

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 601 827**

51 Int. Cl.:

A61K 38/45 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 31/7052 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61K 8/92 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.01.2010 PCT/IL2010/000011**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.09.2010 WO10097788**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2010 E 10745884 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2400980**

54 Título: **Agentes antagonistas de visfatina para el tratamiento del acné y de otras afecciones**

30 Prioridad:

24.02.2009 US 208386 P
16.11.2009 US 261453 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.02.2017

73 Titular/es:

ARAVA BIO-TECH LTD. (100.0%)
Wingate Institute
42902 Netanya, IL

72 Inventor/es:

TENNENBAUM, TAMAR;
BRAIMAN-WIKSMAN, LIORA y
MANDIL-LEVIN, REVITAL

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 601 827 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

Agentes antagonistas de visfatina para el tratamiento del acné y de otras afecciones

Campo de la descripción

La presente descripción se refiere a composiciones para ser usadas en el tratamiento del acné y de otras afecciones, tales como la piel grasa o seca, asociada a la alteración de la cantidad de sebo de la piel.

Antecedentes

El acné vulgar es una de las afecciones de piel más tratada en los Estados Unidos y en otros países. El acné vulgar se suele denominar simplemente «acné», incluso aunque se conozcan otras muchas formas de acné diferentes y clínicamente diferenciadas. El acné afecta a muchos adolescentes y adultos.

- 10 El primer indicio del acné suele ser la formación de un tapón sebáceo en los poros de los folículos pilosos presentes en la piel de un individuo. Típicamente, los tapones sebáceos son muy pequeños y no resultan visibles a simple vista. Un tapón sebáceo se podría formar cuando una combinación de queratinocitos muertos del estrato córneo superior de la piel y el sebo bloquean la abertura de estos poros cutáneos. A continuación, bacterias tales como *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) son capaces de proliferar entonces en los poros de la piel ocupados por un
- 15 tapón sebáceo. Mientras tanto, el tapón de células y sebo resultante podría adherirse a las paredes del poro de la piel, lo que conduce a la formación de un tapón en el poro incluso más grande y el posterior ensanchamiento del poro. Estos tapones agrandados se llaman comedones (espinillas) y se denominan corrientemente «espinilla negra» (comedón abierto) o «espinilla blanca» (comedón cerrado). Finalmente, este agrandamiento puede conducir a la rotura de las paredes del poro y a una respuesta inflamatoria. Una vez que se ha producido la rotura, el organismo
- 20 intenta reparar la piel y encapsular el sitio de la respuesta inflamatoria mediante la estimulación del crecimiento de las envolturas de las células hacia afuera de la epidermis. Sin embargo, la encapsulación resultante es a menudo incompleta y puede ocasionar, en cambio, la posterior rotura de las lesiones que se han producido. Esto, a su vez, conduce a la formación de conductos multicanalizados así como a pápulas y pústulas inflamadas. Estas pápulas y pústulas inflamadas se denominan corrientemente «granos».
- 25 El acné puede producir cicatrización, lo que se considera poco estético y poco atractivo. Como resultado, los otros efectos del acné son a menudo psicológicos, tal como la baja autoestima. Para complicar el asunto, el acné suele aparecer durante la adolescencia, cuando muchos individuos ya tienden a tener mucha inseguridad desde el punto de vista social. Por lo tanto, se recomienda el tratamiento precoz y agresivo para reducir el impacto físico y psicológico del acné en las personas.
- 30 Hay cuatro estrategias principales para el tratamiento del acné. Estas cuatro estrategias de tratamiento se centran en uno o varios aspectos del acné. Una estrategia es corregir la alteración del patrón de queratinización folicular que se produce durante el acné. Una segunda estrategia es disminuir la actividad de las glándulas sebáceas y la producción de sebo. Una tercera estrategia es disminuir el tamaño de la población bacteriana de los folículos y, en particular, disminuir el número de bacterias de *P. acnes*. Una cuarta estrategia es inhibir la producción, o los efectos,
- 35 de los mediadores inflamatorios extracelulares (tales como las citocinas y las células inflamatorias) para producir un efecto antiinflamatorio. Es importante señalar que la mayoría de estas estrategias de tratamiento resultan poco eficaces o tienen efectos secundarios indeseables.

Se han utilizado varias categorías de composiciones para implantar estas diferentes estrategias contra el acné. Los derivados de isotretinoína y vitamina A representan una de tales categorías de composiciones. La isotretinoína reduce el tamaño de las glándulas sebáceas al hacer disminuir la proliferación de los sebocitos basales, lo que disminuye la producción del sebo hasta un 90% e inhibe la diferenciación de los sebocitos. La isotretinoína está disponible en formas farmacéuticas idóneas para la administración tópica u oral. La administración oral de la isotretinoína ha revolucionado el tratamiento del acné grave. Esto se debe a que la isotretinoína es el primer fármaco capaz de alterar la queratinización folicular, alterar la producción de sebo, disminuir la población de bacterias de los

40 folículos y producir efectos antiinflamatorios. Por desgracia, la isotretinoína se sabe que es teratógena y puede provocar defectos de nacimiento. Una serie adicional de efectos secundarios graves están también asociados al tratamiento con isotretinoína. Estos efectos secundarios incluyen trastornos psiquiátricos, tales como depresión y psicosis, así como hipertensión intracraneal, pancreatitis aguda, aumento de la lipidemia, pérdida auditiva, hepatotoxicidad y enteropatías inflamatorias.

- 50 El peróxido de benzoilo y los compuestos relacionados representan una segunda categoría de composiciones que se utilizan para tratar el acné. El peróxido de benzoilo es uno de los fármacos utilizados con más frecuencia para el tratamiento del acné por vía tópica. El peróxido de benzoilo es un antimicrobiano muy potente, con escasas propiedades antiinflamatorias y pocas propiedades anticomedones. El peróxido de benzoilo para el tratamiento del acné se proporciona en formas farmacéuticas tales como cremas, geles, espumas, jabones o lavados para la
- 55 aplicación tópica. Estas formulaciones contienen típicamente peróxido de benzoilo del 2,5% a 10%. No obstante, hay una serie de efectos secundarios que también están asociados al tratamiento con el peróxido de benzoilo, entre ellos la hipersensibilidad de contacto, tal como ardor, prurito, descamación y tumefacción de la piel.

Los antiandrógenos y los compuestos relacionados representan una tercera categoría de composiciones utilizadas para tratar el acné. Los andrógenos son hormonas sexuales esteroideas, tal como la testosterona, asociadas al desarrollo de las características masculinas. El acetato de inocoteron, la espironolactona, el acetato de ciproterona, la flutamida y los inhibidores de la 5- α reductasa, tales como finasterida, son ejemplos de los antiandrógenos utilizados para tratar el acné. Los estrógenos, hormonas sexuales esteroideas femeninas, son otro ejemplo de un antiandrógeno. Los antiandrógenos se fijan a los receptores de andrógenos del organismo e inhiben su actividad biológica o producen efectos biológicos opuestos a los de los andrógenos (tales como estrógenos). El tratamiento con antiandrógenos inhibe la producción de sebo para ayudar a controlar el acné. Sin embargo, el tratamiento con antiandrógenos por administración oral u otras vías, se limita típicamente a las pacientes mujeres. Esto se debe a que los pacientes varones que reciben antiandrógenos pueden desarrollar características secundarias femeninas, tal como el aumento de las mamas, y podrían sufrir una pérdida de características sexuales secundarias masculinas. Esta pérdida de características sexuales secundarias masculinas incluye la pérdida de masa muscular, la reducción de la actividad de los órganos masculinos y la reducción del deseo sexual. En conjunto, esto significa que hay limitaciones y efectos secundarios importantes asociados al tratamiento del acné a base de antiandrógenos.

Los antibióticos y otros compuestos antimicrobianos representan una cuarta categoría de composiciones utilizadas para tratar el acné. Los ejemplos de antibióticos utilizados para tratar el acné incluyen la clindamicina y la eritromicina, que se pueden administrar por vía oral, o tópica, para reducir la población de bacterias de la superficie de la piel y del interior de los poros. Los antibióticos consiguen disminuir el número de bacterias de *P. acnes* y de otras bacterias para reducir la producción de ácidos grasos que puedan atorar los poros, tales como el ácido propiónico producido por las bacterias de *P. acnes*, en la superficie de la piel. Esto significa que los antibióticos pueden tener tanto un efecto anticomedógeno (tal como la prevención de la formación de «espinillas negras» y «espinillas blancas») y también pueden ayudar a controlar el inicio de la inflamación que se produce por la ruptura de las paredes de los poros y la infección bacteriana localizada asociada a esto. Sin embargo, la principal limitación para el uso de los antibióticos a la hora de tratar el acné es el incremento del número de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, que incluye las cepas de *P. acnes* resistentes a los antibióticos, ahora en circulación.

Tal y como se indicó más arriba, la producción de sebo desempeña una función clave en la patogenia del acné. Se sabe que la producción de sebo favorece la formación de comedones y que el incremento de la producción de sebo es uno de los primeros acontecimientos que pueden contribuir a que se inicie el acné.

El sebo es una mezcla de lípidos relativamente apolares (tales como aceites, ceras o grasas) que se sintetizan principalmente dentro de las glándulas sebáceas. El sebo secretado proporciona un revestimiento hidrófobo para la superficie exterior de la piel que le permite repeler el agua. Así pues, el sebo suele ayudar a lubricar y proteger la piel.

El sebo se secreta desde la glándula sebácea. Las glándulas sebáceas están conectadas con los folículos pilosos de la piel. El número de glándulas sebáceas de la piel permanece aproximadamente constante a lo largo de la vida de un individuo, pero el tamaño de estas glándulas tiende a incrementarse con la edad. Las glándulas sebáceas de los humanos son unos tejidos secretores holocrinos presentes esencialmente en todas las áreas de la piel, excepto la palma de las manos y la planta de los pies.

Las secreciones holocrinas, tales como el sebo, son el resultado de la lisis de las células secretoras en una glándula. Las secreciones holocrinas se producen primero dentro de las células secretoras presentes en una glándula. Estas células secretoras a continuación se rompen para liberar (secretar) el contenido de estas células en la luz, o en el espacio interior, de una glándula.

En las glándulas sebáceas, las células responsables de la secreción del sebo se denominan sebocitos. Los sebocitos de la glándula sebácea se llenan de lípidos y de los otros componentes del sebo. Los sebocitos llenos con estos componentes del sebo acaban por perder su integridad y se rompen. Esto provoca la secreción del sebo desde una glándula sebácea. Los sebocitos llenos de sebo tienen una morfología celular característica con forma de burbuja.

En muchas personas se produce un incremento de la secreción de sebo, que comienza a aproximadamente los 9 años de edad y continúa incrementándose hasta los 17 años de edad, en cuyo momento se alcanza típicamente el nivel adulto de la secreción de sebo. Este período en el que se incrementa la producción de sebo es cuando se producen la mayoría de los casos de acné. Sin embargo, tal y como se explica más arriba, muchas de las estrategias utilizadas para tratar el acné y controlar la producción de sebo tienen efectos secundarios indeseables u otras limitaciones significativas. La producción de sebo también desempeña una función importante en otras afecciones, tales como la seborrea (un incremento anormal de la secreción y descarga de sebo), así como en las afecciones en las que acaba por aparecer una piel seca y agrietada.

La visfatina es una adipocina que secretan los adipocitos maduros. La visfatina también se denomina factor estimulante de colonias de prelinfocitos B (PBEF, por su nombre en inglés), Nampt y nicotinamida fosforribosiltransferasa. En un principio, se describió que la visfatina se secretaba desde la grasa visceral y más tarde se describió que se secretaba desde los adipocitos subcutáneos de la hipodermis. La hipodermis es un tejido que contiene grasa que se localiza por debajo de la piel. La hipodermis también contiene vasos sanguíneos y la

porción basal (inferior) de los folículos pilosos. La visfatina también se expresa en células tales como los neutrófilos y en tejidos tales como el hígado, el corazón y el músculo.

Se cree que la visfatina es una hormona derivada de la grasa visceral, y un grupo japonés ha descrito que imita la actividad biológica de la insulina en las células cultivadas tanto *in vitro* (en vidrio) como *in vivo* (en el organismo vivo), ya que reduce la glucemia de los ratones. Sin embargo, este grupo japonés se retractó más tarde de todo el artículo donde se describían estos resultados en la revista *Science*. La función fisiológica de la visfatina tampoco está clara, ya que la concentración de visfatina en el plasma es de 40 a 100 veces más baja que la de la insulina. También se ha descrito que la visfatina tiene actividad enzimática y puede catalizar la condensación de la nicotinamida con el 5-fosforribosil-1-pirofosfato para producir el mononucleótido de nicotinamida. Es importante señalar que la síntesis del mononucleótido de nicotinamida es una etapa de la biosíntesis de la coenzima dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD+).

Esto significa que se conocen mal la actividad biológica de la visfatina y su función en los procesos fisiológicos, tales como la patogenia del acné y otras afecciones relacionadas con la producción de sebo. Es importante señalar que la visfatina podría desempeñar una función en la patogenia del acné y de otras afecciones, tales como la piel seca o grasa, relacionadas con la producción de sebo.

Así pues, existe una necesidad de mejores composiciones que modulen la actividad de la visfatina para ayudar a tratar el acné y otras afecciones relacionadas con la producción de sebo.

Compendio de la descripción

La presente invención da a conocer un antagonista de la visfatina para uso en el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo seleccionada de acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea, en donde dicho antagonista de la visfatina comprende a) al menos un compuesto seleccionado de FK-866 y AP0866, o b) al menos un siRNA que comprende un ácido nucleico cuya secuencia se selecciona de SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18.

En una realización, la afección por hiperproducción de sebo es acné, tal como el acné vulgar.

La presente invención también da a conocer una composición farmacéutica que comprende un péptido de administración miristoilado en el extremo amino que tiene la secuencia aminoacídica mostrada en la SEQ ID n.º 27 y un antagonista de la visfatina, en donde dicho antagonista de la visfatina comprende a) al menos un compuesto seleccionado de FK-866 y AP0866, o b) al menos un siRNA que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18.

La composición farmacéutica podría además comprender un vehículo acuoso y DMSO.

En una realización, la composición farmacéutica podría comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado de agua, vaselina filante, parafina, aceite mineral, aceite vegetal, aceite animal, ceras orgánicas e inorgánicas, tales como cera microcristalina, de parafina y de ozocerita, polímeros naturales tales como xantanos, malta, talco, gelatina, azúcares, celulosa, colágeno, almidón o goma arábiga, polímeros sintéticos, alcoholes, polioles, soluciones tamponadas con fosfato, manteca de cacao, emulsionantes y detergentes.

En una realización, la composición farmacéutica puede además comprender un vehículo miscible con agua y farmacéuticamente aceptable para la vía tópica. El vehículo miscible con agua se puede seleccionar de liposomas, microesponjas, microesferas, microcápsulas, ungüentos de base acuosa, emulsiones de agua en aceite, emulsiones de aceite en agua y geles.

En una realización, la composición farmacéutica es para ser usada en el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo seleccionada de acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea.

En una realización, la afección por hiperproducción del sebo es acné, tal como acné vulgar.

Breve descripción de las figuras

En la figura 1 se muestra que la expresión de la visfatina se limita a las glándulas sebáceas.

En la figura 2 se muestra que la visfatina se expresa en las células que acumulan sebo en las glándulas sebáceas.

En la figura 3 se muestra que la visfatina incrementa el número de sebocitos con forma de burbuja en las glándulas sebáceas.

En la figura 4 se muestra que el tratamiento por vía tópica con visfatina induce la maduración y la acumulación de lípidos en las glándulas sebáceas.

En la figura 5 se muestra que el tratamiento por vía tópica con un siRNA antagonista de la visfatina suprime la producción de sebo en las glándulas sebáceas.

En la figura 6 se muestra que el tratamiento por vía tópica con un siRNA antagonista de la visfatina suprime la producción de sebo en las glándulas sebáceas.

5 Descripción detallada de la invención

Se apreciará que la siguiente descripción está diseñada para dar a conocer detalles que hacen referencia a los aspectos representativos y específicos de la descripción. Los márgenes identificados en la presente memoria pretenden incluir los valores que definen los límites superior e inferior de un margen citado, todos valores discretos dentro del margen, y cualquier submargen diferenciado dentro del margen.

- 10 La terminología «agente activo sobre la visfatina», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, cualquier molécula que modula de forma positiva o negativa, mediante cualquier mecanismo, la actividad de una proteína de visfatina directa o indirectamente. Ejemplos de tales agentes activos sobre la visfatina incluyen, por ejemplo, tanto moléculas agonistas de la visfatina como de antagonistas de la visfatina, tales como las descritas en la presente memoria.
- 15 La terminología «antagonista de la visfatina», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una molécula que inhibe de forma parcial o total, por cualquier mecanismo, una actividad de una proteína de visfatina. Un antagonista de la visfatina puede ser una molécula que es capaz de antagonizar, reducir o inhibir de forma sustancial, de forma directa o indirecta, la transducción de señales mediada por la visfatina. Un antagonista de la visfatina podría ser también una molécula que es capaz de antagonizar, reducir o inhibir de forma sustancial, de forma directa o indirecta, una actividad enzimática de una proteína de visfatina, tal como catalizar la condensación de la nicotinamida con el 5-fosforribosil-1-pirofosfato para producir el mononucleótido de nicotinamida. Por ejemplo, una antagonista de la visfatina podría, de forma parcial o total, inhibir la actividad de una proteína de visfatina que comprende las secuencias aminoacídicas mostradas en las SEQ ID n.º 2, SEQ ID n.º 4, SEQ ID n.º 6 o SEQ ID n.º 7, u homólogos de estas, producidas por las células.
- 20
- 25 Los antagonistas de la visfatina, tales como los compuestos o las moléculas, útiles en la presente invención pueden comprender, por ejemplo, moléculas orgánicas pequeñas o polinucleótidos.

Es importante señalar que un antagonista de la visfatina puede inhibir la expresión de una proteína de visfatina mediante, por ejemplo, interferencia por ARN.

- 30 Los antagonistas útiles en la presente invención podrían ser moléculas interferentes de ácido nucleico, tales como los ARN interferentes pequeños, que son antagonistas de una actividad de la visfatina.

Los agentes activos sobre la visfatina también se podrían denominar agentes moduladores de la visfatina.

- El término «péptido de administración», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una cadena peptídica que suministra, o incrementa el suministro, de un agente activo a un tejido en un paciente al administrar una composición que contiene el agente activo y el péptido de administración. El suministro de un agente activo a un tejido de un paciente se puede valorar mediante la comparación de la cantidad de un agente activo, o de la magnitud de los efectos biológicos de dicho agente, presentes en un tejido cuando se administra una composición que contiene un agente activo y un péptido de administración a un tejido de un paciente y la cantidad del agente activo, o la magnitud de sus efectos, cuando se administra una composición que contiene el agente activo, pero que no contiene el péptido de administración. Los péptidos de administración podrían ser, por ejemplo, cadenas peptídicas lipófilas y catiónicas. Tales cadenas peptídicas podrían comprender grupos de cadenas laterales que tienen una carga positiva a un pH concreto o que están conjugados a grupos químicos o composiciones (tales como resinas de intercambio de iones) que tienen una carga positiva en determinadas condiciones. Tales cadenas peptídicas podrían también comprender una porción lipófila o un grupo químico, que tiene carácter hidrófobo. Tales porciones lipófilas podrían ser grupos lipídicos covalentemente unidos, tales como grasas, ceras, esteroides, que incluyen ácidos grasos, triglicéridos, colesterolos, vitaminas liposolubles y similares. Un ejemplo de tal cadena peptídica lipófila y catiónica es un péptido miristoilado en el extremo amino que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID n.º 27. Un péptido de administración también podría formar micelas u otras estructuras que dan lugar al suministro, o al incremento del suministro, de un agente activo a un tejido de un paciente. Un péptido de administración también puede ser un vehículo, que puede estar químicamente unido a un agente activo o estar asociado mecánicamente a un agente activo (tal como mediante encapsulación), para suministrar un agente activo a un tejido de un paciente. Tales péptidos de administración que son vehículos podrían comprender señales que los dirigen a orgánulos, moléculas que los hagan entrar por endocitosis y similares.
- 35
- 40
- 45
- 50

- El término «siRNA», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una secuencia de ácido nucleico pequeño interferente que interviene en la escisión del transcrito de un gen deseado. Los RNA pequeños interferentes (siRNA) podrían ser bicatenarios o de tipo horquilla pequeña. Los siRNA bicatenarios podrían comprender dos hebras de ARN hibridadas, antiparalelas e independientes, o hebras de ácido nucleico hibridadas que contienen tanto ARN como ADN (tales como 5'-ttttuuu-3' hibridada con 5'-ttttuuu-3' o 5'-tttt-3' hibridada con 5'-
- 55

uuuu-3'). Típicamente, los siRNA bicatenarios contienen dos hebras de ácido nucleico independientes de 18 a 21 nucleótidos que están hibridadas la una a la otra y tienen de 16 a 19 nucleótidos de ADN localizados en el extremo 5' de cada hebra y dos nucleótidos «tt» de ADN localizados en el extremo 3' de cada hebra. Los siRNA del tipo horquilla pequeña podrían comprender una única hebra de ARN o una cadena híbrida ARN:ADN única capaz de formar una estructura de tallo y bucle, u otra estructura secundaria eficaz como un siRNA. Los expertos en la técnica reconocerán que los siRNA podrían comprender otras modificaciones, tales como análogos de nucleósidos, modificaciones del esqueleto y otras modificaciones que seguirían permitiendo que el ácido nucleico modificado del siRNA intervenga en la escisión de un transcrito del gen deseado.

La terminología «afección por hiperproducción de sebo», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una afección en la que se produce una gran cantidad de sebo en un sujeto, lo que da lugar a una afección patológica o a una afección indeseable. Ejemplos de tales afecciones por hiperproducción de sebo incluyen acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea y afecciones relacionadas. En el caso del acné, tales afecciones relacionadas podrían incluir, por ejemplo, acné vulgar, acné artificial, acné brómico, acné caquético, acné ciliar, acné por cosméticos, acné quístico, acné fulminante, acné generalizado, acné por halógenos, acné hipertrófico, acné yódico, acné medicamentoso, acné neonatal, acné por pomadas, acné punteado, acné pustuloso, acné rosáceo, acné esteroideo, acné clórico, acné trópico, acné varioliforme y acné urticante.

El término «sujeto», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, un animal que pertenece a cualquier género para el cual está indicado el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo, o una disminución de la producción de sebo. Un ejemplo de tal sujeto es un humano, tal como un paciente humano.

El término «administrar» o «suministrar», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, proporcionar una composición a al menos un tejido, tal como la piel, de un sujeto. Tales composiciones se podrían administrar al cuerpo de un sujeto. La administración tópica y la administración intradérmica son formas de la administración corporal.

La terminología «cantidad terapéuticamente eficaz», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, las dosis de una composición que, en un sujeto concreto dado, produce una respuesta que da lugar a una mejora, o tratamiento, de uno o varios síntomas de una afección por hiperproducción de sebo, o una disminución de la producción de sebo, en un sujeto. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición podría ser una dosis de un agente activo, tal como un agente activo sobre la visfatina, que mejora o trata los síntomas de un acné, tal como el acné vulgar. Las cantidades terapéuticamente eficaces, o dosis, adecuadas para un sujeto concreto se pueden determinar con facilidad con las técnicas clínicas convencionales que conocen bien los expertos en la técnica (tales como gráficas de respuesta a la dosis). Tales dosis podrían incluir, por ejemplo, de 1×10^{-12} g a 100 g de un antagonista de la visfatina, por kilogramo de masa corporal de un sujeto.

Un experto en la técnica es capaz de determinar una cantidad eficaz de una composición mediante histología, tinción con hematoxilina y eosina (H + E), tinción con queratina 14 o inmunohistoquímica, o mediante la observación de la formación de abscesos y otra experimentación convencional realizados con facilidad por el experto en la técnica.

Un experto en la técnica también es capaz de confirmar que se ha administrado una cantidad eficaz de una composición a un sujeto con una afección tan solo con observar o medir el cambio en un área afectada por la afección antes del tratamiento y al cabo de un tiempo razonable después del tratamiento. Las composiciones de la descripción pueden comprender cantidades terapéuticamente eficaces de los componentes de estas composiciones.

Una cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo (tal como un agente activo sobre la visfatina), o una composición farmacéutica que lo contiene, se podría administrar a un sujeto que lo necesita. La composición puede ser para la administración por aplicación tópica en una solución, ungüento, gel, crema o cualquier aplicación local (tal como la inyección subcutánea). El agente activo podría estar en forma de una composición farmacéutica y también se podría administrar por medio de un dispositivo de elución del fármaco, tal como una gasa, un parche, una almohadilla empapada o una esponja.

Las composiciones se deben administrar con tanta frecuencia como sea necesario y durante tanto tiempo como sea necesario para tratar una afección por hiperproducción de sebo o para ocasionar una disminución de la producción de sebo en un sujeto, tal y como se indicó antes, para conseguir el punto final deseado, por ejemplo, hasta que la afección, tal como el acné, desaparezca completamente. El experto en la técnica puede determinar con facilidad un ciclo de tratamiento idóneo que utilice las composiciones y tratamientos de acuerdo con esta descripción.

La terminología «armazón para elución de fármacos», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, un material inmóvil capaz de liberar una molécula fisiológicamente activa. Los armazones para elución de fármacos podrían comprender materiales en fase estacionaria que podrían ser insolubles, solubles, no bioabsorbibles o bioabsorbibles.

El término «homólogo», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, secuencias de proteínas que tienen una identidad de secuencia entre el 85% y el 100% con una secuencia de referencia. Por ejemplo, los homólogos de la proteína visfatina de *Homo sapiens* mostrada en la SEQ ID n.º 2 incluirían las proteínas con una

secuencia de aminoácidos que tienen una identidad de secuencia entre el 90% y el 100% con la SEQ ID n.º 2. El porcentaje de identidad entre dos proteínas se puede determinar mediante el alineamiento de dos en dos con los ajustes por defecto del módulo AlignX de Vector NTI v9.0.0 (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA).

5 El término «cadena peptídica», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una molécula que comprende al menos dos restos aminoacídicos unidos por un enlace peptídico para formar una cadena. Las cadenas peptídicas grandes de más de 50 aminoácidos se podrían denominar «polipéptidos» o «proteínas». Las cadenas peptídicas pequeñas de menos de 50 aminoácidos se podrían denominar «péptidos».

10 La terminología «vehículo farmacéuticamente aceptable», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, uno o varios diluyentes de relleno sólidos o líquidos compatibles, o sustancias de encapsulación que son idóneos para la administración a un humano u otro animal.

Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables idóneos incluyen agua, vaselina filante, parafina, aceite mineral, aceite vegetal, aceite animal, ceras orgánicas e inorgánicas, tales como cera microcristalina, de parafina y de ozocerita, polímeros naturales tales como xantanos, malta, talco, gelatina, azúcares, celulosa, colágeno, almidón o goma arábiga, polímeros sintéticos, alcoholes, polioles, soluciones tamponadas con fosfato, manteca de cacao, emulsionantes, detergentes tales como los TWEEN™ y similares. El vehículo puede ser una composición de 15 vehículo miscible con agua que es sustancialmente miscible en el agua, tales como, por ejemplo, los alcoholes. Los vehículos farmacéuticamente aceptables por vía tópica miscibles con agua pueden incluir los hechos con uno o varios ingredientes descritos más arriba, y pueden también incluir vehículos de liberación prolongada o retardada, que incluyen agua que contiene composiciones dispersables en agua o hidrosolubles, tales como liposomas, 20 microesponjas, microesferas o microcápsulas, ungüentos de base acuosa, emulsiones de agua en aceite o de aceite en agua, geles o similares. Los expertos en la técnica reconocerán otros vehículos farmacéuticamente aceptables.

En el vehículo farmacéuticamente aceptable se podrían incluir otros activos y aditivos farmacéuticos compatibles para usos en las composiciones de la descripción. Por ejemplo, fármacos útiles para el tratamiento del acné, tales como antibióticos, isotretinoína, derivados de la vitamina A, peróxidos de benzoilo y antiandrógenos podrían estar 25 incluidos en las composiciones de la descripción. Los anestésicos locales tales como NOVOCAINE™, lidocaína u otros también podrían estar incluidos en el vehículo farmacéuticamente aceptable. Los adyuvantes también se podrían incluir en un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se pueden incluir aditivos tales como el alcohol bencílico y otros conservantes en el vehículo farmacéuticamente aceptable. Los expertos en la técnica reconocerán con facilidad otros activos y aditivos farmacéuticamente aceptables idóneos para la inclusión en las 30 composiciones de la descripción.

La expresión recombinante mediante transformación de una célula hospedadora con ADN recombinante se podría llevar a cabo mediante las técnicas convencionales que son bien conocidas por los expertos en la técnica. La célula hospedadora podría ser una célula procariota, arquea o eucariota. El aislamiento y la purificación de los polipéptidos que se expresan de forma recombinante se pueden realizar mediante técnicas que se conocen bien en la técnica, y 35 que incluyen, por ejemplo, la cromatografía preparativa y la purificación por afinidad mediante el uso de anticuerpos u otras moléculas que se fijan específicamente a un polipéptido dado.

Tales proteínas se pueden sintetizar mediante los métodos utilizados habitualmente, tales como la protección de los grupos α -amino con t-BOC o FMOC. Ambos métodos implican síntesis por etapas mediante las cuales se añade un único aminoácido por etapa empezando desde el extremo carboxilo del péptido (Coligan et al., *Current Protocols in Immunology*, Wiley Interscience, 1991, unidad 9). Los péptidos de la descripción también se pueden sintetizar 40 mediante los métodos de síntesis de péptidos sólidos bien conocidos que se describen en Merrifield (85 *J. Am. Chem. Soc.*, 2149 (1962)) y Stewart y Young, *Solid Phase Peptides Synthesis*, (Freeman, San Francisco, 1969, págs. 27-62) mediante el uso de un copoli(estireno-divinilbenceno) que contiene a 0,1-1,0 mMol de aminas por gramo de polímero. Al finalizar la síntesis química, los péptidos se pueden desproteger y escindir del polímero mediante el tratamiento con HF líquido al 10%-anisol durante aproximadamente 1/4-1 horas a 0 °C. Después de la evaporación de los reactantes, los péptidos se extraen del polímero con una solución de ácido acético al 1% que a continuación se liofiliza para producir el material bruto. Normalmente esto se puede purificar mediante técnicas tales como 45 filtración en gel en Sephadex G-15 con el uso de ácido acético al 5% como solvente. La liofilización de las fracciones adecuadas de la columna producirá el péptido homogéneo o los derivados del péptido, que a continuación se pueden caracterizar mediante técnicas estándares, tales como el análisis de aminoácidos, cromatografía en capa fina, cromatografía líquida de gran resolución, espectroscopia de absorción ultravioleta, rotación molar y métodos basados en la solubilidad. 50

Los péptidos también se pueden sintetizar mediante cualquier método biológico, tal como la expresión recombinante de la proteína en células de mamífero, células de insecto, levadura y bacterias, y sistemas acelulares, tales como los 55 sistemas de transcripción y traducción *in vitro* (~en vidrio). La expresión de la proteína se puede optimizar para cada sistema mediante los métodos bien conocidos. La proteína se puede purificar mediante los métodos estándares (Frederich M. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience, 1989). Por ejemplo, la proteína se puede expresar en las bacterias como una proteína de fusión a GST y se puede purificar mediante perlas de agarosa con glutatión (Sigma) tal y como está descrito (Erangionic y Neel, *Analytical Biochemistry*, 210: 60 179, 1993). Como alternativa, la proteína se puede expresar como un producto de secreción en las células de

mamífero y se puede purificar del medio acondicionado (Cadena y Gill, *Protein Expression and Purification* 4: 177, 1993). Los péptidos preparados por el método de Merrifield se pueden sintetizar con un sintetizador de péptidos automático, tal como el Peptide Synthesizer 431A-01 de Applied Biosystems (Mountain View, California) o con la técnica manual de síntesis de péptidos descrita por Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, EE. UU., 82: 5131 (1985). Los péptidos también se pueden sintetizar mediante síntesis de péptidos en fase líquida, gracias a la modificación covalente, o cualquier otro método conocido por el experto en la técnica.

Los péptidos se pueden sintetizar con aminoácidos o análogos de aminoácidos, cuyos grupos activos estarán protegidos cuando sea necesario mediante el uso de, por ejemplo, un grupo *t*-butildicarbonato (t-BOC) o un grupo carbonilo de fluorenilmetoxi (Fmoc). Los aminoácidos y los análogos de aminoácidos se pueden comprar en el mercado (Sigma Chemical Co., Advanced Chemtec) o se pueden sintetizar con los métodos conocidos en la técnica.

Los aminoácidos de los péptidos descritos en la presente memoria se pueden modificar mediante sustitución aminoacídica de uno o varios de los aminoácidos específicos mostrados en los péptidos de ejemplo. Un cambio de sustitución de aminoácido puede incluir la sustitución de un aminoácido básico por otro aminoácido básico, de un aminoácido hidrófobo por otro aminoácido hidrófobo, u otras sustituciones conservativas. Las sustituciones aminoacídicas también pueden incluir el uso de aminoácidos que no se producen en la naturaleza, tales como, por ejemplo, ornitina (Orn) u homoarginina (homoArg) por Arg

Los péptidos también se pueden modificar mediante la unión covalente de otras moléculas o la reacción de un grupo funcional presente en un péptido. Los ejemplos de tales modificaciones incluyen la unión de moléculas de polietilenglicol, lípido, glúcido u otras moléculas. Un ejemplo específico de tal modificación es la miristoilación, tal como la miristoilación del extremo amino. Las técnicas para la modificación covalente de los péptidos se conocen bien en la técnica y los expertos en la técnica reconocerán una serie de tales técnicas.

El término «estado estándar», tal y como se utiliza en la presente memoria, incluye, sin limitación, una temperatura de 25 °C ± 2 °C y una presión de 1 atmósfera. En el estado estándar se determinan la concentración de las soluciones, suspensiones y otras preparaciones descritas en la presente memoria, y se expresan en función de unidades de volumen (tal como mol/l, M, unidades/ml, µg/ml y similares) o en un porcentaje en peso relativo al peso total de una composición. El término estado estándar no se utiliza en la técnica para referirse a un único conjunto de temperaturas o presiones reconocidos en la técnica, sino que es, en cambio, un estado de referencia que especifica temperaturas y presión a utilizar para describir una solución, suspensión u otra preparación con una composición concreta en las condiciones del estado estándar de referencia. El volumen de una solución podría ser, en parte, una función de la temperatura y de la presión. Los expertos en la técnica reconocerán que las composiciones equivalentes a las descritas aquí se pueden producir a otras temperaturas y presiones.

Las composiciones idóneas para la administración se podrían proporcionar en forma de soluciones, ungüentos, emulsiones, cremas, geles, gránulos, películas y emplastos. Los expertos en la técnica reconocerán otras formas de las composiciones descritas que resultan idóneas para la administración a un sujeto.

En una realización, la composición comprende un agente activo sobre la visfatina y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización de la descripción, la composición comprende además un péptido de administración.

En otra realización de la descripción, la composición es una crema.

Otro aspecto de la descripción es una composición en la que el agente activo sobre la visfatina es un antagonista de la visfatina y el péptido de administración es un péptido miristoilado en el extremo amino que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID n.º 27.

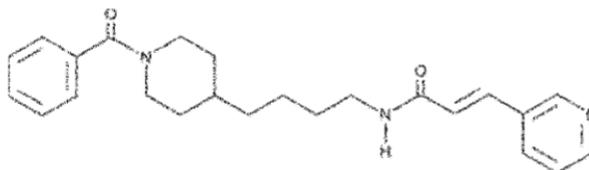
Otra realización de la descripción es una composición en la que el antagonista de la visfatina es al menos un siRNA que actúa selectivamente sobre un ácido nucleico que codifica una proteína que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID n.º 2, SEQ ID n.º 4, SEQ ID n.º 6 y SEQ ID n.º 8.

Es importante señalar que tales siRNA pueden actuar selectivamente sobre un ácido nucleico seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID n.º 1, SEQ ID n.º 3, SEQ ID n.º 5 y SEQ ID n.º 9.

Los siRNA de tipo bicatenario, que incluyen los siRNA de tipo horquilla pequeña, se podrían construir con los siguientes principios. En general, la secuencia destinataria de un siRNA tiene 21 nucleótidos de longitud y debe evitar las regiones a menos de 50-100 pares de bases del codón de inicio y del codón de terminación (parada), debe evitar las regiones intrónicas, debe evitar los tramos de 4 o más bases (tales como 5'-aaaa-3' y 5'-cccc-3' y similares), debe evitar las regiones con un contenido de GC mayor del 30% o menor del 60%, debe evitar las secuencias repetidas, debe evitar las secuencias de baja complejidad, y debe evitar los sitios de polimorfismos mononucleotídicos (SNP, por su nombre en inglés). A continuación, se pueden diseñar los siRNA candidatos que actuarán selectivamente sobre las secuencias que satisfacen estos criterios. Después se debe realizar una búsqueda de homología basada en el algoritmo BLAST, tal como una búsqueda basada en el algoritmo BLASTN, con un siRNA candidato para identificar los candidatos con baja, o inexistente, homología con otros genes o

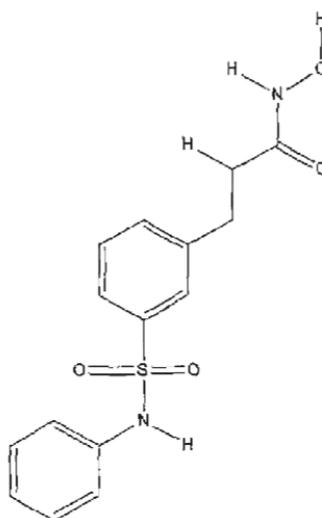
- secuencias. Esto ayuda a evitar los efectos sobre las dianas inespecíficas. Se debe construir una versión de ARN de control negativo de cada siRNA candidato en la cual la secuencia de ácido nucleico del siRNA candidato estará desordenada. El ARN de control negativo debe tener la misma longitud y composición nucleotídica que el siRNA, pero debe tener al menos 4 o 5 bases de discordancia con el siRNA. Se podrían confirmar mediante una búsqueda de homología basada en el algoritmo BLAST que el control negativo UNA no tiene homología con otros genes. El siRNA candidato, tal como un siRNA que es un antagonista de la visfatina, se puede confirmar a continuación que es un siRNA en los ensayos controlados si disminuye el nivel de transcripción del transcrito del gen deseado, bien *in vivo* (~en seres vivos) o *in vitro* (~en vidrio), o la cantidad de una proteína codificada por el gen deseado con respecto al ARN de control negativo.
- 5
- 10 Los siRNA también se pueden construir de acuerdo con el algoritmo de Dharmacon, el algoritmo de Ambion, u otros algoritmos similares, para el diseño de siRNA que son bien conocidos por los expertos en la técnica. Tales algoritmos son fácilmente accesibles a través de internet o en paquetes de programas informáticos disponibles en el mercado. Como alternativa, los siRNA que se han identificado previamente podrían estar o incluirse en las composiciones de la descripción.
- 15 Otra realización de la descripción es una composición que comprende al menos un siRNA seleccionado del grupo que consiste en un primer siRNA, un segundo siRNA, un tercer siRNA y un cuarto siRNA; en donde el primer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 19 y la SEQ ID n.º 20, el segundo siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 21 y la SEQ ID n.º 22, el tercer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 23 y la SEQ ID n.º 24, y el cuarto siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 25 y la SEQ ID n.º 26.
- 20
- Otra realización de la descripción es una composición que comprende al menos un siRNA seleccionado del grupo que consiste en un primer siRNA, un segundo siRNA y un tercer siRNA; en donde el primer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 9 y la SEQ ID n.º 10, el segundo siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 13 y la SEQ ID n.º 14, y el tercer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 17 y la SEQ ID n.º 18.
- 25
- Otra realización de la descripción es una composición que comprende además un vehículo acuoso y DMSO.
- Los ejemplos de tales vehículos acuosos incluyen agua destilada, soluciones tamponadas, tales como PBS, y geles que comprenden agua.
- 30
- Otro aspecto de la descripción es una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina o una composición farmacéutica que contiene un antagonista de la visfatina, para ser usada para el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo en un sujeto con una afección por hiperproducción de sebo; en el que se está tratando la afección por hiperproducción de sebo.
- 35 La afección por hiperproducción de sebo se selecciona del grupo que consiste en acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea.
- Tal y como se describe en la presente memoria, el antagonista de la visfatina podría comprender al menos un siRNA que actúa selectivamente sobre un ácido nucleico que codifica una proteína que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID n.º 2, SEQ ID n.º 4, SEQ ID n.º 6 y SEQ ID n.º 8.
- 40 Otras realizaciones de la descripción son aquellas en las que el siRNA es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un primer siRNA, un segundo siRNA, un tercer siRNA y un cuarto siRNA; en donde el primer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 19 y la SEQ ID n.º 20, el segundo siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 21 y la SEQ ID n.º 22, el tercer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 23 y la SEQ ID n.º 24, y el cuarto siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 25 y la SEQ ID n.º 26.
- 45
- Otras realizaciones de la descripción son aquellas en las que el siRNA es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un primer siRNA, un segundo siRNA y un tercer siRNA; en donde el primer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 9 y la SEQ ID n.º 10, el segundo siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 13 y la SEQ ID n.º 14, y el tercer siRNA es un ácido nucleico bicatenario que comprende las secuencias mostradas en la SEQ ID n.º 17 y la SEQ ID n.º 18.
- 50
- Otras realizaciones de la descripción son aquellas en las que el antagonista de la visfatina comprende al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en FK-866 y AP0866.
- 55 El FK-866 es un antagonista de la visfatina, también conocido como K 22.175 o *N*-[4-(1-benzoil-4-piperidinil)butil]-3-(3-piridinil)-2*E*-propenamida, y es un inhibidor no competitivo muy específico de la visfatina que ocasiona el

agotamiento gradual del NAD^+ . El FK-866 tiene una fórmula molecular de $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$ y un peso de 391,5. El FK-866 se puede comprar a Caymen Chemical, Ann Arbor, MI, EE. UU. La estructura del FK-866 se muestra a continuación, pero las moléculas de FK-866 también pueden comprender derivados de esta estructura.



FK866

- 5 El AP0866 es un antagonista de la visfatina y es un inhibidor de la visfatina. El AP0866 se puede comprar a TopoTarget A/S, Copenhague, Dinamarca. La estructura del AP0866 se muestra a continuación, pero las moléculas de AP0866 también pueden comprender derivados de estas estructuras.



AP0866

- 10 Otro aspecto de la descripción es una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina, o una composición farmacéutica que contiene un antagonista de la visfatina, para ser usada en el tratamiento del acné vulgar de un sujeto.

La administración tópica a la piel se produce cuando una composición se administra a la capa de la dermis de la piel. La administración tópica se realiza típicamente mediante la aplicación de una composición a la superficie de la piel.

- 15 La administración intradérmica se produce cuando una composición se administra por debajo de la superficie de la piel a una capa de la piel, tal como la epidermis. La administración intradérmica se puede realizar, por ejemplo, mediante la inyección de una composición por debajo de la superficie de la piel o mediante la electroelución de una composición por debajo de la superficie de la piel.

- 20 Otro aspecto de la descripción es una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina o una composición farmacéutica que contiene un antagonista de la visfatina, para hacer disminuir la producción de sebo de un sujeto mediante la administración a la piel del sujeto, por medio de lo cual se hace disminuir la producción de sebo del sujeto.

- 25 La posible disminución de la producción de sebo se puede determinar con facilidad al medir una primera cantidad de sebo presente en un área de piel antes de la administración del antagonista de la visfatina al área, la medición de una segunda cantidad de sebo presente en el área de la piel después de la administración de un antagonista de la visfatina al área, y la confirmación de que la segunda cantidad de sebo es más pequeña que la primera cantidad de sebo. Los expertos en la técnica también reconocerán otros métodos para confirmar que ha disminuido la producción de sebo.

Otra realización de la descripción es aquella en la que el antagonista de la visfatina se administra por vía tópica o intradérmica.

- 30 Otro aspecto de la descripción es el uso de un siRNA que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada

del grupo que consiste en SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo, que es acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo o hiperplasia sebácea.

- 5 Otro aspecto de la descripción es el uso del FK-866 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo, que es acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo o hiperplasia sebácea.

Otro aspecto de la descripción es el uso del AP0866 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo, que es acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo o una

- 10 hiperplasia sebácea.

Otro aspecto de la descripción es el uso de un siRNA que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del acné vulgar.

- 15 Otro aspecto de la descripción es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina para ser usada en el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo de un sujeto.

Otro aspecto de la descripción es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina para ser usada en el tratamiento del acné vulgar de un sujeto.

- 20 Otro aspecto de la descripción es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de la visfatina adaptada para hacer disminuir la producción de sebo de un sujeto gracias a la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición del antagonista de la visfatina a la piel del sujeto.

La presente invención se describirá a continuación con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes y

- 25 específicos.

Ejemplos

Métodos experimentales

Preparación de cortes de piel incluidos en parafina: Se realizaron biopsias de la piel en los ratones del estudio. Las muestras de piel de biopsia se fijaron en paraformaldehído al 4%, y a continuación se deshidrataron con

- 30 concentraciones crecientes de etanol (del 50% al 100%). Las muestras de biopsia deshidratadas se sumergieron dos veces en xileno, a continuación, una vez en una solución 1:1 de parafina y xileno, y finalmente tres veces en parafina pura fundida a una temperatura de 60 °C. A continuación, los bloques de parafina se cortaron con un micrótopo y los cortes resultantes se montaron en portaobjetos.

Preparación de cortes de piel congelados: Las biopsias de piel se incluyeron en un compuesto de temperatura de

- 35 corte óptima e inmediatamente se cortaron con un micrótopo criostático y se montaron en portaobjetos.

Tinción con hematoxilina y eosina: Los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel incluidos en parafina se incubaron a 60 °C durante 60 minutos y se desparafinaron con dos lavados de los portaobjetos con tolueno (100%) durante 10 minutos y la posterior rehidratación de los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel en una

- 40 se tiñeron con una solución lista para usar de hematoxilina durante 5 minutos, se enjuagaron con agua, se tiñeron con eosina (0,5% en agua bidestilada) durante 1,5 minutos y se lavaron dos veces por inmersión rápida en etanol al 70%. Después, los portaobjetos se deshidrataron al lavarlos una vez con etanol al 95% durante 5 minutos, dos veces con etanol al 100% durante 5 minutos y dos veces con xileno (100%) durante 10 minutos. A esto le siguió la aplicación de ENTELLAN™ (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y el montaje de los cubreobjetos.

Inmunohistoquímica de la visfatina: Los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel incluidos en parafina se prepararon como se acaba de describir más arriba. Los portaobjetos con los cortes de la biopsia se desparafinaron y se rehidrataron como se acaba de describir más arriba. Se realizó la retirada de antígenos mediante la colocación en

- 50 cortes de la biopsia de piel se enfriaron entonces a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, los portaobjetos con la biopsia de piel se incubaron con la solución de bloqueo (suero de caballo al 10% en DPBS⁻) durante 1 hora y a continuación se incubaron durante una noche a 4 °C con una preparación de anticuerpos policlonales de IgG₁ de conejo específicos contra la visfatina de *Mus musculus* (~ratón doméstico) (Phoenix Pharmaceutical Inc., Burlingame, CA) a una dilución de 1:200 en una solución de DPBS⁻ que contiene suero normal de caballo al 2% y el detergente
- 55 TRITON™ x-100 al 1% durante una noche a 4 °C. Al día siguiente, los portaobjetos con la biopsia de piel se lavaron

tres veces en DPBS⁻ y se incubaron con un conjugado de biotina e IgG₁ de cabra anticonejo (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, EE. UU.) a modo de anticuerpo secundario durante 90 minutos. A continuación se realizó un lavado en DPBS⁻ y los cortes se sometieron a un realce de biotina-avidina con el kit de realce VECTASTATIN™ según las instrucciones del fabricante (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA) y se revelaron con la reacción de DAB. La contratinción se realizó con la tinción de hematoxilina y eosina. Los portaobjetos con la biopsia de piel se deshidrataron por inmersión secuencial en soluciones de etanol a concentraciones crecientes tal y como se describió más arriba, seguido por dos lavados con xileno (100%) durante 10 minutos. A esto le siguió la aplicación de ENTELLAN™ (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y el montaje de los cubreobjetos.

Tinción con Oil Red O: Los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel congelados se fijaron en formol tamponado y neutro al 1% durante 5 minutos, se lavaron en agua desionizada y se incubaron en isopropanol al 60% durante 5 minutos. Los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel se tiñeron con una solución de trabajo filtrada de Oil Red O que se había preparado inmediatamente antes al hacer una mezcla 2:3 de la solución concentrada (Oil Red O al 0,5% en isopropanol al 99%) y agua desionizada. Los portaobjetos con los cortes de la biopsia de piel se transfirieron a isopropanol al 60%, se lavaron en agua desionizada, se contratiñeron con hematoxilina y se secaron al aire, y se montaron con el medio de montaje VECTASHIELD™. A esto le siguió la aplicación del medio de montaje VECTASHIELD™ (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA) y el montaje de los cubreobjetos.

Ejemplo 1

La visfatina se expresa en las glándulas sebáceas de la piel. Véase la figura 1. La expresión de la visfatina en la piel se estudió con un examen histológico. Se prepararon muestras de biopsia de la piel de ratones BalbC (*Mus musculus*) para el examen histológico con el uso del material y los métodos descritos más arriba. La inmunohistoquímica de la visfatina también se realizó como se describe más arriba.

Los cortes de las muestras de biopsia de la piel eran de la piel de ratones BalbC de 2 meses de edad. Las muestras de piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina. Los cortes de piel se tiñeron específicamente para la visfatina (marrón en la figura 1) con un anticuerpo antivisfatina tal y como se describe más arriba. En la figura 1, «FP» significa «folículo piloso», «GS» significa «glándula sebácea», «CP» significa «células periféricas» y «CC» significa «células centrales». En la figura 1 se representan imágenes a 10× o 40× aumentos, tal y como está indicado, y se tomaron con un microscopio Nikon Eclipse 50i.

Tal y como se observa en la figura 1, la visfatina se expresa de forma predominante y específica en las glándulas sebáceas de la piel. En particular, la expresión de la visfatina está localizada de manera bien definida en el área lobulillar de las glándulas sebáceas. Véase la figura 1. La visfatina también se expresa en poca cantidad en los folículos pilosos y la dermis. Véase la figura 1. Tal y como se muestra en la figura 1, la expresión de la visfatina está restringida a las células redondas con forma de burbuja presentes en las glándulas sebáceas. Los rasgos morfológicos de estas células son característicos de los sebocitos y de las células precursoras de sebocitos diferenciadas. Es importante señalar que se trata de células que están llenas con los componentes lipídicos del sebo y que se rompen para secretar el sebo en el interior de las glándulas sebáceas, e indica que la visfatina desempeña una función importante en la producción del sebo.

Ejemplo 2

La visfatina se expresa mucho en las células acumuladoras de sebo presentes en el interior de la glándula sebácea. Véase la figura 2. Las muestras de biopsia de la piel de los ratones BalbC se prepararon para el examen histológico mediante el uso del material y los métodos descritos más arriba. La inmunohistoquímica de la visfatina y la tinción con Oil Red O también se llevó a cabo tal y como se describe más arriba.

Los cortes de las muestras de biopsia de la piel eran de la piel de ratones BalbC de 2 meses de edad. Las muestras de la piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina. Los cortes de piel se tiñeron específicamente para la visfatina (marrón, según se asignó por un patrón en almohadilla en la figura 2) mediante el uso de un anticuerpo antivisfatina según está descrito más arriba. Los cortes de piel también se tiñeron con Oil Red O (rojo, según se asignó por un patrón en almohadilla en la figura 2) para identificar las acumulaciones de lípidos, tales como los lípidos del sebo. En la figura 2 se representan imágenes a 40× aumentos, tal y como está indicado, y se obtuvieron con un microscopio Nikon Eclipse 50i.

Tal y como se observa en la figura 2, la expresión de la visfatina y un gran conjunto de lípidos están claramente colocalizados dentro de las células que tienen rasgos morfológicos característicos de los sebocitos y de las células precursoras de sebocitos diferenciadas. Los resultados mostrados en la figura 2 confirman que la visfatina se expresa mucho en las células acumuladoras de sebo y que está estrechamente asociada a la producción de sebo en el interior de las glándulas sebáceas. Estos resultados también confirman que estas células localizadas en el interior de las glándulas sebáceas, que tienen un aspecto en forma de burbuja y se tiñen positivamente con Oil Red O, son sebocitos acumuladores de lípidos.

Ejemplo 3

La administración tópica y la administración intradérmica de la visfatina incrementan el número de sebocitos localizados dentro de las glándulas sebáceas. Véase la figura 3.

Una preparación concentrada de visfatina recombinante de *Mus musculus* (Enzo Life Sciences Inc., Farmingdale, NY, EE. UU.) se preparó en la solución tamponada con bicarbonato de amonio a 0,1 M. Esta solución concentrada se utilizó a continuación para preparar una solución tópica que comprendía 0,01 µg/ml de visfatina recombinante de *Mus musculus* en PBS. La solución concentrada también se utilizó para preparar una solución intradérmica que comprendía 0,01 µg/ml de visfatina recombinante de *Mus musculus* en PBS que contenía DMSO al 0,1% (v/v). A continuación, los ratones BalbC adultos que tenían una masa corporal media de 25 g recibieron 200 µl de la solución tópica por vía tópica en el área de tratamiento de la piel y el uso de una gasa estéril, o bien recibieron 200 µl de la solución intradérmica por inyección al interior del área de tratamiento de la piel. Los ratones se trataron de esta manera con la solución tópica o con la solución intradérmica administrada una vez al día en el área de tratamiento de la piel durante 4 días. Las muestras de biopsia de la piel de las áreas tratadas de los ratones se prepararon a continuación para el examen histológico con el uso del material y los métodos descritos más arriba. También se realizó la tinción con hematoxilina y eosina (H+E) tal y como se describió más arriba.

Las muestras de piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina. Se contaron a continuación el número de células cuyo aspecto tenía la forma de burbuja característica de los sebocitos y se calculó como un porcentaje del número total de células en cada glándula sebácea mediante examen al microscopio a unos 40x aumentos con un microscopio Nikon Eclipse 50i.

Tal y como se observa en la figura 3, tanto la administración intradérmica como la administración tópica de la visfatina incrementó el número de sebocitos presentes dentro de las glándulas sebáceas de los ratones tratados con respecto a los ratones de control. Se obtuvieron resultados parecidos en los estudios realizados de la misma forma, si no se indica otra cosa, mediante el tratamiento con soluciones tópicas y soluciones intradérmicas que contenían 0,001 µg/ml de visfatina recombinante de *Mus musculus*. Es importante señalar que estos resultados muestran que el tratamiento intradérmico o tópico con composiciones que comprenden la visfatina inducen la acumulación de sebocitos dentro de las glándulas sebáceas. Estos resultados también indican que el tratamiento de la piel con la visfatina puede inducir síntomas, tales como la formación de los tapones sebáceos, asociados al acné.

Ejemplo 4

El tratamiento con la visfatina incrementa la acumulación de los lípidos en las glándulas sebáceas con respecto a los controles. Véase la figura 4. El tratamiento con la visfatina también induce la maduración de las glándulas sebáceas de la piel y la producción de sebo por estas glándulas sebáceas maduras, con respecto a los controles. Véase la figura 4.

Los ratones (*Mus musculus*) BalbC recién nacidos que tenían una masa corporal media de 2 g después de nacer, recibieron a continuación 100 µl de la solución tópica descrita en el ejemplo 3 anterior mediante administración tópica en el área de tratamiento de la piel y el uso de una gasa estéril, o bien recibieron 100 µl de la solución intradérmica descrita en el ejemplo 3 anterior mediante inyección en el área de tratamiento de la piel. Los ratones recién nacidos se trataron de esta manera con 100 µl de la solución tópica o de la solución intradérmica administrada una vez al día al área de tratamiento de la piel durante 4 días.

A continuación, muestras de biopsia de la piel de las áreas tratadas de los ratones recién nacidos se prepararon el día 3 y el día 4 después de nacer para el examen histológico mediante el uso del material y los métodos descritos más arriba. También se llevó a cabo, tal y como se describe más arriba, la tinción con hematoxilina y eosina (H+E) y Oil Red O. Las muestras de biopsia de la piel de la figura 4A y de la figura 4C se prepararon el día 3 después del nacimiento. Las muestras de biopsia de la piel de la figura 4A están teñidas con hematoxilina y Oil Red O. Las flechas negras de la figura 4A y de la figura 4C identifican las glándulas sebáceas que contienen sebo. Las muestras de biopsia de la piel de la figura 4B están teñidas con hematoxilina y eosina. Las flechas rojas de la figura 4B identifican las glándulas sebáceas. Las muestras de piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina.

Se sabe que los ratones recién nacidos no secretan sebo durante los primeros días después de nacer. Sin embargo, varios días después del nacimiento, las glándulas sebáceas acaban de madurar y empiezan a secretar el sebo.

Tal y como se observa en el primer panel de la figura 4A y de la figura 4C, el día 3 después del nacer, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la solución de control no contenían sebo según la tinción con Oil Red O. Así pues, el día 3 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de estos ratones de control recién nacidos son inmaduras e incapaces de producir sebo.

En notable contraposición, el segundo panel de la figura 4A y de la figura 4C muestra que, el día 3 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con visfatina contienen sebo según la tinción con Oil Red O. Así pues, la visfatina consigue inducir la maduración de las glándulas sebáceas e incrementar el día 3 después de nacer la producción de sebo con respecto a los ratones de control.

El primer panel de la figura 4B confirma estos resultados y muestra, basándose en la tinción con H+E, que el día 4 después del nacimiento la mayoría de las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la solución de control carecían de las características de las glándulas sebáceas maduras y no contenían células aplastadas en la periferia de la glándula ni sebocitos con forma de burbuja en el interior de la glándula.

- 5 El segundo panel de la figura 4B también muestra, basándose en la tinción con H+E, que el día 4 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la solución de control tenían las características de las glándulas sebáceas maduras y contenían células aplastadas en el periferia de la glándula, y sebocitos con forma de burbuja en el interior de la glándula madura.

- Es importante señalar que estos resultados muestran que el tratamiento con visfatina induce la maduración de las glándulas sebáceas e incrementa la producción de sebo. Más importante aún, estos resultados indican que incrementar la actividad de la visfatina consigue incrementar la producción de sebo en las condiciones relacionadas con la producción de sebo.

Ejemplo 5

- 15 El tratamiento con un antagonista de la visfatina inhibe la producción de sebo en las glándulas sebáceas. Véanse la figura 5 y la figura 6.

Se prepararon dos ácidos nucleicos pequeños interferentes (siRNA) denominados siRNA1 y siRNA2 que actúan selectivamente sobre los ARN transcritos que corresponden a la secuencia de ADNc que codifica la visfatina de *Mus musculus* mostrada en la SEQ ID n.º 3. El siRNA1 era un ácido nucleico bicatenario que comprendía una doble cadena hibridada de la secuencia 5'-gcacaguaccuauaacggcctt-3' (SEQ ID n.º 11) y de la secuencia 20 5'-agccguuaugguacugugcctt-3' (SEQ ID n.º 12). El siRNA2 era un ácido nucleico bicatenario que comprendía una doble cadena hibridada de la secuencia 5'-ggucuuagauuuuuaggcctt-3' (SEQ ID n.º 15) y la secuencia 5'-gccuaaaauaucuaagacctt-3' (SEQ ID n.º 16). Estos siRNA se compraron a Applied Biosystems Inc. (Ambion), Austin, TX, EE. UU.

- 25 Se prepararon las soluciones tópicas que contenían tanto el siRNA1 como el siRNA2. La concentración final de todos los siRNA combinados en cada solución tópica era de 1 nM o de 3 nM. Es importante señalar que siRNA1 y siRNA2 estaban presentes los dos en cada solución tópica en cantidades equimolares para producir la concentración final de siRNA combinada de 1 nM o 3 nM.

30 Se prepararon dos tipos de soluciones tópicas para la administración de los siRNA. La primera solución comprendía el siRNA1 y el siRNA2 en PBS que contenía DMSO al 0,1% (v/v). Esta primera solución se utilizó para administrar el «siRNA desnudo» de la figura 6A. La segunda solución comprendía el siRNA1 y el siRNA2 en PBS que contenía DMSO al 0,1% (v/v) y 1 µg/ml de un péptido *N*-miristoilado, lipófilo y catiónico que tiene la secuencia aminoacídica FARKGALRQ (SEQ ID n.º 27). Este péptido *N*-miristoilado, lipófilo y catiónico se denominó «MPDY» y se preparó al unir covalentemente el ácido miristoílico al grupo α-amino del resto F aminoterminal de la SEQ ID n.º 27 mediante un enlace amida formado por una reacción catalizada por la *N*-miristoiltransferasa. Esta segunda solución se utilizó 35 para administrar el «siRNA administrado por un sistema de administración» en la figura 6B y para producir los resultados mostrados en la figura 5.

40 Los ratones BalbC recién nacidos se trataron con la segunda solución que contenía los siRNA a 1 nM (figura 6B) o 3 nM (figura 5 y figura 6B). Los ratones (*Mus musculus*) BalbC recién nacidos también se trataron con la primera solución que contenía los siRNA a 1 nM (figura 6A) o 3 nM (figura 6B). Los días 1 a 3 después del nacimiento, la masa corporal media de los ratones BalbC recién nacidos era de 2 g, y se aplicaron una vez al día 100 µl de la primera solución o bien de la segunda solución haciendo uso de una gasa estéril en un área de tratamiento sobre la piel de los ratones. Los días 4 a 6 después del nacimiento, la masa corporal media de los ratones BalbC recién nacidos era de 3 g, y se les aplicaron 200 µl de la solución tópica de los siRNA una vez al día, bien de la primera solución o bien la segunda solución, mediante el uso de una gasa estéril en un área de tratamiento sobre la piel de 45 los ratones. Los ratones recién nacidos también se trataron por vía tópica con una primera solución de control libre de siRNA que contenía la primera solución (figura 6), o bien con una segunda solución de control libre de siRNA que contenía la segunda solución (figura 5 y figura 6) una vez al día en el área de tratamiento de la piel durante los primeros 6 días después del nacimiento. A continuación, se prepararon muestras de biopsia de la piel de las áreas tratadas de los ratones recién nacidos a los días 5 y 6, después de nacer, para el examen histológico con el uso del material y los métodos descritos más arriba. La inmunohistoquímica de la visfatina se realizó tal y como está descrito 50 más arriba. La tinción con hematoxilina y eosina (H+E) y Oil Red O también se realizó tal y como se describió más arriba. Las muestras de la piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina.

55 Las muestras de biopsia de la piel de la figura 5 se prepararon el día 5. Las muestras de biopsia de la piel de la figura 5A están teñidas para resaltar la expresión de la visfatina. Las flechas en la figura 5A y en la figura 5D señalan la tinción específica de la visfatina. Las muestras de biopsia de la piel de la figura 5B y de la figura 5E están teñidas con hematoxilina y Oil Red O. Las flechas de la figura 5B y de la figura 5E señalan las glándulas sebáceas. Las

muestras de biopsia de la piel de la figura 5C y de la figura 5F están teñidas con hematoxilina y eosina. Las flechas de la figura 5C señalan glándulas sebáceas maduras que contienen sebocitos con forma de burbuja.

5 Mediante un examen al microscopio con 40× aumentos en un microscopio Nikon Eclipse 50i también se contó el número de células con el aspecto de forma de burbuja característica de los sebocitos en las muestras de biopsia de la piel preparadas los días 5 y 6, y se calculó como un porcentaje del número total de células en cada glándula sebácea. Véase la figura 6.

10 Tal y como se observa en el primer panel de la figura 5A y de la figura 5D, el día 5 después del nacimiento se detectó una gran cantidad de expresión de visfatina en la piel de ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la segunda solución de control. Además, esta expresión de visfatina parecía estar predominantemente asociada a las glándulas sebáceas.

15 En notable contraposición, el segundo panel de la figura 5A y de la figura 5D muestra una clara inhibición de la expresión de la visfatina en la piel y en las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos el día 5 después del nacimiento tras el tratamiento tópico diario con la segunda solución que contenía los siRNA antagonistas de la visfatina a 3 nM. Así pues, los siRNA1 y siRNA2 antagonistas de la visfatina son capaces de inhibir la expresión de la visfatina en la piel y en las glándulas sebáceas.

20 Tal y como se observa en el primer panel de la figura 5B y de la figura 5E, el día 5 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la solución de control contienen sebo según se deduce de la tinción con Oil Red O. Así pues, el día 5 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de estos ratones de control recién nacidos están maduras y son capaces de producir sebo. Estos resultados también indican que el péptido MPDY por sí solo no inhibió la producción de sebo ni tampoco alteró la piel de forma perceptible.

25 Por el contrario, el segundo panel de la figura 5B y de figura 5E muestra que el día 5 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados cada día por vía tópica con la segunda solución que contenía los siRNA antagonistas de la visfatina a 3 nM contienen sebo según se deduce de la tinción con Oil Red O. Así pues, los siRNA1 y siRNA2 antagonistas de la visfatina inhiben la producción de sebo desde las glándulas sebáceas y son capaces de controlar la cantidad de sebo.

30 El primer panel de la figura 5C y de la figura 5F confirma estos resultados y muestra, basándose en la tinción con H+E, que el día 5 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados por vía tópica con la segunda solución de control tenían las características de las glándulas sebáceas maduras y contenían células aplastadas en la periferia de la glándula y sebocitos con forma de burbuja en el interior de la glándula madura. Estos resultados indican de nuevo que el péptido MPDY por sí solo no inhibió la producción de sebo ni tampoco alteró la piel de forma perceptible.

35 El segundo panel de la figura 5C y de la figura 5F también muestra, basándose en la tinción con H+E, que el día 5 después del nacimiento, las glándulas sebáceas de los ratones recién nacidos tratados cada día por vía tópica con la segunda solución que contiene los siRNA antagonistas de la visfatina a 3 nM carecían de las características de las glándulas sebáceas maduras y no parecían contener sebocitos con forma de burbuja en el interior de la glándula madura.

40 La figura 6A muestra que el tratamiento tópico diario con la primera solución que contiene los siRNA antagonistas de la visfatina a 1 nM o bien a 3 nM disminuyó el número de glándulas sebáceas que contienen sebo en la piel de los animales tratados con el antagonista de la visfatina con respecto a los animales de control tratados con la solución de control. Estos resultados también demuestran que los efectos producidos por los siRNA antagonistas de la visfatina eran dependientes de la dosis.

45 La figura 6B muestra de igual forma que el tratamiento tópico diario con la segunda solución que contenía los siRNA antagonistas de la visfatina a 3 nM disminuyó el número de glándulas sebáceas que contienen sebo en la piel de los animales tratados.

50 Adicionalmente, una comparación de los resultados de la figura 6A y de la figura 6B indica que se produjo una inhibición más prominente del número de glándulas sebáceas que contienen sebo en la piel cuando los siRNA antagonistas de la visfatina se administraron por vía tópica en la segunda solución de PBS que contiene DMSO al 0,1% (v/v) y 1 µg/ml del péptido MPDY lipófilo y catiónico con respecto a la primera solución que carece de este péptido. En conjunto, estos resultados indican que se produce una administración más eficaz de los siRNA antagonistas de la visfatina en las soluciones que contienen este péptido lipófilo y catiónico.

55 Estos resultados demuestran que los antagonistas de la visfatina, tales como los siRNA, consiguen inhibir la expresión de la visfatina y disminuir, o controlar, la producción de sebo desde las glándulas sebáceas de la piel. Estos resultados también indican que la actividad de la visfatina es necesaria para la producción de sebo por las glándulas sebáceas.

Lo más importante es que estos resultados demuestran que el tratamiento con antagonistas de la visfatina se puede

utilizar para controlar la producción de sebo y tratar el acné, así como otras afecciones, tales como la seborrea, asociadas al incremento de la producción de sebo.

Ejemplo 6

5 Las composiciones que comprenden visfatina tratan con eficacia la xerodermia de moderada a intensa. Véase la tabla 1.

10 Se identificaron mujeres con edades comprendidas entre los 20 o más años y que tienen una piel con xerodermia de moderada a intensa y se convirtieron en pacientes voluntarias. Se preparó una formulación en crema denominada «producto problema A» y que contenía visfatina humana recombinante al 1% (p/p) (0,1 µg/ml), agua al 95%, cera de lignito al 0,2% (p/p), cera de abeja al 0,2% (p/p), sorbitol al 0,2% (p/p), manteca de karité al 0,2% (p/p), aceite de borraja al 1% (p/p), aceite de caléndula al 1% (p/p), extracto de *Hamamelis* al 0,2% (p/p) y aceite de ricino al 1% (p/p).

15 Las pacientes voluntarias que participaron en el estudio se lavaron un área con xerodermia de moderada a intensa con un jabón suave, se enjuagaron el área limpiada y se aplicaron por vía tópica el producto problema A a esta área de piel. Se realizó esto dos veces al día (aproximadamente cada doce horas) durante todo el estudio. El estudio duró tres meses. Al terminar los tres meses que duró el estudio, las pacientes voluntarias completaron un cuestionario que contiene las declaraciones de la tabla 1.

Tabla 1

Punto	Declaración	% de pacientes voluntarias que confirman la declaración
1	Tengo una xerodermia de moderada a intensa	100%
2	La afección me resulta molesta y afecta negativamente a mi bienestar	100%
3	Anteriormente he utilizado otros productos que contenían urea y ácido láctico	100%
4	Mi problema de piel continuó a pesar del uso de productos hidratantes	100%
5	El producto problema A era fácil de aplicar	100%
6	La textura y olor del producto problema A eran agradables	80%
7	Después de aplicarme el producto problema A, la piel se me puso más suave	100%
8	Después de aplicarme el producto problema A, la piel se me puso menos escamosa y picaba menos	100%
9	Después de aplicarme el producto problema A, la piel se me puso más grasa	80%
10	Después de aplicarme el producto problema A, la piel se me puso más lustrosa y brillante	100%
11	Por lo general, el producto problema A me trató el problema de xerodermia con eficacia	100%
12	Mi bienestar mejoró después de usar el producto problema A	100%
13	Utilizaré el producto problema A si me <i>continúa el problema</i> de xerodermia	100%

20 En la tabla 1 se indica el porcentaje de pacientes que confirman cada declaración. Tal y como se muestra en la tabla 1, todas las pacientes voluntarias padecían una xerodermia de moderada a grave que era molesta y afectaba negativamente a su bienestar. La tabla 1 también muestra que todas las pacientes voluntarias confirmaban que su piel se puso más suave, menos escamosa y picaba menos, así como más lustrosa y brillante. Lo más importante es que todas las pacientes voluntarias afirmaban que la aplicación por vía tópica de la composición que comprende la visfatina les trató con eficacia el problema de xerodermia, y que mejoró su bienestar después de utilizar la
25 composición. Véase la tabla 1. Estas mejorías de las afecciones xerodérmicas de las pacientes voluntarias se observaron típicamente al cabo de 5 o 6 días de participar en el estudio, pero también se observó incluso antes en algunas pacientes voluntarias (tales como las mujeres más jóvenes, en torno a veinte años).

Descripción detallada de las figuras

Figura 1

En la figura 1 se muestra que la expresión de la visfatina se limita a las glándulas sebáceas.

- 5 Se prepararon cortes histológicos de piel de los ratones BalbC de 2 meses de edad. Las muestras de piel se fijaron en paraformaldehído al 4% y se incluyeron en parafina. Los cortes de piel se tiñeron para la visfatina (marrón) con un anticuerpo antivisfatina. FP (foliculo piloso), GS (glándula sebácea), CP (células periféricas), CC (células centrales). Aumentos: 10× y 40×. Microscopio: Nikon Eclipse 50i.

Figura 2

En la figura 2 se muestra que la visfatina se expresa en las células de la glándula sebácea que acumulan sebo.

- 10 Se prepararon cortes congelados de piel de los ratones BalbC de 2 meses de edad tal y como está descrito en Material y Métodos, se fijaron en paraformaldehído al 4% y se tiñeron para la visfatina (marrón) y con Oil Red O (rojo). Aumentos: 10× y 40×. Microscopio: Nikon Eclipse 50i.

Figura 3

- 15 En la figura 3 se muestra que la visfatina incrementa el número de sebocitos con forma de burbuja en las glándulas sebáceas.

- 20 Los ratones BalbC adultos se trataron por vía intradérmica o tópica con visfatina (0,01 µg/ml) durante 4 días. Al cabo de 4 días, se recogieron los cortes de piel de las áreas tratadas, se fijaron en paraformaldehído al 4%, se incluyeron en parafina y los cortes de piel se tiñeron con H+E. Aumentos: 40×. Microscopio: Nikon Eclipse 50i. La figura 3A muestra microfotografías de muestras de biopsia de la piel. La figura 3B muestra los datos obtenidos por el recuento de los sebocitos con forma de burbuja localizados en el centro de las glándulas sebáceas y el cálculo del porcentaje de tales sebocitos con respecto a las células totales presentes en las glándulas sebáceas con cada uno de los tratamientos.

Figura 4

- 25 En la figura 4 se muestra que el tratamiento por vía tópica con la visfatina induce la maduración y la acumulación de lípidos en las glándulas sebáceas.

- 30 Los ratones BalbC recién nacidos se trataron por vía tópica con visfatina durante 3 días. Se tomaron biopsias de piel en los momentos indicados. Para la figura 4A, se prepararon cortes de piel congelados, se tiñeron con Oil Red O y se contratiñeron con hematoxilina. Las flechas negras señalan las glándulas que contienen el sebo. Para la figura 4B, se prepararon cortes de parafina y se sometieron a la tinción con H+E. Las flechas rojas señalan las glándulas sebáceas. Aumentos: 20×. Microscopio: Nikon Eclipse 50i.

Figura 5

En la figura 5 se muestra que el tratamiento por vía tópica con los siRNA antagonistas de la visfatina suprime la producción de sebo en las glándulas sebáceas.

- 35 Los ratones BalbC recién nacidos se trataron por vía tópica con los siRNA1 y siRNA2 antagonistas de la visfatina a una concentración combinada de siRNA de 3 nM con el péptido MPDY lipófilo y catiónico durante 5 días. Se tomaron biopsias de la piel en los momentos indicados. Se prepararon cortes en parafina y, para la figura 5A, se inmunotiñeron para la visfatina para demostrar la inhibición de la visfatina. Las flechas amarillas señalan la tinción de la visfatina. Para la figura 5B, se prepararon cortes de piel congelados, se tiñeron con Oil Red O y se contratiñeron con hematoxilina. Las flechas negras señalan las glándulas que contienen el sebo. Para la figura 5C, se tiñeron las muestras de biopsia con H+E. Las flechas rojas señalan las glándulas sebáceas maduras.
- 40

Figura 6

La figura 6 muestra que el tratamiento por vía tópica con los siRNA antagonistas de la visfatina suprime la producción del sebo en las glándulas sebáceas.

- 45 Los ratones BalbC recién nacidos se trataron por vía tópica con los siRNA1 y siRNA2 antagonistas de la visfatina a una concentración combinada de siRNA de 1 nM o 3 nM, con el péptido MPDY lipófilo y catiónico (figura 6B) o sin este péptido (figura 6A) durante 5 días. Se tomaron biopsias de la piel en los momentos indicados. Se prepararon cortes congelados y se tiñeron con Oil Red O, tal y como está descrito en Material y Métodos. Se contaron las glándulas que contienen sebo y los resultados se resumen en los gráficos de la figura 6.

Listado de secuencias

<110> HEALOR LTD.

<120> AGENTES TERAPÉUTICOS DE VISFATINA PARA EL TRATAMIENTO DE ACNÉ Y OTRAS AFECCIONES

<130> HO20130PCTEP

5 <140> EP 10 745 884.6-2107
<141> 06.01.2010

<150> 61/208,386
<151> 2009-02-24

10 <150> 61/261,453
<151> 2009-11-19

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1395

15 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 1

```

ccaccaaca caagcaaagt ttattcctac tttgaatgcc gtgaaaagaa gacagaaaac      60
tccaaattaa ggaaggtgaa atatgaggaa acagtat ttt atgggttgca gtacattctt      120
aataagtact taaaaggtaa agtagtaacc aaagagaaaa tccaggaagc caaagatgtc      180
tacaagaac atttccaaga tgatgtcttt aatgaaaagg gatggaacta cattcttgag      240
aagtatgatg ggcatcttcc aatagaaata aaagctgttc ctgagggtctt tgtcattccc      300
agaggaaatg ttctcttcac ggtgaaaac acagatccag agtggtactg gcttacaat      360
tggattgaga ctattcttgt tcagtcctgg tatccaatca cagtggccac aaattctaga      420
gagcagaaga aatattggc caaatatttg ttagaaactt ctggtaactt agatggtctg      480
gaatacaagt tacatgattt tggctacaga ggagtctctt cccaagagac tgctggcata      540
ggagcatctg ctcaacttgg taacttcaaa ggaacagata cagtagcagg acttgctcta      600
attaataaat attatggaac gaaagatcct gttccaggct attctgttcc agcagcagaa      660
cacagtacca taacagcttg ggggaaagac catgaaaaag atgcttttga acatattgta      720
acacagtttt catcagtgcc tgtatctgtg gtcagcgata gctatgacat ttataatgcg      780
tgtgagaaaa tatgggtgga agatctaaga catttaatag tatcaagaag tacacaggca      840
ccactaataa tcagacctga ttctggaac cctcttgaca ctgtgttaaa ggttttggag      900
at ttaggta agaagtttcc tgttactgag aactcaaagg gttacaagtt gctgccacct      960
    
```

ES 2 601 827 T3

tatcttagag ttattcaagg ggatggagta gatattaata ccttacaaga gattgtagaa 1020
 ggcatgaaac aaaaaatgtg gagtattgaa aatattgcct tcggttctgg tggaggtttg 1080
 ctacagaagt tgacaagaga tctcttgaat tgttccttca agtgtagcta tgttgtaact 1140
 aatggccttg ggattaacgt cttcaaggac ccagttgctg atcccaacaa aaggtccaaa 1200
 aagggccgat tatctttaca taggacgcca gcaggaatt ttggttacct ggaggaagga 1260
 aaaggagacc ttgaggaata tggtcaggat cttctccata ctgtcttcaa gaatggcaag 1320
 gtgacaaaaa gctattcatt tgatgaaata agaaaaatg cacagctgaa tattgaactg 1380
 gaagcagcac atcat 1395

<210> 2

<211> 465

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Pro Pro Asn Thr Ser Lys Val Tyr Ser Tyr Phe Glu Cys Arg Glu Lys
 1 5 10 15

Lys Thr Glu Asn Ser Lys Leu Arg Lys Val Lys Tyr Glu Glu Thr Val
 20 25 30

Phe Tyr Gly Leu Gln Tyr Ile Leu Asn Lys Tyr Leu Lys Gly Lys Val
 35 40 45

Val Thr Lys Glu Lys Ile Gln Glu Ala Lys Asp Val Tyr Lys Glu His
 50 55 60

Phe Gln Asp Asp Val Phe Asn Glu Lys Gly Trp Asn Tyr Ile Leu Glu
 65 70 75 80

Lys Tyr Asp Gly His Leu Pro Ile Glu Ile Lys Ala Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Phe Val Ile Pro Arg Gly Asn Val Leu Phe Thr Val Glu Asn Thr Asp
 100 105 110

Pro Glu Cys Tyr Trp Leu Thr Asn Trp Ile Glu Thr Ile Leu Val Gln
 115 120 125

Ser Trp Tyr Pro Ile Thr Val Ala Thr Asn Ser Arg Glu Gln Lys Lys
 130 135 140

Ile Leu Ala Lys Tyr Leu Leu Glu Thr Ser Gly Asn Leu Asp Gly Leu

ES 2 601 827 T3

tatcttagag tcattcaagg agatggcgtg gatatcaata ctttacaaga gattgtagag 1020
 ggaatgaaac aaaagaagtg gagtatcgag aatgtctcct tcggttctgg tggcgctttg 1080
 ctacagaagt taacccgaga cctcttgaat tgctccttca agtgcagcta tgttgtaacc 1140
 aatggccttg gggttaatgt gtttaaggac ccagttgctg atcccaacaa aaggtcaaaa 1200
 aagggccggt tatctttaca taggacacca gcggggaact ttgttacact tgaagaagga 1260
 aaaggagacc ttgaggaata tggccatgat cttctccata cggttttcaa gaatgggaag 1320
 gtgacaaaaa gctactcatt tgatgaagtc agaaaaaatg cacagctgaa catcgagcag 1380
 gacgtggcac ctcat 1395

<210> 4

<211> 465

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Pro Pro Asn Thr Ser Lys Val Tyr Ser Tyr Phe Glu Cys Arg Glu Lys
 1 5 10 15

Lys Thr Glu Asn Ser Lys Val Arg Lys Val Lys Tyr Glu Glu Thr Val
 20 25 30

Phe Tyr Gly Leu Gln Tyr Ile Leu Asn Lys Tyr Leu Lys Gly Lys Val
 35 40 45

Val Thr Lys Glu Lys Ile Gln Glu Ala Lys Glu Val Tyr Arg Glu His
 50 55 60

Phe Gln Asp Asp Val Phe Asn Glu Arg Gly Trp Asn Tyr Ile Leu Glu
 65 70 75 80

Lys Tyr Asp Gly His Leu Pro Ile Glu Val Lys Ala Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Ser Val Ile Pro Arg Gly Asn Val Leu Phe Thr Val Glu Asn Thr Asp
 100 105 110

Pro Glu Cys Tyr Trp Leu Thr Asn Trp Ile Glu Thr Ile Leu Val Gln
 115 120 125

Ser Trp Tyr Pro Ile Thr Val Ala Thr Asn Ser Arg Glu Gln Lys Lys
 130 135 140

ES 2 601 827 T3

Ile Leu Ala Lys Tyr Leu Leu Glu Thr Ser Gly Asn Leu Asp Gly Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Lys Leu His Asp Phe Gly Tyr Arg Gly Val Ser Ser Gln Glu
165 170 175

Thr Ala Gly Ile Gly Ala Ser Ala His Leu Val Asn Phe Lys Gly Thr
180 185 190

Asp Thr Val Ala Gly Ile Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Tyr Gly Thr Lys
195 200 205

Asp Pro Val Pro Gly Tyr Ser Val Pro Ala Ala Glu His Ser Thr Ile
210 215 220

Thr Ala Trp Gly Lys Asp His Glu Lys Asp Ala Phe Glu His Ile Val
225 230 235 240

Thr Gln Phe Ser Ser Val Pro Val Ser Val Val Ser Asp Ser Tyr Asp
245 250 255

Ile Tyr Asn Ala Cys Glu Lys Ile Trp Gly Glu Asp Leu Arg His Leu
260 265 270

Ile Val Ser Arg Ser Thr Glu Ala Pro Leu Ile Ile Arg Pro Asp Ser
275 280 285

Gly Asn Pro Leu Asp Thr Val Leu Lys Val Leu Asp Ile Leu Gly Lys
290 295 300

Lys Phe Pro Val Thr Glu Asn Ser Lys Gly Tyr Lys Leu Leu Pro Pro
305 310 315 320

Tyr Leu Arg Val Ile Gln Gly Asp Gly Val Asp Ile Asn Thr Leu Gln
325 330 335

Glu Ile Val Glu Gly Met Lys Gln Lys Lys Trp Ser Ile Glu Asn Val
340 345 350

Ser Phe Gly Ser Gly Gly Ala Leu Leu Gln Lys Leu Thr Arg Asp Leu
355 360 365

Leu Asn Cys Ser Phe Lys Cys Ser Tyr Val Val Thr Asn Gly Leu Gly
370 375 380

ES 2 601 827 T3

Val Asn Val Phe Lys Asp Pro Val Ala Asp Pro Asn Lys Arg Ser Lys
385 390 395 400

Lys Gly Arg Leu Ser Leu His Arg Thr Pro Ala Gly Asn Phe Val Thr
405 410 415

Leu Glu Glu Gly Lys Gly Asp Leu Glu Glu Tyr Gly His Asp Leu Leu
420 425 430

His Thr Val Phe Lys Asn Gly Lys Val Thr Lys Ser Tyr Ser Phe Asp
435 440 445

Glu Val Arg Lys Asn Ala Gln Leu Asn Ile Glu Gln Asp Val Ala Pro
450 455 460

His
465

<210> 5

<211> 1395

<212> DNA

5 <213> Canis familiaris

<400> 5

```

ccaccaata caagtaaagt ttattcctac tttgaatgcc gtgaaaagaa gacagaaaac      60
tccaaaataa agaaggtgaa atacgaggaa acagtatfff atggggtgca gtacattcft      120
aataagtact taaaaggtaa agtagtgacc gcagagaaga tccaggaagc caaagaggtg      180
tatagagagc atttccagga tgatgtctft aatgaaaagg gatggaacta cattcttgag      240
aaatatgatg ggcaccttcc aatagaaata aaagctgttc ctgagggcta tgtcattccc      300
cgaggaaatg ttctcttcac tgtggaaaac acagatccag agtggtactg gcttacaat      360
tggattgaga ctattcttgt tcagtcctgg tatccaatca cagtagccac aaattctaga      420
gagcaaaaaga aaatattggc caaatatttg ttggagacat ctggtaatft ggatggcctg      480
gaatacaagt tacatgatft tggctacaga ggagtttctt cccaagagac tgctggcatc      540
ggagcgtctg ctcatftggt taacttcaaa ggaacagata cagtagcagg aattgctftft      600
gttaaaaaat actatggaac gaaagatcct gttccaggct attctgttcc agcagcagaa      660
cacagtacca taacagcctg ggggaaagac cgtgaaaag acgctftftga acatatagta      720
acacagftft catcagtgcc tgtatctgtg gtcagcgata gctatgacat ttacaacgcg      780
tgtgaaaaaa tatggggaga agatctaaga catttaatat tgtcaagaac tacagaggca      840
ccactaataa tcagacctga ttctggaat cctctggaca ctgtattaaa ggftftggat      900
    
```

ES 2 601 827 T3

attttgggta agaagttccc tattactgag aactcaaagg gctacaagtt gctgccacct 960
 tatcttagag ttattcaagg ggatggagta gatattaata ccttacaaga gattgtagaa 1020
 ggcatgaagc aaaaaaaaaatg gagtattgaa aatattgcct ttggttctgg tggagctttg 1080
 ctacagaagt taacaagaga tctcttgaat tgttccttca agtgtagtta tgttgtaacc 1140
 aatggccttg ggattaatgt cttcaaggac ccagtcgctg atcccaacaa aagatccaaa 1200
 aagggtcgat tatctttaca taggacacca gcaggaatt ttggttacct tgaagaagga 1260
 aaaggagacc ttgaggaata tggatcatgat cttctccata ccgtcttcaa gaatgggaag 1320
 gtgacaaaaa gctattcatt tgatgaata agaaaaatg caaagctgaa tatcgaactg 1380
 gaagtagcac ctcat 1395

<210> 6

<211> 465

5 <212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 6

Pro Pro Asn Thr Ser Lys Val Tyr Ser Tyr Phe Glu Cys Arg Glu Lys
1 5 10 15

Lys Thr Glu Asn Ser Lys Ile Lys Lys Val Lys Tyr Glu Glu Thr Val
20 25 30

Phe Tyr Gly Leu Gln Tyr Ile Leu Asn Lys Tyr Leu Lys Gly Lys Val
35 40 45

Val Thr Ala Glu Lys Ile Gln Glu Ala Lys Glu Val Tyr Arg Glu His
50 55 60

Phe Gln Asp Asp Val Phe Asn Glu Lys Gly Trp Asn Tyr Ile Leu Glu
65 70 75 80

Lys Tyr Asp Gly His Leu Pro Ile Glu Ile Lys Ala Val Pro Glu Gly
85 90 95

Tyr Val Ile Pro Arg Gly Asn Val Leu Phe Thr Val Glu Asn Thr Asp
100 105 110

Pro Glu Cys Tyr Trp Leu Thr Asn Trp Ile Glu Thr Ile Leu Val Gln
115 120 125

Ser Trp Tyr Pro Ile Thr Val Ala Thr Asn Ser Arg Glu Gln Lys Lys
130 135 140

ES 2 601 827 T3

Ile Leu Ala Lys Tyr Leu Leu Glu Thr Ser Gly Asn Leu Asp Gly Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Lys Leu His Asp Phe Gly Tyr Arg Gly Val Ser Ser Gln Glu
165 170 175

Thr Ala Gly Ile Gly Ala Ser Ala His Leu Val Asn Phe Lys Gly Thr
180 185 190

Asp Thr Val Ala Gly Ile Ala Phe Val Lys Lys Tyr Tyr Gly Thr Lys
195 200 205

Asp Pro Val Pro Gly Tyr Ser Val Pro Ala Ala Glu His Ser Thr Ile
210 215 220

Thr Ala Trp Gly Lys Asp Arg Glu Lys Asp Ala Phe Glu His Ile Val
225 230 235 240

Thr Gln Phe Ser Ser Val Pro Val Ser Val Val Ser Asp Ser Tyr Asp
245 250 255

Ile Tyr Asn Ala Cys Glu Lys Ile Trp Gly Glu Asp Leu Arg His Leu
260 265 270

Ile Leu Ser Arg Thr Thr Glu Ala Pro Leu Ile Ile Arg Pro Asp Ser
275 280 285

Gly Asn Pro Leu Asp Thr Val Leu Lys Val Leu Asp Ile Leu Gly Lys
290 295 300

Lys Phe Pro Ile Thr Glu Asn Ser Lys Gly Tyr Lys Leu Leu Pro Pro
305 310 315 320

Tyr Leu Arg Val Ile Gln Gly Asp Gly Val Asp Ile Asn Thr Leu Gln
325 330 335

Glu Ile Val Glu Gly Met Lys Gln Lys Lys Trp Ser Ile Glu Asn Ile
340 345 350

Ala Phe Gly Ser Gly Gly Ala Leu Leu Gln Lys Leu Thr Arg Asp Leu
355 360 365

Leu Asn Cys Ser Phe Lys Cys Ser Tyr Val Val Thr Asn Gly Leu Gly
370 375 380

ES 2 601 827 T3

Ile Asn Val Phe Lys Asp Pro Val Ala Asp Pro Asn Lys Arg Ser Lys
385 390 395 400

Lys Gly Arg Leu Ser Leu His Arg Thr Pro Ala Gly Asn Phe Val Thr
405 410 415

Leu Glu Glu Gly Lys Gly Asp Leu Glu Glu Tyr Gly His Asp Leu Leu
420 425 430

His Thr Val Phe Lys Asn Gly Lys Val Thr Lys Ser Tyr Ser Phe Asp
435 440 445

Glu Ile Arg Lys Asn Ala Lys Leu Asn Ile Glu Leu Glu Val Ala Pro
450 455 460

His
465

<210> 7

<211> 1395

<212> DNA

5 <213> Equus caballus

<400> 7

```

ccaccaaca caagcaaagt ttattcctac tttgaatgcc gtgaaaagaa gacagaaaat      60
tccaaaataa ggaaggtgaa atacgaggaa acggtatfff atggggtgca gtacattcft      120
aataagtact taaaaggtaa agtagtgacc agagagaaga tccaggaggc caaagagggt      180
tacagagagc atttccaaga tgacgtcttc aacgagaagg gctggaacta cattcttgag      240
aaatatgatg ggcattctcc aatagaagta aaagctgttc ctgagggtctc tgtggttccc      300
agaggaaatg tgctcttcac agtggaaac acagatccag agtgtttctg gcttacaat      360
tggattgaga ctattcttgt tcaatcctgg tatccaatca cagtggccac aaattctaga      420
gagcagaaga aaatattggc caaatatttg ttagaaacat ctggtaactt agatcgtctg      480
gaatacaagt tacatgattt tggctaccga ggagtctcct cccaagagac tgctggcata      540
ggagcgtccg ctcatfnggt taacttcaaa ggaacagata cagtagcagg aattgcttta      600
attaaaaaat actatggaac gaaagatcct gttccaggct attctgttcc agcagcagaa      660
cacagtacca taacagcttg ggggaaagaa catgaaaag atgcttttga acatatagta      720
acacagtttt catcagtgcc tgtatctgtg gtcagcgata gctatgacat ttataatgcy      780
tgtgagaaaa tatggggtga agacctaaga catttaatag tatcaagaag tacagaggca      840
ccactaataa tcagacctga ttctggaaat cctcttgaca ctgtattaa ggttttggat      900

```

ES 2 601 827 T3

atatttaggta agaagttccc cgtcactgag aactcaaagg gctacaagtt gctgcctcct 960
 tatcttagag ttattcaagg ggatggagta gatattaaca cttacaaga gattgtagaa 1020
 ggcatgaagc aaaaaaaaaatg gagtattgaa aatatttcct tcggttctgg tggagctttg 1080
 ctacagaaat taacaagaga tctcttgaat tgttccttca agtgtagtta tgttgtaacc 1140
 aatggctcttg ggattaatgt ctttaaggac ccagttgctg atcccaacaa aaggtccaaa 1200
 aaaggccgat tatctttaca taggacacca gcaggaatt ttgttacct tgaggaagga 1260
 aaaggagacc ttgaggaata tgggcatgat cttctccata ctgtcttcaa gaatgggaag 1320
 gtgacaaaaa gctattcatt tgatgaagtg agaaaaaatg caaagctgaa tatcgaactg 1380
 gaagcagcac cccat 1395

<210> 8

<211> 465

5 <212> PRT

<213> Equus caballus

<400> 8

Pro Pro Asn Thr Ser Lys Val Tyr Ser Tyr Phe Glu Cys Arg Glu Lys
 1 5 10 15

Lys Thr Glu Asn Ser Lys Ile Arg Lys Val Lys Tyr Glu Glu Thr Val
 20 25 30

Phe Tyr Gly Leu Gln Tyr Ile Leu Asn Lys Tyr Leu Lys Gly Lys Val
 35 40 45

Val Thr Arg Glu Lys Ile Gln Glu Ala Lys Glu Val Tyr Arg Glu His
 50 55 60

Phe Gln Asp Asp Val Phe Asn Glu Lys Gly Trp Asn Tyr Ile Leu Glu
 65 70 75 80

Lys Tyr Asp Gly His Leu Pro Ile Glu Val Lys Ala Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Ser Val Val Pro Arg Gly Asn Val Leu Phe Thr Val Glu Asn Thr Asp
 100 105 110

Pro Glu Cys Phe Trp Leu Thr Asn Trp Ile Glu Thr Ile Leu Val Gln
 115 120 125

Ser Trp Tyr Pro Ile Thr Val Ala Thr Asn Ser Arg Glu Gln Lys Lys
 130 135 140

ES 2 601 827 T3

Ile Leu Ala Lys Tyr Leu Leu Glu Thr Ser Gly Asn Leu Asp Arg Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Lys Leu His Asp Phe Gly Tyr Arg Gly Val Ser Ser Gln Glu
165 170 175

Thr Ala Gly Ile Gly Ala Ser Ala His Leu Val Asn Phe Lys Gly Thr
180 185 190

Asp Thr Val Ala Gly Ile Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Tyr Gly Thr Lys
195 200 205

Asp Pro Val Pro Gly Tyr Ser Val Pro Ala Ala Glu His Ser Thr Ile
210 215 220

Thr Ala Trp Gly Lys Glu His Glu Lys Asp Ala Phe Glu His Ile Val
225 230 235 240

Thr Gln Phe Ser Ser Val Pro Val Ser Val Val Ser Asp Ser Tyr Asp
245 250 255

Ile Tyr Asn Ala Cys Glu Lys Ile Trp Gly Glu Asp Leu Arg His Leu
260 265 270

Ile Val Ser Arg Ser Thr Glu Ala Pro Leu Ile Ile Arg Pro Asp Ser
275 280 285

Gly Asn Pro Leu Asp Thr Val Leu Lys Val Leu Asp Ile Leu Gly Lys
290 295 300

Lys Phe Pro Val Thr Glu Asn Ser Lys Gly Tyr Lys Leu Leu Pro Pro
305 310 315 320

Tyr Leu Arg Val Ile Gln Gly Asp Gly Val Asp Ile Asn Thr Leu Gln
325 330 335

Glu Ile Val Glu Gly Met Lys Gln Lys Lys Trp Ser Ile Glu Asn Ile
340 345 350

Ser Phe Gly Ser Gly Gly Ala Leu Leu Gln Lys Leu Thr Arg Asp Leu
355 360 365

Leu Asn Cys Ser Phe Lys Cys Ser Tyr Val Val Thr Asn Gly Leu Gly
370 375 380

ES 2 601 827 T3

Ile Asn Val Phe Lys Asp Pro Val Ala Asp Pro Asn Lys Arg Ser Lys
385 390 395 400

Lys Gly Arg Leu Ser Leu His Arg Thr Pro Ala Gly Asn Phe Val Thr
405 410 415

Leu Glu Glu Gly Lys Gly Asp Leu Glu Glu Tyr Gly His Asp Leu Leu
420 425 430

His Thr Val Phe Lys Asn Gly Lys Val Thr Lys Ser Tyr Ser Phe Asp
435 440 445

Glu Val Arg Lys Asn Ala Lys Leu Asn Ile Glu Leu Glu Ala Ala Pro
450 455 460

His
465

<210> 9

<211> 19

<212> RNA

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

<400> 9

10 gcacaguacc auaacggcu 19

<210> 10

<211> 19

<212> RNA

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

<400> 10

agccguuaug guacugugc 19

20 <210> 11

<211> 21

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Combined DNA/RNA Molecule: Oligonucleótido sintético"

30 <400> 11

gcacaguacc auaacggcut t 21

<210> 12

<211> 21

<212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <221> fuente
 5 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Molécula combinada de DNA/RNA: Oligonucleótido sintético"

 <400> 12
 10 agccguuaug guacugugct t 21

 <210> 13
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial

 15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

 <400> 13
 ggucuuagau auuuuaggc 19

 20 <210> 14
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 25 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

 <400> 14
 gccuaaaaua ucuaagacc 19

 <210> 15
 30 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <221> fuente
 35 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Molécula combinada de DNA/RNA: Oligonucleótido sintético"

 <400> 15
 40 ggucuuagau auuuuaggct t 21

 <210> 16
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

 <220>
 <221> fuente
 50 <223> /nota="Descripción de Molécula combinada de DNA/RNA: Oligonucleótido sintético"

 <400> 16
 gccuaaaaua ucuaagacct t 21

- <210> 17
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial
- 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 17
 ggcaccacua aucaucaga 19
- 10 <210> 18
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 15 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 18
 ucugaugauu aguggugcc 19
- 20 <210> 19
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <221> fuente
 25 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 19
 ccaccaaca caagcaaagu uuauu 25
- <210> 20
 <211> 25
 30 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- 35 <400> 20
 aaaaaacuuu gcuuguguug ggugg 25
- <210> 21
 <211> 19
 <212> RNA
 40 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 21
 45 ggaaggugaa auaugagga 19
- <210> 22
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Secuencia Artificial
- 50 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"

- <400> 22
uccucauauu ucaccuucc 19
- <210> 23
<211> 19
5 <212> RNA
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- 10 <400> 23
auguucucu cacggugga 19
- <210> 24
<211> 19
<212> DNA
15 <213> Secuencia Artificial
- <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- 20 <400> 24
tccaccgtga agagaacat 19
- <210> 25
<211> 19
<212> RNA
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 25
agggccgau aucuuuaca 19
- 30 <210> 26
<211> 19
<212> RNA
<213> Secuencia Artificial
- <220>
35 <221> fuente
<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
- <400> 26
uguaagau aucggccu 19
- <210> 27
40 <211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
- <220>
<221> fuente
45 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
- <400> 27
Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5
- <210> 28
<211> 4
50 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

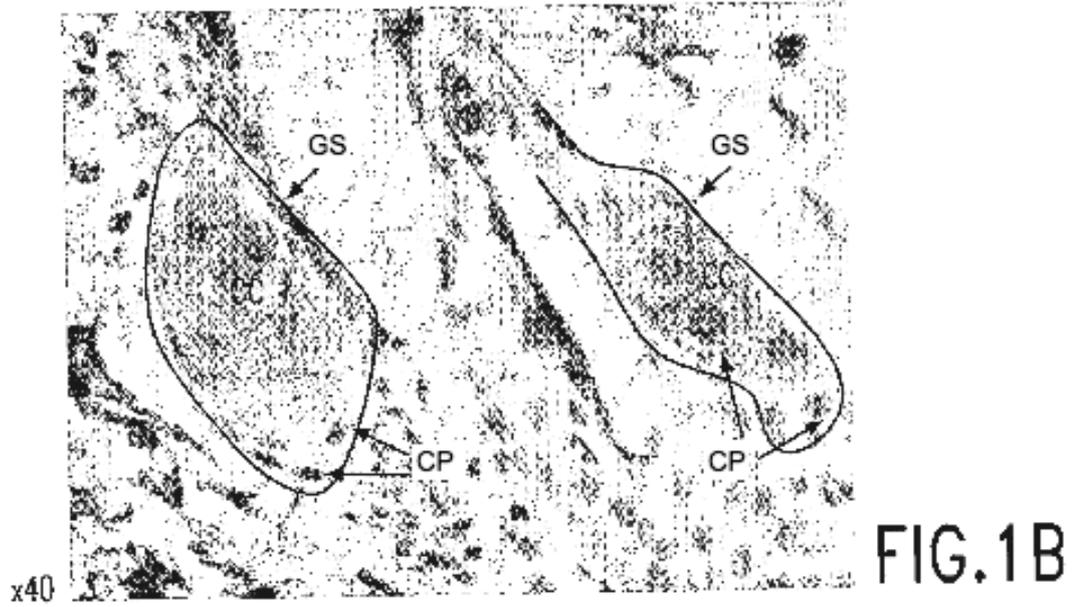
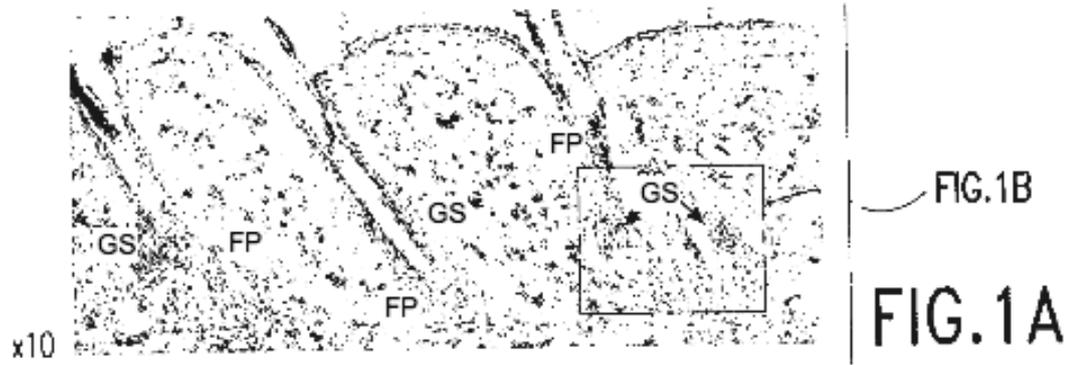
<400> 28

Met Pro Asp Tyr

5 1

REIVINDICACIONES

1. Un antagonista de la visfatina para uso en el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo seleccionada de acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea, en donde dicho antagonista de la visfatina comprende:
 - 5 a) al menos un compuesto seleccionado de FK-866 y AP0866; o
 - b) al menos un siRNA que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18.
2. El antagonista de visfatina para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la afección por hiperproducción de sebo es acné.
 3. El antagonista de la visfatina para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el acné es acné vulgar.
 4. Una composición farmacéutica que comprende un péptido de administración miristoilado en el extremo amino que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID n.º 27 y un antagonista de la visfatina, en donde dicho antagonista de la visfatina comprende:
 - 15 a) al menos un compuesto seleccionado de FK-866 y AP0866; o
 - b) al menos un siRNA que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada de SEQ ID n.º 19, SEQ ID n.º 20, SEQ ID n.º 21, SEQ ID n.º 22, SEQ ID n.º 23, SEQ ID n.º 24, SEQ ID n.º 25, SEQ ID n.º 26, SEQ ID n.º 9, SEQ ID n.º 10, SEQ ID n.º 13, SEQ ID n.º 14, SEQ ID n.º 17 y SEQ ID n.º 18.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, que además comprende un vehículo acuoso y DMSO.
 6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, que además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado de agua, vaselina filante, parafina, aceite mineral, aceite vegetal, aceite animal, ceras orgánicas e inorgánicas, tales como cera microcristalina, de parafina y de ozocerita, polímeros naturales tales como xantanos, malta, talco, gelatina, azúcares, celulosa, colágeno, almidón, o goma arábiga,
 - 25 polímeros sintéticos, alcoholes, polioles, soluciones tamponadas con fosfato, mantequilla de cacao, emulsionantes y detergentes.
 7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, que además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable por vía tópica miscible con agua.
 8. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el vehículo miscible con agua se selecciona de liposomas, microesponjas, microesferas, microcápsulas, ungüentos de base acuosa, emulsiones de agua en aceite, emulsiones de aceite en agua y geles.
 - 30 9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, para uso en el tratamiento de una afección por hiperproducción de sebo seleccionada de acné, seborrea, dermatitis seborreica, un quiste sebáceo e hiperplasia sebácea.
10. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la afección por hiperproducción de sebo es acné.
 - 35 11. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el acné es acné vulgar.



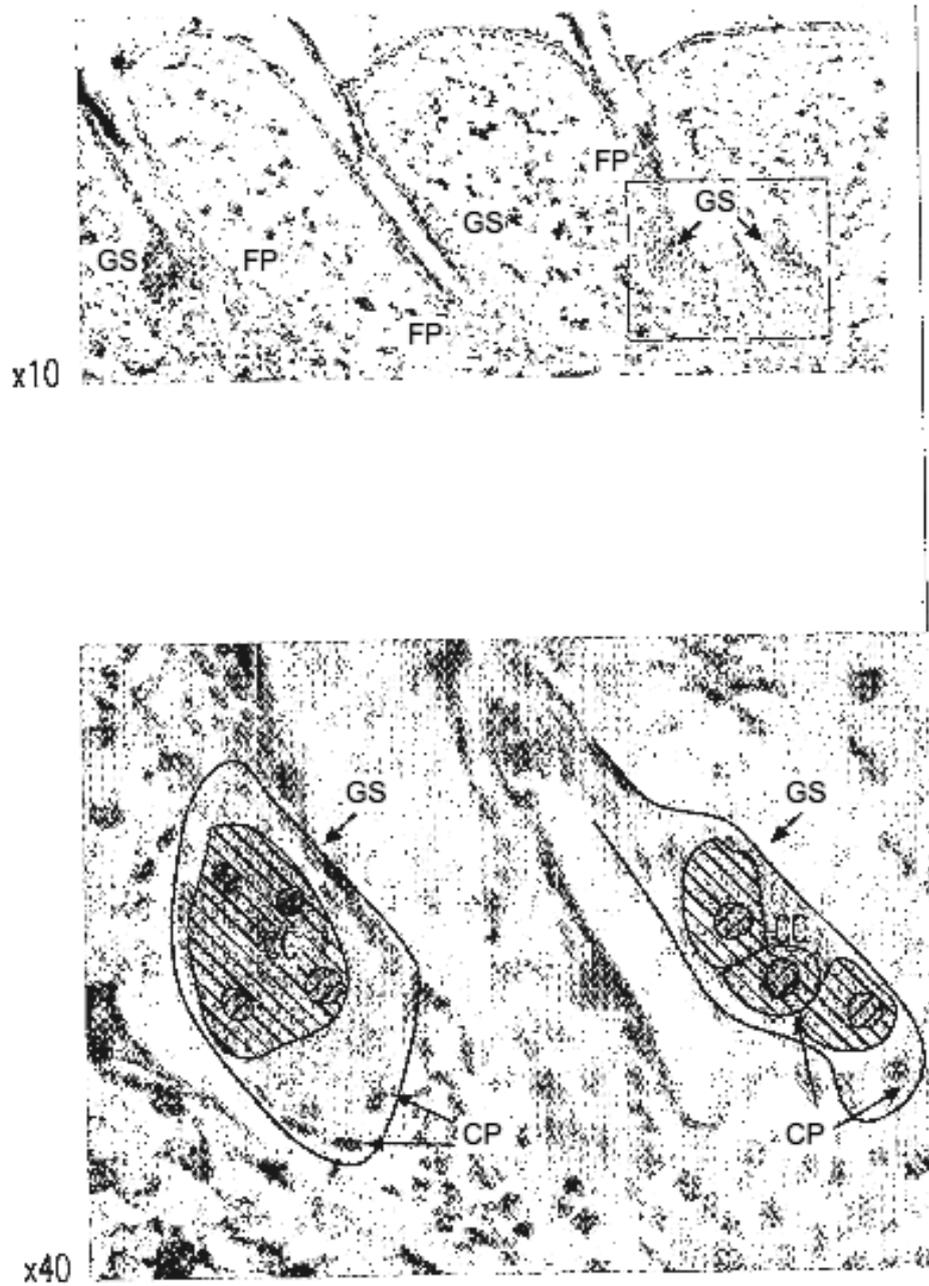


FIG.1C

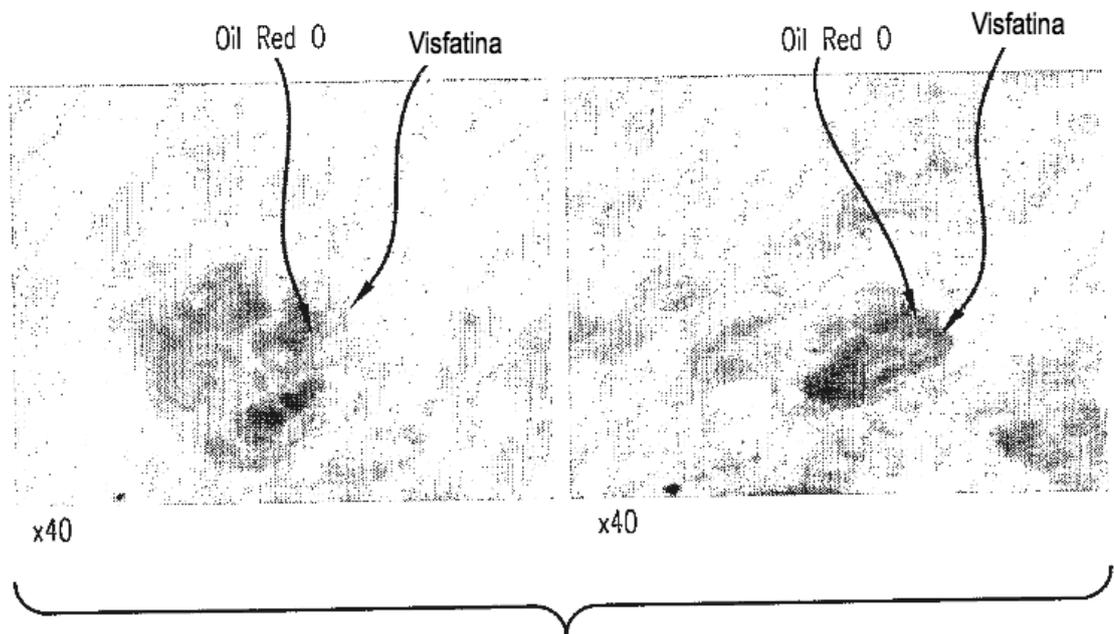


FIG.2A

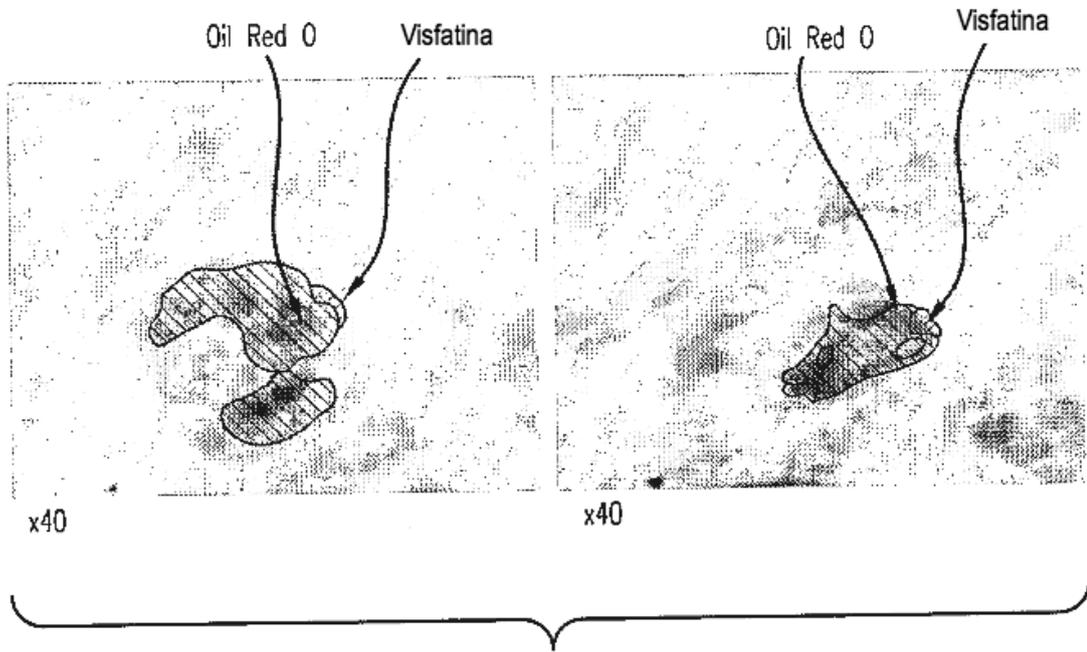


FIG.2B

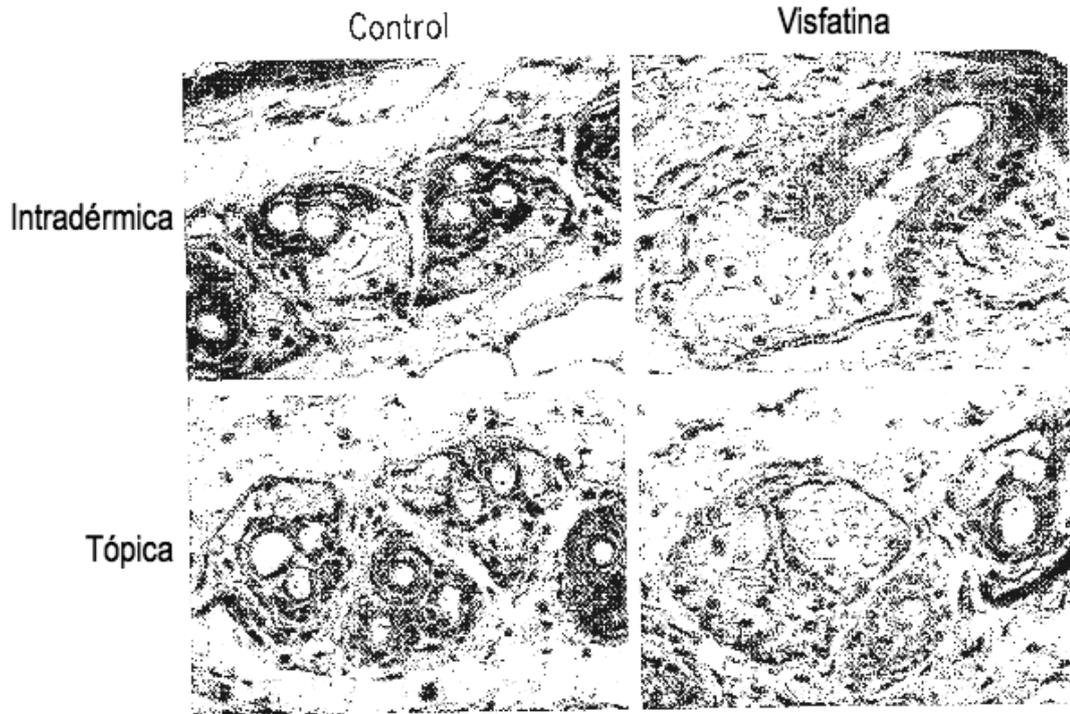


FIG.3A

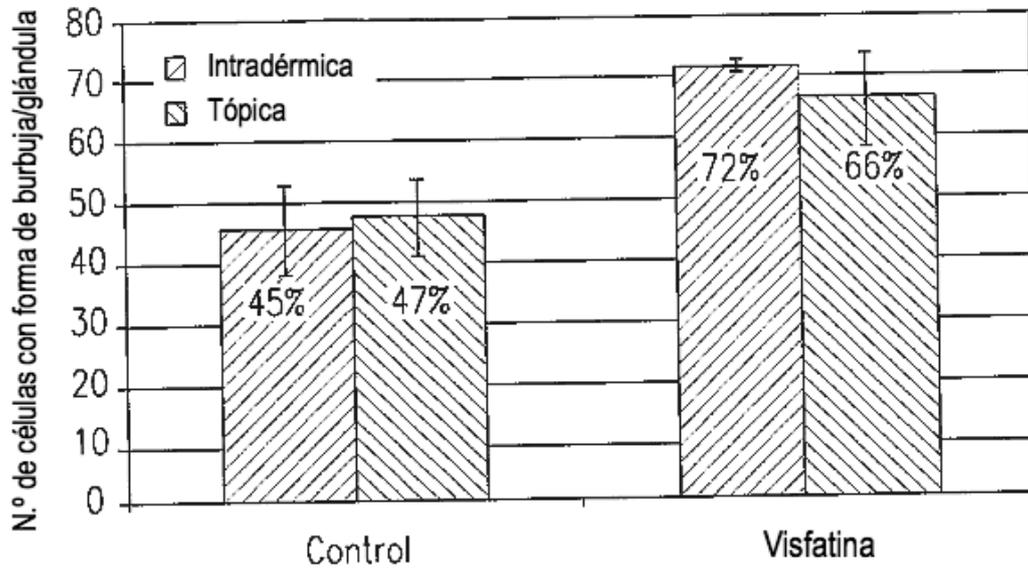


FIG.3B



FIG. 4A



FIG. 4B

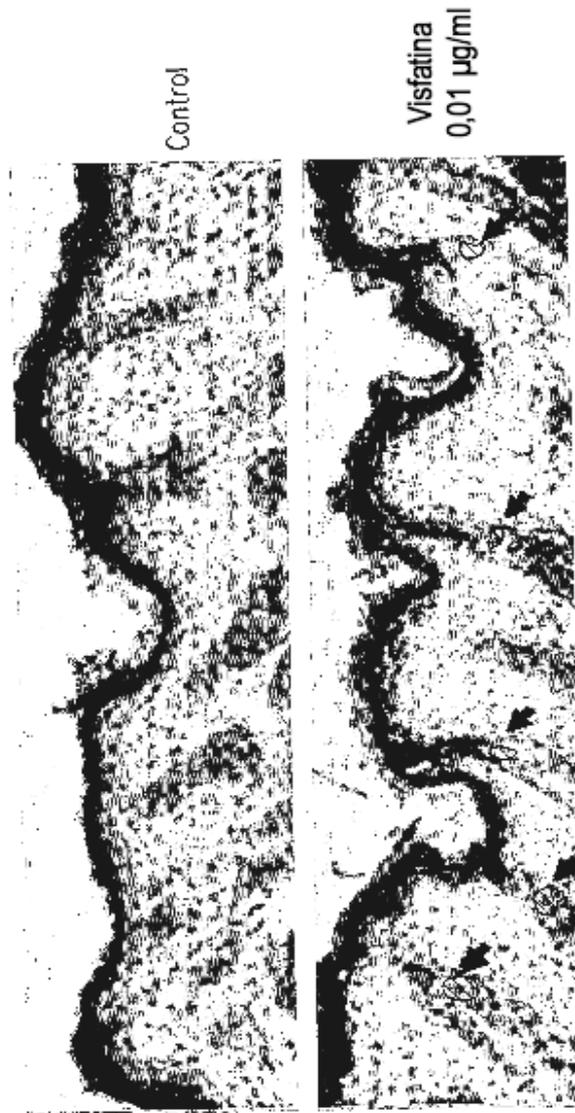


FIG.4C

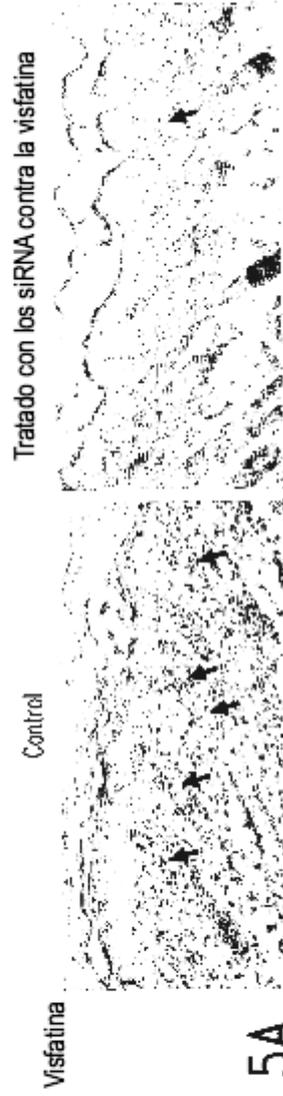


FIG.5A



FIG.5B



FIG.5C

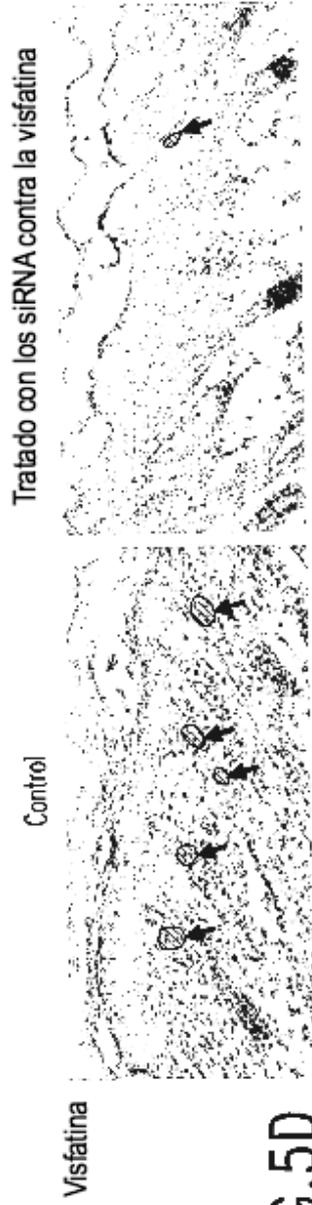


FIG.5D



FIG.5E



FIG.5F

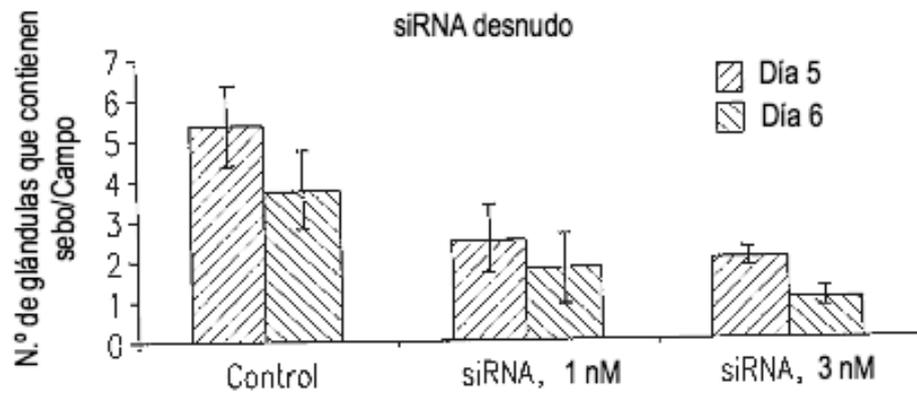


FIG.6A

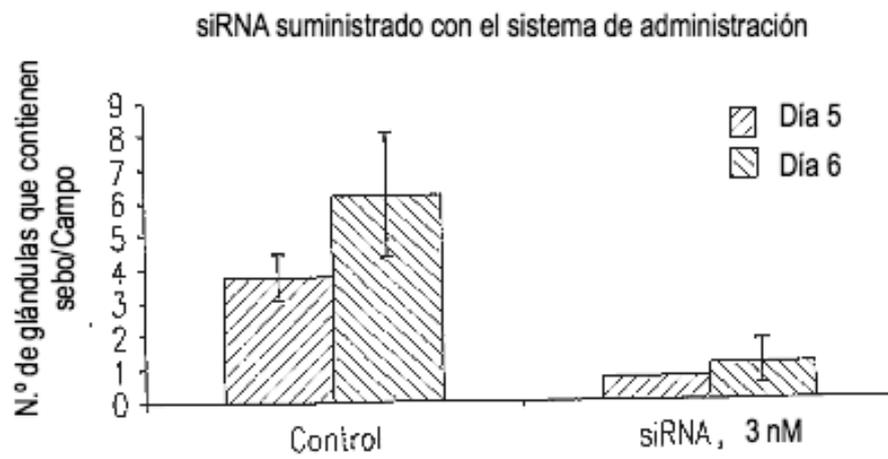


FIG.6B