciones de la invención. Demuestran la liberación de un oligopéptido funcional a través de la piel sin requerir modificación covalente del oligopéptido, la capacidad del oligopéptido para reducir la producción de sudor y la capacidad del oligopéptido para reducir la fuerza de las contracciones musculares.

Ejemplo 1. Inhibición del sudor con BOTOX® y el oligopéptido EEMQRR en un modelo de pata trasera de ratón

Procedimientos:

Se prepararon una solución de pilocarpina y anestesia para roedores 24 horas antes del tratamiento de los animales. La solución de pilocarpina se realizó a una concentración de 1 mg/ml en NaCl 0,9% en un tubo de centrifuga de 15 ml. La solución se agitó en vórtex para mezclar bien durante 2 minutos y, después, se esterilizó mediante filtración a través de un dispositivo de filtro desechable PURADISC 25 TF en un vial estéril. La solución de pilocarpina se cubrió después con papel de aluminio. El cóctel anestésico para roedores se preparó combinando 3,75 ml de 100 mg/ml de ketamina, 3,00 ml de xilazina de 20 mg/ml y 23,25 ml de solución salina y agitando bien en vórtex para mezclar.

Se preparó una solución de yodo al 2% en 10% de etanol en un tubo de centrifuga de 50 ml agitando en vórtex para mezclar bien, seguido por sonicación durante 15 minutos y, después, agitando en vórtex de nuevo. Después, el tubo se cubrió con parafilm.

La estructura de lisina-asparagina-arginina (KNR) y la estructura de lisina-asparagina-treonina (KNT) se prepararon como una solución de 1 mg/ml en H₂O desionizada. BOTOX® (toxina botulínica de tipo A, Allergan Inc., Irvine CA) se reconstituyó en 1,0 ml de cloruro sódico al 0,9% a una concentración de 100 unidades/ml. El oligopéptido EEMQRR se preparó en H₂O desionizada a una concentración de 1 mg/ml.

En el estudio había 6 grupos experimentales:

BO: nulo + BOTOX®
 BP: KNR + BOTOX®
 BQ: KNT + BOTOX®
 BR: nulo + Oligopéptido EEMQRR
 BS: KNR + Oligopéptido EEMQRR
 BT: KNT + Oligopéptido EEMQRR

Las soluciones madre para el tratamiento de cada uno de los grupos se prepararon del siguiente modo:

BO: 70 µl de BOTOX® y 70 µl de PBS.
 BP: 70 µl de BOTOX®, 35 µl de estructura KNR y 35 µl de PBS.
 BQ: 70 µl de BOTOX®, 35 µl de estructura KNT y 35 µl de PBS.
 BR: 70 µl de oligopéptido EEMQRR y 70 µl de PBS.
 BS: 70 µl de oligopéptido EEMQRR, 35 µl de estructura KNR y 35 µl de PBS.
 BT: 70 µl de oligopéptido EEMQRR, 35 µl de estructura KNT y 35 µl de PBS.

Grupos 6 patas por grupo, a excepción de BQ y BT, que tienen 5 patas por grupo.

Procedimiento del estudio:

1. Se anestesió los animales con 0,07 ml del cóctel anestésico inyectado por vía intraperitoneal y suplementado con isoflurano según lo necesario.

2. Un total de 20 µl de cada solución de tratamiento se aplicó por vía tópica a la pata trasera asignada. Se usó una punta de pipeta para frotar la solución de tratamiento en las patas traseras y recubrir la parte inferior de las patas traseras completamente. Las patas traseras derechas de los animales recibieron los tratamientos de Botox y las patas traseras izquierdas de los animales recibieron los tratamientos con el oligopéptido EEMQRR.

3. Para secar la solución de tratamiento, los animales se introdujeron bajo una lámpara de calor durante dos minutos y, después, las patas se secaron al aire durante 5 minutos.

4. Se repitieron las etapas 2-3 hasta que toda la solución de tratamiento se hubo aplicado y absorbido en las patas traseras de los animales. Normalmente esto se consiguió con dos aplicaciones de 10 µl.

5. Después de que la solución de tratamiento se hubo secado por completo, se aplicaron aproximadamente 50 µl de crema Cetaphil® en las patas traseras.

6. Las constantes vitales de los animales se monitorizaron hasta que se recuperaron de la anestesia. Después de una semana, se evaluó la producción de sudor mediante el uso de la prueba de yodo-almidón. La prueba de yodo-almidón se llevó a cabo mediante el procedimiento siguiente.

5 1. Se anestesió los animales con 0,07 ml del cóctel anestésico inyectado por vía intraperitoneal suplementado con isoflurano según lo necesario. En caso de que fuera necesaria una dosis de refuerzo, se administraron 0,03 ml del cóctel anestésico.

10 3. Tras 10 minutos, una vez que los animales estaban completamente anestesiados y con constantes vitales estables, ambas patas traseras se pintaron con una solución de yodo al 2% en etanol.

4. Para secar las patas, los animales se introdujeron bajo una lámpara de calor durante dos minutos y, después, las patas se secaron al aire durante 5 minutos.

15 5. Después se fotografiaron las patas recubiertas con yodo.

6. Para inducir la secreción de sudor, se inyectó por vía intraperitoneal a los animales 0,10 ml de 1 mg/ml de pilocarpina HCl en 0,9% de cloruro sódico. Esta inyección se realizó aproximadamente 30 minutos después de la inyección del cóctel anestésico.

20 7. Después, las patas traseras se recubrieron completamente con polvo de almidón que se frotó en la alimentación con dedos con guantes desprovistos de polvo. El exceso de almidón se eliminó con un pequeño pincel. Después, el almidón se aplicó libremente con una almohadilla compacta de velour. Después, esta etapa se repitió dejando un ligero residuo en polvo en las patas traseras. En cada grupo de tratamiento se cambiaron los guantes.

25 8. Se observaron en los ratones la orina y otras secreciones. No dejar que la orina entre en contacto con las patas traseras de los animales. Manténgase los animales sobre una superficie seca.

30 9. Se tomaron fotos de las patas traseras (para registrar las manchas positivas de color azul-negro) a los 10, 20 y 60 minutos de la inyección de pilocarpina.

10. Se monitorizaron las constantes vitales y se esperó la recuperación.

35 Observaciones y resultados: Normalmente, las manchas positivas de color azul-negro se vieron a los 50-60 minutos de la inyección de pilocarpina. La prueba con almidón-yodo mostró que los grupos de tratamiento tenían menos manchas positivas de color azul-negro que el control para ambos tratamientos, como se representa en las fotografías representativas adjuntas. El oligopéptido EEMQRR más un transportador funciona mucho mejor que el oligopéptido EEMQRR solo. El oligopéptido EEMQRR solo es ligeramente mejor que el Botox solo. Por tanto, sorprendentemente, (1) un oligopéptido puede interferir con una afección secretora cuando se aplica por vía tópica, (2) este procedimiento requiere esencialmente un potenciador del transporte transdérmico para efectos terapéuticos, y (3) estos efectos se pueden aproximar a los de la toxina botulínica intacta nativa con un potenciador adecuado del transporte transdérmico en este modelo.

45 **Ejemplo 2: Aplicación tópica del oligopéptido EEMORR para tratar la hiperhidrosis axilar en un paciente humano.**

Procedimientos:

50 Los participantes en el estudio tenían hiperhidrosis subjetiva preexistente en la axila antes de entrar en el estudio. La medición del sudor en la axila mediante el procedimiento gravimétrico superó los 50 mg/5 minutos en ambos brazos. Los sujetos tenían 18 años de edad o más y estaban sanos y no estaban recibiendo ningún tratamiento concurrente con anticolinérgico o aminoglucósido o un bloqueante de los canales de calcio (60 días de periodo de lavado).

55 Medición gravimétrica:

Aclimatación y preparación de la zona para la dosis:

60 El paciente se aclimató durante 15 minutos a temperatura ambiente de 22-25 °C en posición de reposo. El paciente se quitó las camisas dejando las axilas expuestas. Se mapeó el área de dosis que cubrió 1 cm por encima de la piel con pelo en cada axila. El área de dosis se lavó con una almohadilla de gasa estéril prehumidificada a partir de un tubo cónico de 50 ml con 5 golpes largos de arriba abajo en la misma dirección usando un lado de la gasa. Esta etapa de lavado se repitió tres veces más. La axila se secó con un movimiento lento y firme con una gasa estéril seca desde arriba debajo de la axila, después se seca colocando un papel de filtro debajo del pliegue axilar y se dejó el papel de filtro en el punto de la prueba durante 5 minutos. El paciente se sentó con los brazos pegados a sus cuerpos en una posición de reposo. El paciente reposó durante 1 minuto sin tocar la axila antes de la primera

evaluación gravimétrica.

Medición de la producción de sudor (medición gravimétrica):

5 El paciente juntó las manos por detrás de la cabeza para exponer completamente la axila estando reclinado en un ángulo de 45 grados. El papel de filtro previamente pesado se sacó del tubo cónico y se colocó bajo la axila del paciente con la punta de los filtros alineada con el centro de la línea del pliegue de la axila. El paciente relajó sus brazos contra los lados de los cuerpos y se sentó con ambos brazos contra su tronco. Se inició el reloj cuando los papeles de filtro se fijaron de un modo seguro debajo de las axilas. Las dos axilas se midieron simultáneamente. 10 Tras 5 minutos, se retiraron los papeles de filtro de las axilas y se colocaron cada uno en los mismos tubos cónicos respectivos y se enroscaron fuertemente las tapas para prevenir la evaporación del sudor del tubo. La producción de sudor se repitió dos veces más a intervalos de 1 minuto.

Prueba de almidón/yodo:

15 El paciente dejó las manos juntas por detrás de la cabeza para exponer completamente la axila. La solución de yodo se aplicó en el área axilar con una almohadilla de gasa estéril y después se secó completamente. El área cubierta con yodo se recubrió con una capa fina de almidón usando bolas de algodón. El paciente se sentó con ambos brazos pegados al tronco. Después de 5 minutos, el paciente elevó los brazos y juntó las manos por detrás de la cabeza para exponer completamente la axila. Se tomaron fotos de las axilas derecha e izquierda en el momento 20 basal y tras la aplicación de almidón-yodo. Las axilas se limpiaron primero con 70% de EtOH y, después, con agua DI estéril. Formulación y aplicación del tratamiento:

Formulaciones:

25 1^{er} tratamiento:

Brazo izquierdo: 600 µl de KN-T (2 mg/ml en solución salina y 1% de EtOH) se añadieron a 600 µl del oligopéptido EEMQRR (10% en solución salina más 1% de EtOH), se mezclaron mediante inversión; la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadieron 600 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) y se mezclaron 30 completamente. La solución homogénea se transfirió a una jeringuilla de 3 ml.

Brazo derecho: 600 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y 1% de EtOH) se añadieron a 600 µl de solución salina (con 1% de EtOH), se mezclaron mediante inversión; la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadieron 600 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) a la mezcla y se mezclaron completamente. La solución 35 homogénea se transfirió a una jeringuilla de 3 ml.

2^o tratamiento:

40 Brazo izquierdo: 500 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y 5% de EtOH) se añadieron a 500 µl de tetra-asp-oligopéptido EEMQRR (10% en solución salina y 5% de EtOH), se mezclaron mediante inversión; la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadieron 500 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) y se mezclaron completamente. La solución homogénea se transfirió a una jeringuilla de 3 ml. Brazo derecho: 500 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y 5% de EtOH) se añadieron a 500 µl de solución salina (con 5% de EtOH), se mezclaron mediante inversión; la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadieron 500 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) a la mezcla y se mezclaron completamente. La solución homogénea se transfirió a una jeringuilla de 3 45 ml.

Tabla 1. Resumen de la formulación (sólo del brazo izquierdo)

	10% del oligopéptido EEMQRR (solución salina)	Vehículo (1 mg/ml)	HPC (4%)	EtOH
1 ^{er} tratamiento	600 µl de oligopéptido EEMQRR	600 µl de KN-T	600 µl	1%
2 ^o tratamiento	500 µl del oligopéptido tetra-asp EEMQRR	500 µl de KN-T	500 µl	5%

50 Aplicación del fármaco

Llevando guantes estériles, el fármaco se extendió de forma uniforme con una jeringuilla alrededor del punto de la dosis y se masajeó con los dedos durante 1 minuto. El paciente bajó sus brazos a los lados del cuerpo y se incubó durante 1 hora. Al final de la incubación, el punto de la dosis se limpió con gasa estéril.

55

RESULTADOS:

Tabla 2- Resumen del estudio
(Medición gravimétrica (miligramo/5 minutos))

ID	Basal	2 semanas después del tratamiento	1er tratamiento	Aleatorización
Izquierda	371,0 +/- 35,8 (435,0)	35,6 +/- 12,3 (60,0)	Oligo/KN-T/HPC/ 1% EtOH	Oligopéptido EEMQRR
Derecha	291,7 +/- 26,4 (320,5)	20,1 +/- 7,3 (32,4)	Solución salina/KN- T/HPC/1% EtOH	Control
Proporción (Izquierda/derecha)	1,3	1,8		

ID	2º tratamiento Basal	3 semanas/1 semana tras RT	4 semanas/se semanas tras RT	2º tratamiento	Aleatorización
Izquierda-2	35,6 +/- 12,3 (60,0)	53,8 +/- 3,5 (60,0)	54,2 +/- 2,9 (58,7)	Tetra-Asp- oligo/KN- T/HPC/1% EtOH	Oligopéptido EEMQRR
Derecha-2	20,1 +/- 7,3 (32,4)	47,1 +/- 6,5 (54,0)	44,6 +/- 3,1 (50,8)	Solución salina/KN- T/HPC/1% EtOH	Control
Proporción (derecha/izquierda)	1,8	1,1	1,2		

5 **Ejemplo 3: Aplicación tópica del complejo vehículo Revance y D10, SNARE-oligopéptidos de alteración sobre la generación de fuerza muscular en un modelo de ratón.**

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS:

10 D10 (hexapéptido de acetilo modificado, Revance Therapeutics, Mountain View, CA)
Péptidos de polilisina (vehículos): Kn21T

Grupos de prueba

	Vehículo Kn1T	Sin vehículo
10% D10	x	
Control		x

15 Diseño del estudio:

Se usaron ratones CD1 macho (Charles River, Wilmington, MA) con un peso de 27-33 g. Los ratones se estabularon en grupos de 5 y se les dejó acceso a demanda al alimento y al agua antes del tratamiento. Se anestesió a los animales usando 1,5% de isoflurano mezclado con oxígeno y permanecieron anestesiados durante todo el estudio. Cuidadosamente se afeitó el lugar de la dosis de la pata trasera de cada ratón con un cortador recargable inalámbrico Andis Edjer II (Andis, Sturtevant, WI). El lugar de la dosis se preparó con un lavado de acetona o un lavado de agua DI. El lugar de la dosis se secó completamente antes de aplicar el tratamiento. Los ratones normales no tratados, así como los tratados con formulaciones base (sin toxina) aplicadas tópicamente a un volumen equivalente sirvieron como controles. Se midió la fuerza de contracción muscular a las 2-3,5 horas del tratamiento tópico.

Preparación de D10 (hexapéptido de acetilo modificado):

30 1. Se preparó una solución madre de 1,0 mg/ml de Kn21T con 0,9% de NaCl y 5% de EtOH en un tubo de microcentrífuga y se mezcló con vórtex.

2. Se preparó una solución al 10% de D10 en un tubo de microcentrifuga y se mezcló con vórtex.

3. Se tomaron 100 µl del vehículo de la etapa 1 y se añadieron a 100 µl de D10 al 10% de la etapa 2 en un tubo de centrifuga y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos con el tubo en posición vertical para que se formaran los complejos y, después, se invirtió suavemente de nuevo antes de la administración de la dosis.

4. Se retiraron 200 µl de la mezcla de la etapa 3 con una pipeta y se aplicaron a la pata trasera.

Aplicación tópica:

1. Se anestesió al ratón con 1,5% de isoflurano mezclado con oxígeno.

2. Lentamente se aplicó la mezcla vehículo/toxina usando una pipeta para extenderla por la pata trasera del ratón (Afeitada), se extendió por la pata trasera derecha mediante masajes llevando guantes de nitrilo, se incubó durante 30 minutos con el ratón bajo anestesia, después, el animal se dejó recuperar para observar la movilidad del pie (DAS). Se anestesió de nuevo al animal hasta la prueba de generación de fuerza muscular que tuvo lugar de 2 a 3,5 horas después del tratamiento.

a. No se produjo ninguna exposición directa a lámpara térmica de la pata trasera tras la aplicación tópica durante un tiempo de residencia de 30 minutos.

Generación de la fuerza de contracción muscular:

La pata se inmovilizó asegurándola a una tabla de madera usando cables K a través del fémur y de la tibia para impedir el movimiento. Los gemelos se dejaron in situ. Se realizó una sutura con alambre alrededor del extremo distal del tendón de Aquiles. Después, el tendón se transeccionó distalmente a la sutura y la sutura se fijó a un transductor de fuerza (modelo FT03, Grass, West Warwick, RI), que, a su vez, se conectó a un amplificador transductor de la fuerza (modelo 13-G4615-50, Gould, Cleveland, OH). El nervio ciático del lado tratado con D10 se estimuló directamente (estimulador SD9, Grass, West Warwick, RI) con tensión creciente hasta que se obtuvo una fuerza de fasciculación única máxima isométrica. La frecuencia de la estimulación se incrementó después hasta generar la fuerza tetánica máxima. Se generan fasciculaciones mediante la estimulación de una unidad motora y se genera tetania aplicando la suma de todas las unidades motoras mediante estimulación supermáxima. El mismo procedimiento se repitió con las extremidades control. Las respuestas se registraron con una oscilación de registro calibrada (RS 3800, Gould, Cleveland, OH) ligada con el transductor de fuerza. [Ma J, Elsaidi GA, Smith TL, y col. Time course of recovery of juvenile skeletal muscle after botulinum toxin A injection. Am. J. Phys. Med. Rehabil. 2004; 83(10):774-780.]

RESULTADOS:

Los valores normales de generación de fuerza muscular en ratones C57BL/6 tiene una fuerza de fasciculación única media de 60 ± 15 gramos y una fuerza tetánica media de 240 ± 30 gramos en un estudio previo con inyección de toxina botulínica A. En este estudio preclínico piloto se encontró una fuerza media comparable de fasciculación única de 54 ± 2 gramos y fuera tetánica media de 241 ± 20 gramos. Cuando se evaluó la generación de fuerza muscular de D10 tópica con vehículo, se mostró una respuesta pequeña resultante en una disminución de aproximadamente 56% en la fasciculación única y una disminución del 37% en la respuesta tetánica en el animal tratado con la administración de una vez de la "solución Revance D10" tópica con el vehículo frente a los controles sobre los registros. La Tabla 3 muestra el resumen de la generación de fuerza muscular media y porcentaje de disminución para una fasciculación y tetania-

Tabla 3. Resumen de la generación de la fuerza muscular. Se presentan los valores medios y % disminución por grupo de tratamiento por control.

Tratamiento	Vehículo	Generación de fuerza muscular	Resultados medios (g)	% medio de disminución
D10	Kn21T	una fasciculación	20	56%
		tetania	132	37%
Control	N/A	una fasciculación	45*	0%
		tetania	210*	0%
*límite inferior				

CONCLUSIÓN:

Este estudio sirve para demostrar que la aplicación tópica de D10 al 10% por extremidad de ratón puede disminuir con eficacia la generación de fuerza motora y muestra signos de beneficios terapéuticos.

5

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Revance Therapeutics, Inc.

10 <120> Composiciones y procedimientos para aplicación tópica y liberación transdérmica de un oligopéptido

<130> 4649-4015PC

<150> US 60/658.741

15 <151> 03/03/2005

<160> 3

<170> Patentin versión 3.2

20

<210>1

<211>6

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Péptido artificial que imita a la toxina botulínica

<400> 1

30

Glu Glu Met Gln Arg Arg
1 5

<210>2

<211>10

35

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido con cola negativamente cargada

40

<400> 2

Asp Asp Asp Asp Glu Glu Met Gln Arg Arg
1 5 10

<210>3

45

<211>10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50

<223> Péptido con cola negativamente cargada

<400> 3

Glu Glu Met Gln Arg Arg Asp Asp Asp Asp
1 5 10

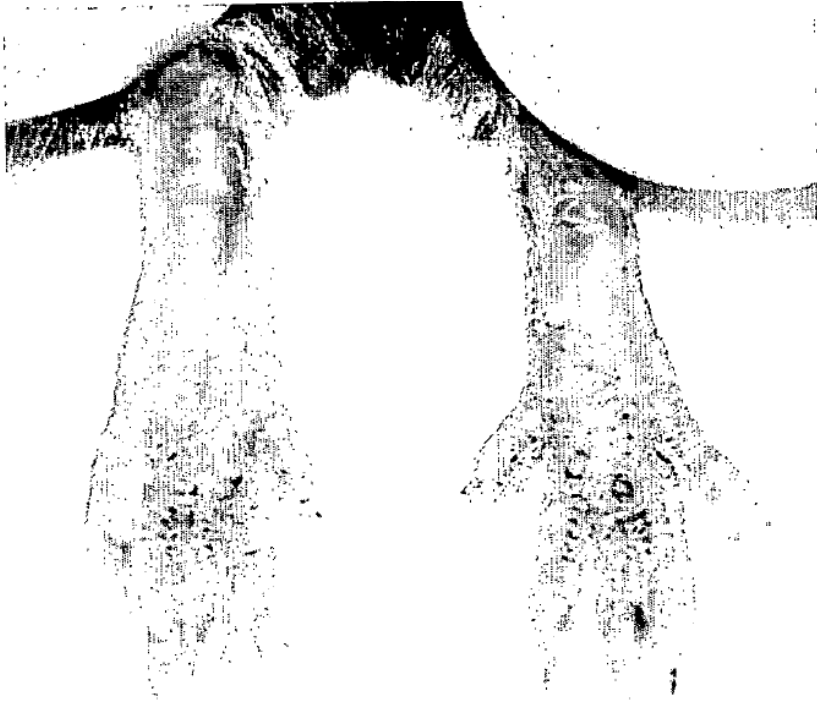
55

REIVINDICACIONES

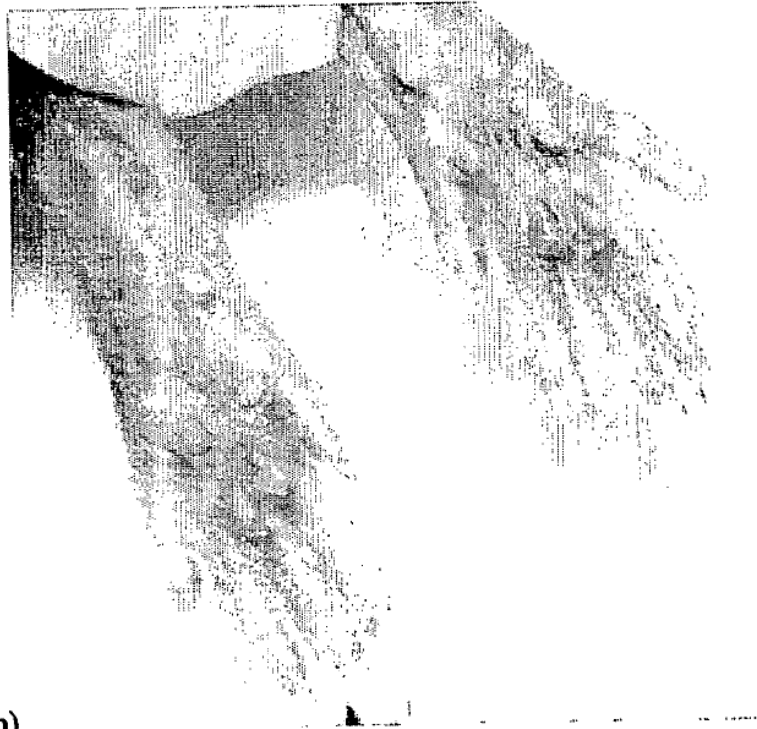
1. Una composición que comprende un oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, en el que dicho oligopéptido comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID N° 1, y un vehículo cargado positivamente que comprende una polilisina cargada positivamente, con grupos de ramificación fijados cargados positivamente seleccionados de forma independiente de $(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD, o mezclas de los mismos, en los que el subíndice $n1$ es un número entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es, de forma independiente, un número impar de 5 a 25, en la que el oligopéptido no está modificado covalentemente por el vehículo cargado positivamente.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la SEC ID N° 1 comprende:
- el extremo en C-terminal del oligopéptido; o
 - el extremo en N-terminal del oligopéptido.
3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 2, en la que dicho extremo en N-terminal y dicho extremo C-terminal del oligopéptido comprende de 3 a aproximadamente 14 aminoácidos neutros.
4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho extremo en N-terminal y dicho extremo C-terminal del oligopéptido comprende 4 moléculas de aspartato.
5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que
- el oligopéptido está derivado; o
 - el oligopéptido se produce de forma recombinante; o
 - la composición es una composición de liberación controlada.
6. Una composición de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el oligopéptido deriva con una molécula seleccionada del grupo compuesto por un grupo acetilo, un grupo palmitoilo.
7. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición es una crema, loción, pomada, gel o líquido.
8. Una composición de vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición comprende además solución salina.
9. Una composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que la composición comprende además un tampón. 10. Una composición de vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los grupos de ramificación cargados positivamente se seleccionan de forma independiente de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$ en la que el subíndice $n1$ es un número entero o de 0 a 20, y el subíndice $n2$ es, de forma independiente, un número entero impar de 5 a 25.
11. Una composición de acuerdo con la reivindicación 10, en la que:
- el subíndice $n1$ es un número entero de 0 a 8; o
 - el subíndice $n1$ es un número entero de 2 a 5; o
 - el subíndice $n2$ es un número entero impar de 7 a 17; o
 - el subíndice $n2$ es un número entero impar de 7 a 13.
12. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los grupos de ramificación cargados positivamente se seleccionan de HIV-TAT y fragmentos de los mismos.
13. Una composición de acuerdo con la reivindicación 12, en la que los grupos de ramificación son fragmentos de HIV-TAT cargados positivamente que tienen la fórmula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$ o $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$, en la que los subíndices p y q son, cada uno de forma independiente, un número entero de 0 a 20.
14. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los grupos de ramificación cargados positivamente comprenden al menos aproximadamente 0,05%, de 0,5 a 45% o de 0,1% a 30% en peso del peso del vehículo total.
15. Una composición de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en la que la polilisina tiene un peso molecular de 10.000 a 1.500.000, de 25.000 a 1.200.000 o de 100.000 a 1.000.000.
16. Un kit para administrar tópicamente a un sujeto una cantidad eficaz de la composición de acuerdo con la reivindicación 1.
17. Un kit de acuerdo con la reivindicación 16, que además comprende:
- un aplicador adaptado; o
 - una composición pre-formulada que comprende el oligopéptido y el vehículo.

18. Un kit de acuerdo con la reivindicación 17 en el que el aplicador adaptado está diseñado para usar por un profesional de atención sanitaria o para la autoadministración por un sujeto.
- 5 19. Un kit de acuerdo con la reivindicación 16, en la que:
- (a) el oligopéptido y el vehículo se formulan por separado para combinar antes de la administración; o
 - (b) el oligopéptido está contenido en un dispositivo para administrar el compuesto a un sujeto a través de la piel.
- 10 20. Un kit de acuerdo con la reivindicación 19, en la que el dispositivo es un parche cutáneo.
- 15 21. Un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 20, en el que los grupos de ramificación cargados positivamente fijados se seleccionan de forma independiente de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT y fragmentos del mismo y el PTD de Antennapedia o mezclas del mismo, en la que el subíndice $n1$ es un número entero o de 0 a 20, y el subíndice $n2$ es, de forma independiente, un número entero impar de 5 a 25.
22. Un kit de acuerdo con la reivindicación 21, en el que el oligopéptido está contenido en un dispositivo para administrar el oligopéptido a un sujeto a través de la piel.
- 20 23. Un kit de acuerdo con la reivindicación 22, en la que el dispositivo es un parche cutáneo.
24. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para usar en un procedimiento de tratamiento mediante terapia.
- 25 25. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para usar en un procedimiento para tratar i reducir los síntomas asociadas con hiperhidrosis, preferentemente hiperhidrosis subjetiva o clínica.
- 30 26. Una composición de acuerdo con la reivindicación 25 para usar en dicho procedimiento, en la que la composición se administra a la axila, la cara, la frente, las palmas de las manos o las plantas de los pies.

Figura 1

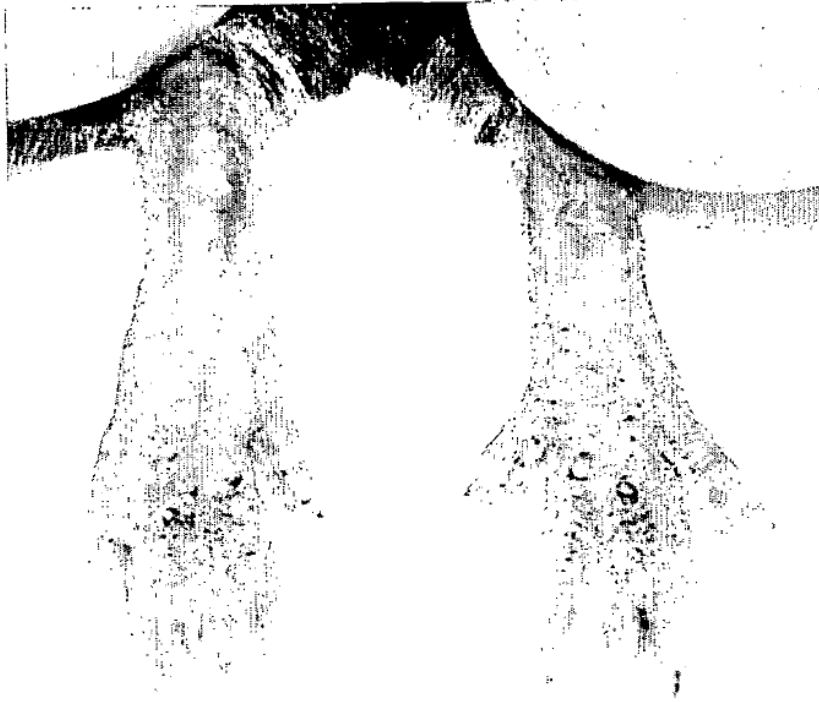


a)



b)

Figura 1 (cont.)



c)



d)