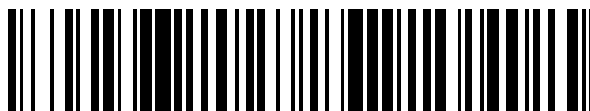


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 068**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/02** (2006.01)

**A61K 8/29** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

**A61K 8/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2011 PCT/US2011/066728**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.07.2012 WO12094163**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2011 E 11855190 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2661276**

54 Título: **Composición tópica que comprende una toxina botulínica y un colorante**

30 Prioridad:

**07.01.2011 US 201161430868 P**

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

**07.11.2017**

73 Titular/es:

**REVANCE THERAPEUTICS, INC. (100.0%)  
7555 Gateway Boulevard  
Newark, CA 94560, US**

72 Inventor/es:

**WAUGH, JACOB y  
RUEGG, CURTIS**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 641 068 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

Composición tópica que comprende una toxina botulínica y un colorante

### CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención hace referencia a una composición tópica de una toxina.

### 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La toxina botulínica (también conocida como toxina botulina o neurotoxina botulínica), es una de las más potentes neurotoxinas de origen natural conocidas por el hombre. Produce la parálisis de los músculos evitando la transmisión sináptica o la liberación de acetilcolina a través de la unión neuromuscular, y se cree que actúa también de muchas otras formas. La toxina botulínica bloquea, esencialmente, las señales que habitualmente causan espasmos o contracciones musculares, lo que tiene como resultado la parálisis.

A pesar de su toxicidad, la toxina botulínica ha encontrado numerosos usos terapéuticos y cosméticos. Por ejemplo, la toxina botulínica ha sido utilizada para tratar una variedad de condiciones, incluyendo el espasmo hemifacial, tortícolis espasmódica de inicio en el adulto, fisura anal, blefaroespasma, parálisis cerebral, distonía cervical, cefaleas migrañosas, estrabismo, trastorno temporomandibular, y diversos tipos de calambres y espasmos musculares. Además, los efectos paralizantes del músculo de la toxina botulínica han sido utilizados en aplicaciones terapéuticas y de cosmética facial, tales como el tratamiento de las arrugas, líneas de expresión, y otros resultados de los espasmos o contracciones de los músculos faciales.

Convencionalmente, la toxina botulínica se administra mediante inyección en el área que necesita tratamiento. La administración de la toxina botulínica mediante inyección implica, habitualmente, reconstituir una muestra previamente liofilizada de la toxina botulínica, utilizando suero fisiológico o algún otro diluyente farmacéuticamente aceptable. La solución de la toxina botulínica reconstituida se introduce en una jeringuilla, donde permanece hasta ser inyectado en el paciente. La secuencia de pasos requeridos para la preparación y posterior administración de la toxina botulínica es relativamente segura para el especialista clínico, ya que la solución de la toxina botulínica se encuentra contenida o bien en una jeringuilla o en un vial hasta su administración. Además, las dosis de toxina botulínica utilizadas en la formulación inyectable son también relativamente bajas. Por ejemplo, las actuales formulaciones de la toxina botulínica para el tratamiento de arrugas contiene aproximadamente 100 U de toxina por dosis.

Más recientes avances han permitido la administración por vía tópica de la toxina botulínica. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente de EE.UU. 11/072,026 (nº de publicación US 2005-0196414 A1). Sin embargo, el uso de las formulaciones tópicas de la toxina botulínica introduce desafíos nuevos e imprevistos para el especialista clínico, en particular con respecto a una segura aplicación, manejo y eliminación de la toxina botulínica. Por consiguiente, se necesitan medios seguros y efectivos para aplicar, retirar e inactivar el exceso de toxina botulínica.

Se reconocen las siguientes referencias:

- El documento WO 2006/094263 A2 (Revance Therapeutics Inc.; Dake; Waugh) 8 de Septiembre de 2006, hace referencia a composiciones y métodos para la aplicación tópica y la administración transdérmica de la toxina botulínica.
- El documento US 5624636 A (Schwartz) 29 de Abril de 1997, hace referencia a un desinfectante a base de hipoclorito para impresiones dentales.
- El documento US 2009/148342 A1 (Bromberg et al) 11 de Junio 2009, hace referencia a composiciones y a un método para producir ácido hipohaloso y vapor de ácido hipohaloso.
- Senogles et al, Water Research, volume 35, no. 5, 1 de Abril de 2001, páginas 1245-1255, hace referencia a la degradación fotocatalítica de cilindrospermopsina, utilizando dióxido de titanio e irradiación UV.
- El documento US 2008/107690 A1 (Dake et al) 8 de Mayo de 2008 hace referencia a composiciones y métodos para la aplicación tópica y la administración transdérmica de las toxinas botulínicas.
- El documento US 4797128 A (Fowler) 10 de Enero de 1989 hace referencia a un método y aparato para la limpieza de prendas y productos suaves contaminados con contaminantes nucleares, químicos y/o biológicos.

• El documento US 6566574 B1 (Tadros et al) 20 de Mayo de 2003 hace referencia a formulaciones para la neutralización de toxinas químicas y biológicas.

• El documento US 2009/250626 A1 (Schlesser et al) 8 de Octubre de 2009, divulga un dispositivo para la descontaminación de líquidos.

5 • El documento US 7585829 B1 (Taylor) 8 de Septiembre de 2009 hace referencia a productos, métodos y equipo para eliminar manchas de tejidos.

• El documento US 2003/196549 A1 (Rohrbach et al) 23 de Octubre de 2003 divulga un filtro de descontaminación química/biológica.

## RESUMEN DE LA INVENCION

10 Un aspecto de esta invención es el reconocimiento de que las formulaciones tópicas de toxinas, tales como, por ejemplo, las formulaciones de la toxina botulínica, deben ser manipuladas y eliminadas utilizando diferentes procedimientos, en comparación con formulaciones inyectables convencionales que contengan las mismas toxinas. En particular, la invención reconoce que puede ocurrir una contaminación no deseable sin un cuidado adecuado y sin procedimientos de manipulación seguros, ya que las formulaciones de toxinas por vía tópica pueden extenderse de manera inadvertida a otras superficies por contacto o vertido casual.

Otro aspecto de la invención es el reconocimiento de que el contenido de toxina en las formulaciones botulínicas por vía tópica puede, en muchos casos, ser significativamente mayor que el de las formulaciones de toxina botulínica inyectable. Sin ánimo de estar sujetos por la teoría, se cree que es necesario un contenido más elevado de toxina botulínica en las formulaciones por vía tópica para lograr efectos terapéuticos o cosméticos, debido a la dificultad de transportar la toxina botulínica a través de la piel, incluso con soportes o potenciadores de la penetración cutánea, tal como se describe en la presente patente. Por ejemplo, una única dosis de una formulación tópica de toxina botulínica de tipo A puede comprender más de 1000-7000 U de toxina, mientras que una formulación inyectable habitualmente contiene sólo aproximadamente 100 U. Por tanto, la invención reconoce, en primer lugar, que pueden permanecer cantidades significativas de la toxina botulínica en la superficie de la piel después de la administración de una composición tópica, representando de este modo un peligro potencial para el paciente y el especialista clínico por igual, y generando potenciales problemas medioambientales.

Por consiguiente, se divulga en la presente patente métodos y kits para aplicar, eliminar e inactivar de forma segura un exceso de toxinas (por ejemplo, toxina botulínica), utilizada en composiciones terapéuticas o cosméticas.

30 También se divulga un método para aplicar por vía tópica una formulación de una toxina. El método comprende aplicar por vía tópica la formulación de toxina sobre un área a ser tratada, eliminar el exceso de toxina con un agente de eliminación, e inactivar el exceso de toxina con un agente de inactivación.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para eliminar la toxina de la superficie de un paciente. El método comprende eliminar la toxina del área con un agente de eliminación, e inactivar la toxina eliminada con un agente de inactivación.

35 En aún otro aspecto, la divulgación proporciona un kit para aplicar una toxina por vía tópica. El kit incluye una composición que comprende una toxina y un aplicador para aplicar la composición por vía tópica a un área en necesidad de tratamiento. Opcionalmente, la composición de la toxina puede contener un colorante. El kit también incluye un agente de eliminación para eliminar el exceso de toxina de un área tratada, y un agente de inactivación para inactivar el exceso de toxina después de que haya sido eliminada del área tratada.

40 En otro aspecto, la divulgación proporciona un kit para la eliminación de una toxina aplicada por vía tópica. El kit comprende un agente de eliminación para eliminar el exceso de toxina aplicada por vía tópica a un área en necesidad de tratamiento, y un agente de inactivación para inactivar el exceso de toxina después de que haya sido eliminada del área tratada.

45 La invención se encuentra definida por las reivindicaciones adjuntas. La invención proporciona una composición tópica o transdérmica que comprende una toxina botulínica y un colorante. El colorante permite una identificación visual más sencilla de la composición. En determinadas realizaciones preferidas, la toxina botulínica puede ser cualquiera de los serotipos de toxina botulínica A, B, C<sub>1</sub>, D, E, F, o G. En una realización particularmente preferida, la toxina botulínica es una toxina botulínica de tipo A purificada. En determinadas realizaciones, el colorante es un colorante visible o un colorante fluorescente. En realizaciones preferidas, dichos colorantes detectables, cuando se utilizan en la composición, no reaccionan con la toxina botulínica.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Esta divulgación proporciona métodos y kits para eliminar de forma segura e inactivar composiciones de toxina tópicas. Tal como se utiliza en la presente patente, los términos "inactivar", "inactivando", "inactivación", o variantes de los mismos, cuando se utilizan en referencia a una toxina, hacen referencia a tratar la toxina para dejarla sin neurotoxicidad.

5 Entre los métodos de la divulgación se incluyen métodos para aplicar, eliminar e inactivar las composiciones de toxina tópicas, además de métodos para únicamente eliminar e inactivar las composiciones tópicas de la toxina. Los métodos divulgados en la presente patente pueden ser utilizados en referencia a un régimen de tratamiento (por ejemplo, casos en los que la composición se aplica de forma deliberada), o como una medida de descontaminación (por ejemplo, para eliminar las composiciones de la toxina en casos en los que la composición de la toxina se encuentra presente de forma no intencionada o no deseada en una superficie). La divulgación también contempla kits tanto para aplicar, eliminar e inactivar composiciones tópicas de la toxina, además de kits para únicamente eliminar e inactivar composiciones tópicas de la toxina. La invención abarca composiciones que comprenden colorantes.

La composición de acuerdo con la invención comprende una toxina botulínica.

15 El término "toxina botulínica" tal como se utiliza en la presente patente hace referencia a cualquiera de los tipos conocidos de toxina botulínica, ya sea producida por la bacteria o mediante técnicas recombinantes, además de cualquiera de dichos tipos que puedan ser descubiertos posteriormente, incluyendo variantes o proteínas de fusión de ingeniería genética. La toxina botulínica puede obtenerse a partir de los serotipos conocidos del *C. botulinum* (por ejemplo, los serotipos A, B, C<sub>1</sub>, D, E, F, o G). En determinadas realizaciones preferidas, la toxina botulínica está presente como una molécula de toxina botulínica aislada (por ejemplo, moléculas de toxina botulínica de los tipos A, B, C<sub>1</sub>, D, E, F, o G sin las proteínas estabilizantes expresadas por *C. botulinum*). En dichas realizaciones, la molécula de toxina botulínica aislada es estabilizada preferiblemente por estabilizantes exógenos. Véase, por ejemplo, la Solicitud Provisional de EE.UU. N° 61/220,433 (N° de publicación Internacional WO 2010/151840) titulada "Albumin Free Botulinum Toxin Formulations" (Formulaciones de toxina botulínica libres de albúmina). De forma alternativa, la toxina botulínica puede estar presente en forma de complejo, estabilizada, al menos en parte, por una o más de las proteínas no-toxinas, no hemaglutininas y proteínas no-toxinas hemaglutininas, que son expresadas normalmente junto con la toxina botulínica por las bacterias *C. Botulinum*. En determinadas realizaciones, la toxina botulínica es estabilizada por estabilizantes exógenos, tales como la albúmina. La invención también contempla específicamente el uso de formulaciones de toxina botulínica comercialmente disponibles, donde  
20  
25  
30 ejemplos no limitativos de las cuales incluyen BOTOX®, Dysport® y Xeomin®.

La toxina botulínica utilizada en la invención puede ser, de forma alternativa, un derivado de la toxina botulínica, es decir, un compuesto que tiene actividad de toxina botulínica pero que contiene una o más alteraciones químicas o funcionales en cualquier parte o en cualquier cadena en relación a las toxinas botulínicas nativas de origen natural o recombinantes. Por ejemplo, la toxina botulínica puede ser una neurotoxina modificada (por ejemplo, una neurotoxina que tiene al menos uno de sus aminoácidos eliminados, modificados o reemplazados, en comparación con una neurotoxina nativa o producida de forma recombinante, o un derivado o fragmento de la misma). Por ejemplo, la toxina botulínica puede ser una que haya sido modificada de forma que, por ejemplo, potencie sus propiedades o disminuya los efectos secundarios no deseables, pero que aún mantenga la actividad deseada de la toxina botulínica. La toxina botulínica puede ser cualquiera de los complejos de toxina botulínica producidos por la bacteria, según se describe anteriormente. De forma alternativa, la toxina botulínica puede ser una toxina preparada utilizando técnicas químicas de síntesis o recombinantes (por ejemplo, un péptido recombinante, una proteína de fusión, o una neurotoxina híbrida, según se prepara a partir de subunidades o dominios de diferentes serotipos de toxina botulínica (véase la Patente de EE.UU. N° 6,444,209, por ejemplo)). La toxina botulínica puede también ser una parte de la molécula completa que se ha mostrado que posee la necesaria actividad de toxina botulínica, y en tal caso puede ser utilizada per se o como parte de una molécula de combinación o conjugada, por ejemplo una proteína de fusión. Adicionalmente, la toxina botulínica puede encontrarse en forma de un precursor de toxina botulínica, que puede ser en sí mismo no-tóxico, por ejemplo, una proteasa de zinc no tóxica que se vuelve tóxica en el corte proteolítico.

50 En términos generales, los métodos y kits divulgados en la presente patente para eliminar e inactivar de forma segura composiciones de toxina tópicas terapéuticas o cosméticas (por ejemplo, composiciones de toxina botulínica), son adecuadas para su uso con cualquier modo de administración tópica de una composición de toxina terapéutica o cosmética, tal como se discute en la presente patente. La administración tópica puede realizarse en cualquier área del cuerpo en necesidad de la misma. En determinados aspectos, el área del cuerpo a ser tratada se selecciona del grupo que consiste en la cara, las axilas, las palmas de las manos, las manos, los pies, la zona lumbar, el cuello, la pierna, la ingle, el brazo, el codo, la rodilla, la pelvis, las nalgas y el torso.

En algunos aspectos, la composición de toxina tópica puede ser administrada para producir un efecto cosmético. Por ejemplo, la neurotoxina toxina botulínica de tipo A puede ser aplicada a la cara para reducir la apariencia de las arrugas, incluyendo las líneas de marioneta, líneas nasolabiales, patas de gallo, líneas de la zona glabellar (entrecejo) y combinaciones de las mismas.

En otros aspectos, la composición de toxina tópica puede ser administrada para proporcionar un efecto terapéutico a un sujeto. Por ejemplo, la composición de toxina tópica puede atenuar los impulsos nerviosos colinérgicos, suprimiendo de ese modo la producción de una glándula. En ciertos aspectos, la composición de toxina tópica comprende una toxina botulínica que puede ser administrada para reducir la hipersecreción de las glándulas sudoríparas o de las glándulas sebáceas, para tratar la hiperhidrosis o el acné, respectivamente. Más generalmente, esta divulgación también contempla la administración de composiciones tópicas de toxina botulínica para tratar cualquier indicación para la cual se conoce que la toxina botulínica proporciona una mejora en una condición. Ejemplos de dichas indicaciones incluyen espasmo hemifacial, tortícolis espasmódica de inicio en el adulto, fisura anal, blefaroespasma, parálisis cerebral, distonía cervical, cefaleas migrañosas, estrabismo, trastorno temporomandibular, y diversos tipos de calambres y espasmos musculares.

En aspectos preferidos, la composición de la invención puede ser aplicada para administrar una cantidad efectiva de la toxina. La expresión "cantidad efectiva" utilizada en la presente patente hace referencia a una cantidad de una toxina (por ejemplo, toxina botulínica) que es suficiente para producir los efectos deseados de parálisis muscular u otros efectos biológicos o estéticos, pero que implícitamente es una cantidad segura, es decir, una que sea lo suficientemente baja para evitar efectos secundarios serios. Los efectos deseados incluyen la relajación de ciertos músculos con la finalidad de, por ejemplo, disminuir la apariencia de finas líneas y/o arrugas, especialmente en la cara, o ajustar la apariencia facial en otras formas tales como ampliar el ancho de los ojos, o suavizar las líneas que se despliegan desde el labio superior, o la relajación general de la tensión muscular. El último efecto mencionado, la relajación general de la tensión muscular, puede ser efectuado en la cara o en cualquier otro lugar. En algunas realizaciones, la composición de la invención puede contener una cantidad efectiva apropiada de la toxina botulínica para su aplicación como un tratamiento en una única dosis, o puede estar más concentrada, bien para su dilución en el lugar de administración o para su uso en múltiples aplicaciones. La toxina botulínica puede ser administrada por vía tópica para su administración transdérmica a los músculos o a otras estructuras asociadas con la piel. La administración puede realizarse, por ejemplo, en las piernas, hombros, espalda (incluyendo la zona lumbar), axilas, palmas, pies, cuello, ingle, el dorso de las manos o pies, los codos, brazos, rodillas, muslos, nalgas, torso, pelvis, o cualquier otra parte del cuerpo en donde se desee la administración de la toxina botulínica.

En determinadas realizaciones, la dosis de toxina botulínica para la composición de toxina tópica de la invención se encuentra en un rango de 100 U a 7000 U, más preferiblemente de 500 U a 6000 U, más preferiblemente de 1000 U a 5000 U, e incluso más preferiblemente de 2000 a 4000 U. En unas realizaciones, la dosis de toxina botulínica se encuentra en el rango de 1000 a 7000 U, aunque la invención específicamente contempla que los límites inferior y/o superior de este rango pueden ser incrementados o reducidos, respectivamente, en intervalos de 50 U, donde cada sub-rango se considera una realización de la invención.

La composición de toxina tópica incluye un indicador que permite a un especialista clínico ver la composición de toxina tópica más fácilmente. Por tanto, en casos en donde el especialista clínico aplica manualmente la formulación de toxina botulínica tópica directamente en el área a ser tratada, el indicador puede ayudar al especialista clínico a determinar qué áreas de la piel ya han sido tratadas. Además, el indicador puede permitir que el especialista clínico localice las áreas que han sido contaminadas por la composición de toxina tópica. En términos generales, el indicador es inerte con respecto a la toxina y puede ser aplicado de forma segura a la superficie de la piel en la concentración utilizada. El indicador es un colorante detectable. El colorante puede ser un colorante visible o fluorescente que esté producido a partir de fuentes naturales o producido de forma artificial. Los colorantes de fuentes naturales pueden incluir, pero no se limitan a, colorantes alimenticios naturales. Ejemplos no limitativos de colorantes visibles incluyen, pero no se limitan a, FD&C Azul N° 1, FD&C Azul N° 2, FD&C Verde N° 3, FD&C Rojo N° 40, FD&C Rojo N° 3, FD&C Amarillo N° 5, y FD&C Rojo N° 6, colorante de caramelo, annatto, cochinilla, betanina, cúrcuma, azafrán, paprika, pandan, y conchita azul. Ejemplos no limitativos de colorantes fluorescentes incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína sódica, rodamina B, Naranja de acridina, proteína verde fluorescente, cúrcuma, y sulfuro de zinc. En realizaciones preferidas, el colorante no afecta a la eficacia o biodisponibilidad de la toxina en la composición de toxina tópica.

En otros aspectos de la divulgación, el indicador puede comprender partículas inertes, coloreadas que se mezclan en la composición de toxina tópica para permitir una identificación visual más fácil de la composición. Por ejemplo, pueden añadirse pequeñas partículas de dióxido de titanio para impartir un color blanco a la composición de toxina tópica. El uso de óxido de titanio como indicador tiene además la ventaja añadida de que las partículas de óxido de titanio pueden actuar como un agente de inactivación en presencia de radiación UV, tal como se discute más adelante. Sin embargo, cuando se utiliza dióxido de titanio como indicador, se debe tener cuidado para evitar exponer la composición de toxina tópica a luz UV de forma prematura, para evitar la inactivación inadvertida de la toxina mediante reacciones de degradación fotocatalítica.

En determinados aspectos preferidos, la composición de toxina tópica se deja reposar sobre la piel durante un periodo de tiempo después de su aplicación para permitir que la toxina penetre en la piel. La duración de este tiempo de reposo puede variar dependiendo de la composición de toxina tópica en particular, la cantidad de toxina que va a ser administrada, y el área que va a ser tratada. Ejemplos de tiempos de reposo que pueden ser utilizados en relación con esta invención incluyen, pero no se limitan a, 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos, 5 minutos, 6

minutos, 7 minutos, 8 minutos, 9 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos, 30 minutos, 35 minutos, 40 minutos, 45 minutos, 50 minutos, 55 minutos, 1 hora, 1,25 horas, 1,5 horas, 1,75 horas, o 2 horas.

Esta divulgación también proporciona un agente de eliminación para eliminar las composiciones de toxina tóxicas de las superficies cuando la presencia de las composiciones tóxicas de la toxina sobre dichas superficies no se desee.

5 Por ejemplo, el agente de eliminación puede ser utilizado para eliminar el exceso de la composición de toxina tóxica que ha sido aplicada en el área de la piel que va a ser tratada. De forma alternativa, el agente de eliminación puede ser utilizado para eliminar la composición de toxina tóxica que ha sido administrada de forma inadvertida en un área de la piel que no necesita tratamiento. La divulgación también contempla la utilización del agente de eliminación para eliminar la toxina de la superficie de cualquier artículo que haya sido contaminado con la toxina. Por ejemplo, entre  
10 los ejemplos de artículos en un entorno especialista clínico que pueden ser contaminados por una composición de toxina tóxica se incluyen superficies de mesas, sillas, suelos, mesas de laboratorio, guantes, gafas, aplicadores, y similares.

En términos generales, el agente de eliminación es cualquier agente que es capaz de reducir físicamente la cantidad de toxina activa en la superficie de la piel. Por ejemplo, en determinados aspectos, el agente de eliminación puede adsorber, absorber, o físicamente raspar el exceso de composición de toxina tóxica. En dichos aspectos, el agente de eliminación puede comprender cualquier material/artículo capaz de eliminar la composición incluyendo, pero sin limitarse a, artículos poliméricos sintéticos y/o naturales, artículos metálicos, artículos cerámicos, y artículos de vidrio. Los artículos poliméricos pueden comprender celulosa y/o derivados de celulosa o plásticos. Entre los  
15 ejemplos de agentes de eliminación se incluyen, pero sin limitarse a, espátulas, materiales que comprenden algodón, materiales que comprenden rayón, toallitas de papel, gasas, hisopos, bolas de algodón, vendaje quirúrgico, papel facial, materiales absorbentes desechables, materiales adsorbentes desechables, paños desechables, textiles tejidos y no tejidos desechables, toallitas húmedas y toallitas secas.

La etapa de eliminar el exceso de toxina puede implicar limpiar, secar, raspar o frotar el área de la superficie con el agente de eliminación. En algunos aspectos, el agente de eliminación puede también ser colocado directamente en una superficie durante un periodo de tiempo para permitir que la composición de toxina tóxica sea absorbido por o se adsorba en el agente de eliminación. En aspectos en los que la composición de toxina tóxica comprende un  
25 indicador, el agente de eliminación puede ser administrado repetidamente por el especialista clínico hasta que el indicador ya no sea visible o se encuentre presente en una cantidad que esté por debajo de un límite superior aceptable, indicando de este modo que la mayor parte de, si no toda, la composición de toxina tóxica ha sido eliminada. Por ejemplo, cuando el indicador es un colorante, este límite umbral puede ser expresado como un porcentaje de la cantidad de colorante originalmente presente, como un número absoluto, o de otra forma conocida para un experto en el arte. Los límites umbral de colorante contemplados por la invención pueden ser cualquiera conocido por un experto en el arte incluyendo, pero sin limitarse a, menos del 20% del originalmente presente, menos del 10% del originalmente presente, menos del 5% del originalmente presente, menos del 1% del originalmente presente, menos del 0,5% del originalmente presente, menos del 0,1% del originalmente presente, menos del 0,05% del originalmente presente y un 0,01% del originalmente presente. Se contempla el uso de más de uno y/o más de un tipo de agente de eliminación para eliminar toxina no deseada de una superficie.

En determinados aspectos preferidos de la divulgación, el agente de eliminación se utiliza en combinación con un agente de inactivación. El agente de inactivación es cualquier agente que inactive la toxina, dejando de ese modo la  
40 toxina sin neurotoxicidad. Ejemplos no limitativos de agentes de inactivación incluyen oxidantes, tensioactivos, oxidantes, radiación electromagnética, y agentes básicos.

En ciertos aspectos, el agente de eliminación y el agente de inactivación se utilizan simultáneamente. Por ejemplo, en un ejemplo particularmente preferido, una toallita que ha sido impregnada con lejía de hipoclorito puede ser utilizada para eliminar físicamente la toxina tóxica que se encuentra en la superficie mientras la inactiva al mismo  
45 tiempo. En otros aspectos, el agente de eliminación y el agente de inactivación se utilizan secuencialmente. Por ejemplo, después de que el agente de eliminación elimine físicamente la toxina de una superficie, el agente de eliminación puede ser expuesto a un agente de inactivación para volver la toxina inocua en contacto con el agente de eliminación. De forma alternativa, el agente de eliminación y el agente de inactivación pueden ser aplicados secuencialmente a una superficie para descontaminar la superficie de la toxina tóxica presente sobre la misma.

Un aspecto de la divulgación es el reconocimiento de que ciertas clases de tensioactivos inactivan la toxina botulínica, mientras que otras clases de tensioactivos no. En términos generales, los detergentes iónicos fuertes son útiles como agentes de inactivación, ejemplos no limitativos de los cuales incluyen dodecilsulfato sódico, lauroil lactilato sódico, lauril éter sulfato sódico, y laurilsarcosinato sódico. Por ejemplo, se observó que el contacto de la toxina botulínica de tipo A con toallitas de limpieza facial de Dove "Facial Cleaning Cloths, Deep Moisture®" inactivan  
50 la toxina botulínica de tipo A. Estas toallitas de limpieza detallan las siguientes sustancias como ingredientes: agua, glicerina, decilglucósido, laurilsarcosinato sódico, cocamidopropil betaína, silicona quaternium-8, laurilsarcosinato sódico, polyquaternium-10, acetato de tocoferilo (acetato de vitamina E), palmitato de retinilo (palmitato de vitamina A), lactato potásico, ácido láctico, colesterol, esteroil de glicina soja (grano de soja), urea, sodio Pca, policuaternio 4, fragancia/perfume, DMDM Hidantoína, y butilcarbamato de yodopropinilo. Por tanto, aunque los detergentes iónicos

fuertes, tales como los detallados anteriormente, son útiles para inactivar la toxina botulínica, son a menudo inapropiados para limpiar el área de tratamiento ya sea antes o después de la administración de la toxina botulínica, ya que destruyen la actividad de la toxina botulínica.

5 En contraste, los tensioactivos no iónicos (por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, Span 20, Span 60, Span 65, Span 80, PEG 4 Laurato, y PEG 6 glicéridos Caprílico/Cáprico) generalmente son menos útiles como agentes de inactivación, particularmente en concentraciones bajas, pero pueden ser utilizados de forma ventajosa para limpiar un área de la piel previamente al tratamiento o como parte de un agente de eliminación para potenciar la eliminación de la toxina botulínica tóxica de un área tratada de la piel. Por ejemplo, las toallitas desmaquilladoras de Neutrogena "Makeup Remover Cleansing Towelettes®", que contienen tensioactivos no  
10 iónicos, pueden ser utilizadas como una toallita post-tratamiento para limpiar el exceso de toxina botulínica en un área de la piel después de la administración de la composición de toxina botulínica tóxica. Las toallitas desmaquilladoras de Neutrogena "Makeup Remover Cleansing Towelettes®" contienen los siguientes ingredientes: agua, etilhexanoato de cetilo, palmitato de isostearilo, tetraetilhexanoato de pentaeritrito, isononanoato de isononilo, ciclopentasiloxano, hexilenglicol, PEG 4 laureato, Glicéridos PEG-6 caprílico/cáprico, cocoato de sacarosa, carbómero, hidróxido de sodio, ácido benzoico, Ácido Dehidroacetato, fenoxietanol, butilcarbamatato de yodopropinilo, y fragancia. Además, las toallitas desmaquilladoras de Neutrogena "Makeup Remover Cleansing Towelettes®" pueden utilizarse como una toallita de pre-tratamiento para limpiar el área que va a ser tratada, sin afectar de forma perjudicial la actividad de la composición de toxina botulínica tóxica aplicada posteriormente. En aspectos que implican tensioactivos no iónicos que no inactivan la toxina botulínica, se utiliza preferiblemente un agente de  
20 activación para neutralizar el exceso de toxina botulínica. Por ejemplo, en determinados aspectos preferidos, el agente de inactivación puede ser unas formas sólidas o en solución de hipoclorito sódico (por ejemplo, lejía) según se ha descrito en la presente memoria. Además, se contempla el uso de otras sustancias químicas como agente de eliminación, o como una parte de un agente de eliminación. Por ejemplo, puede eliminarse el exceso de toxina botulínica de tipo A en la superficie de la piel de un paciente, sin una inactivación significativa, limpiando con una  
25 gasa humedecida con alcohol isopropílico al 70%.

En determinados aspectos preferidos, el agente de inactivación es un oxidante. Por ejemplo, entre los oxidantes adecuados se incluye cualquier sustancia química capaz de oxidar la toxina para volverla inocua. Ejemplos no limitativos de oxidantes adecuados incluyen gas ozono, agua ozonizada, peróxidos e hipocloritos. En ciertos aspectos preferidos, el oxidante es una sal de hipoclorito, que puede ser utilizada sola o en combinación con otros  
30 agentes de inactivación. Las sales de hipoclorito adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hipoclorito sódico e hipoclorito de calcio. La sal de hipoclorito puede encontrarse en cualquier forma y/o concentración que se conozca sea de utilidad para inactivar la composición. Entre los ejemplos no limitativos de formas de sales de hipoclorito se incluyen la forma líquida, polvos, sal cristalina y nebulización. En algunos casos, se hace referencia al hipoclorito sódico utilizado como agente de inactivación como lejía. La concentración de sal de hipoclorito puede ser, pero sin limitarse a, de al menos 0,1%, aproximadamente de 0,1% a 50%, de 0,1% a 12%, de 0,3% a 10%, o de 0,5% a 10%. En aspectos preferidos, la sal de hipoclorito es hipoclorito sódico en una concentración entre aproximadamente 0,1% a 6%.

La radiación electromagnética puede ser utilizada como un agente de inactivación sola o en combinación con otros agentes de inactivación. La radiación electromagnética adecuada para su uso como un agente de inactivación  
40 incluye cualquier radiación de cualquier longitud de onda que sea capaz de degradar la toxina para volverla no tóxica. En ciertos aspectos preferidos, el agente de inactivación puede incluir, pero no está limitado a, rayos gamma, rayos x, y radiación ultravioleta. La radiación electromagnética puede ser generada de forma natural o artificial. En aspectos preferidos, la radiación electromagnética incluye longitudes de onda entre aproximadamente 10 nm a 400 nm. En casos en los que la radiación electromagnética es radiación ultravioleta (UV), puede utilizarse cualquier  
45 fuente de UV conocida por un experto en el arte. Estas pueden incluir, pero sin limitarse a, fuentes relacionadas con la energía solar, "luces negras" o luz de Wood, lámparas fluorescentes UV, diodos emisores de luz UV (LEDs UV), láseres UV, y lámparas de descarga de gas. En ciertos aspectos, los agentes de inactivación que comprenden radiación electromagnética comprenden además dióxido de titanio. Aunque sin tener la intención de estar sujetos a cualquier teoría, el dióxido de titanio puede actuar como un fotocatalizador para mejorar la capacidad del agente de  
50 inactivación para degradar la composición.

Los agentes que modifican el pH pueden utilizarse como agentes de inactivación, solos o en combinación con otros agentes de inactivación. Cualquier sustancia que modifique el pH hasta un valor que cause la degradación de la toxina puede ser utilizada como un agente de inactivación modificador del pH. Ejemplos no limitativos de agentes de inactivación modificadores del pH, adecuados para la invención incluyen hidróxido potásico (KOH), hidróxido de bario (Ba(OH)<sub>2</sub>), hidróxido de cesio (CsOH), hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de estroncio (Sr(OH)<sub>2</sub>), hidróxido de calcio (Ca(OH)<sub>2</sub>), hidróxido de litio (LiOH), e hidróxido de rubidio (RbOH).  
55

El calor puede ser utilizado como un agente de inactivación, solo o en combinación con otros agentes de inactivación. En casos en los que la composición es una toxina, y en particular una toxina botulínica, calentar la composición a temperaturas superiores a 85 °C durante al menos 5 minutos inactivará la toxina. En ciertos aspectos preferidos, la toxina es inactivada calentándola a más de 70 °C, aproximadamente de 70 a 100 °C, 70 a 80 °C, 80 a  
60

90 °C, 85 a 90 °C, 86 a 90 °C, 87 a 90 °C, 88 a 90 °C, 89 a 90 °C, 86 °C, 87 °C, 88 °C, 89 °C, 90 °C, 90 a 100 °C, 100 a 110 °C, 110 a 120 °C, 120 a 130 °C, más de 130 °C pero menos de una temperatura que dañaría el artículo que se está descontaminando. La fuente de calor puede ser cualquiera de aquellas que sean conocidas por un experto en el arte, incluyendo, pero sin limitarse a, elementos de calentamiento resistivos, bloques térmicos de laboratorio, baños de agua caliente, autoclaves, hornos, y hornos microondas.

En ciertos aspectos, la antitoxina puede ser utilizada como un agente de inactivación sola o en combinación con otros agentes de inactivación. La antitoxina puede ser obtenida de una fuente conocida para un experto en el arte incluyendo, pero sin limitarse a, equinos, murinos, porcinos, humanos y similares. La antitoxina puede comprender anticuerpos completos, anticuerpos parciales, y/o componentes no-anticuerpos. En ciertos aspectos preferidos, la antitoxina es una antitoxina botulínica trivalente equina. En otros aspectos preferidos, la antitoxina es una antitoxina botulínica heptavalente equina.

El agente de inactivación puede degradar la composición mediante cualquier medio posible incluyendo, pero sin limitarse a, mediante procesos térmicos, químicos, fotoquímicos, y de fluctuación del pH. Puede utilizarse cualquier método conocido por un experto en el arte para inactivar la composición.

También se divulgan kits para aplicar las composiciones tópicas terapéuticas o cosméticas. El kit comprende una composición para la aplicación tópica a un área que necesita tratamiento. El kit también puede comprender un indicador que permite monitorizar la ubicación y presencia de la composición. En ciertos aspectos, el kit incluye una composición que comprende una toxina, y opcionalmente, un indicador tal como un colorante detectable. En aspectos preferidos, la toxina es una toxina botulínica y más preferiblemente, una toxina botulínica purificada de tipo A. El kit comprende además un aplicador para aplicar por vía tópica la composición a un área que necesita tratamiento. El aplicador puede comprender cualquier componente requerido para la administración de la composición, incluyendo un aplicador personalizado, un guante, o una jeringuilla. En aspectos preferidos, dicho kit también incluye un agente de eliminación. Este agente de eliminación se utiliza para eliminar una composición de toxina tópica no deseada en cualquier superficie. En aspectos preferidos, el agente de eliminación es un artículo a polimérico a base de celulosa, por ejemplo, una toalla de papel, gasa, un hisopo, o una bola de algodón. El kit además comprende un agente de inactivación que se utiliza para inactivar el exceso de la composición al eliminarlo del área tratada. El agente de inactivación puede comprender cualquier componente conocido para inactivar la composición eliminada. En ciertos aspectos, el agente de inactivación incluye tensioactivos, hipoclorito sódico, radiación ultravioleta, agentes ácidos o básicos, y elementos de calentamiento resistivos. El kit puede también, en ciertos aspectos, incluir instrucciones para el uso de los componentes contenidos en el mismo.

También se divulgan kits para la eliminación de las composiciones terapéuticas o cosméticas aplicadas por vía tópica. En ciertos aspectos preferidos, la composición comprende una toxina tal como la toxina botulínica de tipo A, opcionalmente en forma aislada con estabilizantes exógenos. El kit comprende un agente de eliminación para eliminar el exceso de composición aplicada por vía tópica en un área en necesidad de tratamiento. El agente de eliminación puede incluir cualquier componente conocido para eliminar el exceso de composición del área de tratamiento y en aspectos preferidos, el agente de eliminación es un artículo polimérico a base de celulosa, por ejemplo, una toalla de papel, gasa, un hisopo, o una bola de algodón. El kit además comprende un agente de activación que se utiliza para inactivar el exceso de composición al eliminarla del área tratada. El agente de inactivación puede comprender cualquier componente conocido para inactivar el exceso de composición eliminada. En determinados aspectos, el agente de inactivación incluye tensioactivos, hipoclorito sódico, radiación ultravioleta, agentes ácidos o básicos, y elementos de calentamiento resistivos. El kit puede además, en ciertos aspectos, incluir instrucciones para el uso de los componentes contenidos en el mismo.

Muchas modificaciones y variaciones de esta invención pueden realizarse sin apartarse de su alcance, tal como será evidente para los expertos en el arte. Las realizaciones específicas descritas en la presente patente se ofrecen a modo de ejemplo únicamente, y la invención será limitada únicamente por los términos de las reivindicaciones adjuntas.

## EJEMPLOS

### **Ejemplo 1: Composiciones de toxina tópicas adecuadas para su uso con los métodos y kits para eliminar e inactivar la toxina**

Tal como se describe en la presente patente, los métodos y kits para eliminar e inactivar las composiciones de toxina tópicas no se encuentran particularmente limitadas. En general, pueden utilizarse con cualquier sistema de administración en el que la toxina se aplica por vía tópica en la piel. Por ejemplo, en ciertos aspectos, los métodos y kits de la divulgación son adecuados para su uso con los parches transdérmicos que administran la toxina a la piel. En ciertos aspectos diferentes, el sistema de administración puede implicar aplicar de forma manual la formulación tópica de la toxina directamente sobre el área a ser tratada. Cuando la composición tópica de la toxina se aplica manualmente de esta manera, puede extenderse utilizando un aplicador personalizado o a mano, siempre que la mano esté protegida por un guante realizado de un material adecuado (por ejemplo, nitrilo).



En general, los métodos y kits descritos en la presente patente son adecuados para eliminar e inactivar la toxina en una amplia variedad de diferentes composiciones de toxina tópicas. Por ejemplo, los métodos y kits son adecuados para su uso con composiciones de toxina tópicas, en las que la toxina se administra mediante un soporte o un potenciador de la penetración en la piel. Ejemplos no limitativos de soportes incluyen soportes poliméricos con carga positiva y micelas (por ejemplo, micelas de fosfolípidos tales como esfingosina y cerebrósido). Entre los ejemplos de potenciadores de la penetración en la piel se incluyen DMSO, d-limoneno, alantoína, ácido fúlvico, mirra, glyquin hidroquinona, quillaja saponaria, y acanthophyllum squarrusum.

En determinadas realizaciones, las composiciones tópicas comprenden un soporte con carga positiva que promueve el transporte transdérmico de la toxina. Véase, por ejemplo, la publicación de EE.UU. N° 2005/0196414 titulada "Compositions and Methods for Topical Application and Transdermal Delivery of Botulinum Toxin" (Composiciones y métodos para la aplicación tópica y la administración transdérmica de toxina botulínica). Por ejemplo, el soporte puede ser una molécula portadora con carga positiva con grupos eficaces unidos a la misma. En ciertas realizaciones preferidas, el transporte tópico es potenciado por el soporte sin modificación covalente del agente activo terapéutico o cosmético que va a ser administrado.

Por "cargado positivamente" se entiende que el soporte tiene una carga positiva en al menos algunas condiciones de fase en solución, más preferiblemente en algunas condiciones al menos fisiológicamente compatibles. Generalmente, el soporte cargado positivamente comprende una "cadena principal cargada positivamente" que es habitualmente una cadena lineal de átomos, ya sea con grupos en la cadena que porta una carga positiva con pH fisiológico, o con grupos que portan una carga positiva unida a cadenas laterales que se extienden desde la cadena principal. Preferiblemente, la propia cadena principal cargada positivamente no tendrá una actividad biológica enzimática o terapéutica definida. La cadena principal lineal es una cadena principal de hidrocarburo que está, en algunas realizaciones, interrumpida por heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, azufre, silicio y fósforo. La mayoría de los átomos de la cadena principal son habitualmente carbono. Adicionalmente, la cadena principal a menudo será un polímero de unidades de repetición (por ejemplo, aminoácidos, poli(etilenoxi), poli(propilenamina), polialquilenimina, y similares), pero puede ser un heteropolímero. En un grupo de realizaciones, la cadena principal cargada positivamente es una polipropilenamina en donde un número de átomos de nitrógeno de amina están presentes como grupos amonio (tetrasustituídos) que portan una carga positiva. En otra realización, la cadena principal cargada positivamente es un polímero no peptídico, que puede ser un hetero- u homo-polímero, tal como una polialquilenimina, por ejemplo una polietilenimina o polipropilenimina, con un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 2.500.000, preferiblemente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.800.000, y más preferiblemente de aproximadamente 500.000 a aproximadamente 1.400.000. En otro grupo de realizaciones, la cadena principal tiene unida una pluralidad de fracciones de cadena lateral que incluyen grupos cargados positivamente (por ejemplo, grupos amonio, grupos fosfonio, grupos sulfonio, grupos guanidinio, o grupos amidinio). Las fracciones de cadena lateral en este grupo de realizaciones pueden estar ubicadas a espacios a lo largo de la cadena principal que son constantes o variables. Adicionalmente, la longitud de las cadenas laterales puede ser similar o diferente. Por ejemplo, en un grupo de realizaciones, las cadenas laterales pueden ser cadenas lineales o ramificadas de hidrocarburos que tienen de uno a veinte átomos de carbono, y que terminan en el extremo distal (lejos de la cadena principal) en uno de los grupos cargados positivamente indicados anteriormente. En todos los aspectos de la presente invención, la asociación entre el soporte y los agentes activos terapéuticos o cosméticos es mediante interacción no covalente, ejemplos no limitativos de la cual incluyen interacciones iónicas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, o combinaciones de las mismas.

En un grupo de realizaciones, la cadena principal cargada positivamente es un polipéptido que tiene múltiples grupos de cadena lateral cargados positivamente (por ejemplo, lisina, arginina, ornitina, homoarginina, y similares). Preferiblemente, el polipéptido tiene un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 1.500.000, más preferiblemente de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 1.200.000, más preferiblemente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.000.000. Un experto en el arte apreciará que cuando se utilizan aminoácidos en esta parte de la invención, las cadenas laterales pueden tener la forma D- o L- (configuración R o S) en el centro de la unión. De forma alternativa, la cadena principal puede ser un análogo de un polipéptido tal como un peptoide. Véase, por ejemplo, Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 32:543 (1993); Zuckermann et al. *Chemtracts-Macromol. Chem.* 4:80 (1992); y Simon et al. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 89:9367 (1992). Brevemente, un peptoide es una poliglicina en la que la cadena lateral está unida a los átomos de nitrógeno de la cadena principal en lugar de a los átomos de carbono  $\alpha$ . Como se ha indicado anteriormente, una parte de las cadenas laterales terminarán habitualmente en un grupo cargado positivamente para proporcionar un componente de la cadena principal cargado positivamente. La síntesis de peptoides se describe en, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 5,877,278. Tal como se utiliza el término en la presente memoria, las cadenas principales cargadas positivamente que tienen una construcción de cadena principal peptoide se consideran "no peptídicas" ya que no están compuestas de aminoácidos con cadenas naturales de origen natural en las localizaciones del carbono  $\alpha$ .

Puede utilizarse una variedad de otras cadenas principales, por ejemplo, análogos estéricos o electrónicos de polipéptidos en donde los enlaces amida del péptido se reemplazan con sustitutos tales como enlaces de éster, tioamidas (--CSNH--), tioamidas inversas (--NHCS-), aminometileno (--NHCH<sub>2</sub>--) o los grupos de metilnamino (--CH<sub>2</sub>NH--) inverso, grupos cetometileno (--COCH<sub>2</sub>--), fosfinato (--PO<sub>2</sub>RCH<sub>2</sub>--), fosfonamidato y éster de

fosfonamidato (--PO<sub>2</sub>RNH--), péptido inverso (--NHCO--), trans-alqueno (--CR=CH-), fluoroalqueno (--CF=CH--), dimetileno (--CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>--), tioéter (--CH<sub>2</sub>S--), hidroxietileno (--CH(OH)CH<sub>2</sub>--), metilenoxi (--CH<sub>2</sub>O--), tetrazol (CN<sub>4</sub>), sulfonamido (--SO<sub>2</sub>NH-), metilensulfonamido (--CHRSO<sub>2</sub>NH--), sulfonamida (--NHSO<sub>2</sub>--) inversa, y cadenas principales con subunidades de malonato y/o alquilo gem-diamino, por ejemplo, según se revisa en Fletcher et al. ((1998) Chem. Rev. 98:763) y se detalla por referencias citadas en la presente memoria. Muchas de las sustituciones mencionadas tienen como resultado, aproximadamente, cadenas principales poliméricas isostéricas en relación a cadenas principales formadas a partir de α-aminoácidos.

En cada una de las cadenas principales proporcionadas anteriormente, pueden unirse grupos de cadena lateral que portan un grupo cargado positivamente. Por ejemplo, las cadenas principales ligadas a sulfonamida (--SO<sub>2</sub>NH-- y --NHSO<sub>2</sub>--) pueden tener grupos de cadena lateral unidos a los átomos de nitrógeno. De igual manera, el enlace de hidroxietileno (--CH(OH)CH<sub>2</sub>--) puede llevar un grupo de cadena lateral unido al sustituyente hidroxilo. Un experto en el arte puede adaptar fácilmente las químicas de los otros enlaces para proporcionar grupos de cadena lateral cargados positivamente utilizando métodos estándar de síntesis.

En una realización, la cadena principal cargada positivamente es un polipéptido que tiene grupos eficaces. Tal como se utiliza en la presente patente, un grupo de eficacia es cualquier agente que tiene el efecto de promover la translocación de la cadena principal cargada positivamente a través de un tejido o membrana celular. Ejemplos no limitativos de grupos eficaces incluyen -(gly)<sub>n1</sub>-(arg)<sub>n2</sub>, TAT-VIH o fragmentos de los mismos, o el dominio de transducción de proteínas de Antennapedia, o un fragmento del mismo, en el que el subíndice n1 es un número entero de 0 a 20, más preferiblemente de 0 a 8, aún más preferiblemente de 2 a 5, y el subíndice n2 es, independientemente, un número entero impar de aproximadamente 5 a 25, más preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 17, más preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 13. Aun adicionalmente preferidos son aquellas realizaciones en las que el fragmento TAT-VIH tiene la fórmula (gly)<sub>p</sub>-RGRDDRRQRRR-(gly)<sub>q</sub>, (gly)<sub>p</sub>-YGRKKRRQRRR-(gly)<sub>q</sub> o (gly)<sub>p</sub>-RKKRRQRRR-(gly)<sub>q</sub> en donde los subíndices p y q son cada uno, independientemente, un número entero de 0 a 20 y el fragmento está unido a la cadena principal a través del extremo C-terminal o del N-terminal del fragmento. Son fragmentos preferidos de TAT-VIH aquellos en los que los subíndices p y q son cada uno, independientemente, números enteros de 0 a 8, más preferiblemente de 2 a 5. En algunas realizaciones, el soporte tiene la secuencia de aminoácidos RKKRRQRRR-G-(K)<sub>15</sub>-GRKKRRQRRR.

En otra realización preferida el grupo de eficacia cargado positivamente es el dominio de transducción (PTD) de la proteína Antennapedia (Antp), o un fragmento del mismo que mantenga la actividad. (Véase, por ejemplo, Console et al., J. Biol. Chem. 278:35109 (2003).) Preferiblemente, el soporte cargado positivamente incluye grupos eficaces cargados positivamente de la cadena lateral, en una cantidad de al menos aproximadamente un 0,05%, como porcentaje del peso total del soporte, preferiblemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 45% en peso, y más preferiblemente de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 30% en peso. Para grupos eficaces cargados positivamente con la fórmula -(gly)<sub>n1</sub>-(arg)<sub>n2</sub>, la cantidad de mayor preferencia es de aproximadamente un 0,1 a aproximadamente un 25%.

En otra realización, la parte de la cadena principal es una polilisina y unos grupos eficaces cargados positivamente están unidos a los grupos amino de la cadena lateral de la lisina. En algunas realizaciones, la polilisina puede tener un peso molecular que se encuentra en un rango de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 1.500.000, preferiblemente de aproximadamente 25.000 a aproximadamente 1.200.000, y de mayor preferencia de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 1.000.000. En otras realizaciones, la polilisina puede tener un peso molecular que se encuentra en un rango de aproximadamente 500 a aproximadamente 5000, de aproximadamente 1000 a aproximadamente 4000, de aproximadamente 1500 a aproximadamente 3500, o de aproximadamente 2000 a aproximadamente 3000. La polilisina puede ser cualquiera de las que están comercialmente disponibles (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo., USA) polilisinis tales como, por ejemplo, polilisina que tiene un MW>70.000, polilisina que tiene un MW de 70.000 a 150.000, polilisina que tienen un MW de 150.000 a 300.000 y polilisina que tiene un MW>300.000. La selección de una polilisina apropiada dependerá del resto de componentes de la composición, y será suficiente para proporcionar una carga total neta positiva a la composición, y, en algunas realizaciones, proporcionar una longitud que es preferiblemente de una a cuatro veces la longitud combinada de los componentes cargados negativamente. Entre los grupos eficaces cargados positivamente y los grupos eficaces se incluyen, por ejemplo, -gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg (-Gly<sub>3</sub>Arg<sub>7</sub>) o TAT-VIH. En otra realización preferida, la cadena principal cargada positivamente es una polialiquenimina de cadena larga, tal como una polietilenimina, por ejemplo, una que tiene un peso molecular de aproximadamente 1.000.000.

En otra realización, el soporte es una polilisina con grupos ramificados cargados positivamente unidos a los grupos amino de la cadena lateral de la lisina. La polilisina utilizada en esta realización en particular puede ser cualquiera de las que se encuentran comercialmente disponibles (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo., USA, por ejemplo) polilisinis tales como, por ejemplo, polilisina que tiene un MW>70.000, polilisina que tiene un MW de 70.000 a 150.000, polilisina que tiene un MW de 150.000 a 300.000 y polilisina que tiene un MW>300.000. Sin embargo, preferiblemente la polilisina tiene un MW de al menos aproximadamente 10.000. Entre los grupos de ramificación cargados positivamente o grupos eficaces se incluyen, por ejemplo, -gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg (-Gly<sub>3</sub>Arg<sub>7</sub>), TAT-VIH o fragmentos del mismo, y PTD de Antennapedia o fragmentos del mismo.

En otras realizaciones de esta invención, el soporte es una cadena principal de polilisina o polietiliminina (PEI) relativamente corta (que puede ser lineal o ramificada) y que tiene grupos de ramificación cargados positivamente. Dichos soportes son de utilidad para minimizar la agregación no controlada de las cadenas principales y la toxina botulínica en una composición terapéutica, la cual causa que la eficacia del transporte disminuya drásticamente.

5 Cuando el soporte es una cadena principal lineal de polilisina o PEI relativamente corta, la cadena principal tendrá un peso molecular de menos de 75.000, más preferiblemente menos de 30.000, y de mayor preferencia, de menos de 25.000. Cuando el soporte es una cadena principal ramificada de polilisina o PEI relativamente corta, sin embargo, la cadena principal tendrá un peso molecular menor de 60.000, más preferiblemente menor de 55.000, y de mayor preferencia menor de 50.000.

10 **Ejemplo 2: Aplicación, eliminación e inactivación de la Toxina Botulínica de tipo A de la piel.**

Una persona con líneas en la zona del entrecejo visita a un especialista clínico para tratarlas. El especialista clínico inicialmente limpia el área que va a ser tratada frotándola con una bola de algodón que ha sido humedecida con agua desionizada. El especialista clínico prepara a continuación una composición de toxina tópica reconstituyendo una formulación liofilizada que contiene la neurotoxina toxina botulínica de tipo A aislada, y un soporte cargado positivamente tal como se describe en el Ejemplo 2. El especialista clínico aplica la composición de toxina tópica sobre el área de tratamiento deseada y a continuación la extiende utilizando guantes de nitrilo.

15

El especialista clínico a continuación limpia el guante contaminado con una toallita húmeda que ha sido impregnada con hipoclorito sódico (es decir, una toallita con lejía). La toallita con lejía elimina físicamente la composición de toxina tópica e inactiva químicamente la toxina botulínica. El especialista clínico coloca a continuación la toallita con lejía usada en un recipiente hermético que contiene hipoclorito sódico líquido para ayudar a asegurar que cualquier residuo de la toxina botulínica sea inactivado.

20

Después de que se da tiempo a la composición de toxina tópica para penetrar en al área tratada de la piel, el especialista clínico elimina el exceso de composición de toxina tópica secando las áreas tratadas con una toallita de papel. El especialista clínico a continuación coloca la toallita de papel usada y los guantes de nitrilo en el recipiente hermético para su eliminación segura.

25

**Ejemplo 3: Aplicación, eliminación e inactivación de una composición botulínica tópica que contiene un indicador**

Una persona que sufre de hiperhidrosis visita a un doctor para su tratamiento. El doctor inicialmente limpia el área de la axila del paciente frotándola con bolas de algodón que han sido humedecidas con agua desionizada. Antes del tratamiento, el doctor seca el área que va a ser tratada. El doctor entonces prepara una composición de toxina tópica reconstituyendo una formulación liofilizada que contiene una neurotoxina toxina botulínica de tipo A aislada, un soporte cargado positivamente tal como se describe en el Ejemplo 2, y un indicador que comprende finas partículas de dióxido de titanio. El doctor aplica la composición de toxina tópica sobre el área de tratamiento deseada, y a continuación la extiende frotando con guantes de nitrilo el área que va a ser tratada. La presencia de dióxido de titanio en la formulación reconstituida vuelve la formulación blanca, lo que permite que el doctor vea más fácilmente qué áreas de la piel de la axila ya han sido tratadas.

30

35

Después de que se deje tiempo a la composición de toxina tópica para que penetre en el área tratada de la piel, el doctor elimina el exceso de composición de toxina tópica secando las áreas tratadas con una toallita de papel. El doctor coloca a continuación la toallita de papel contaminada y los guantes de nitrilo en una cámara de descontaminación que está equipada con una fuente de luz UV. Encendiendo la fuente de luz UV, el doctor inicia las reacciones fotocatalíticas que implican que las partículas de dióxido de titanio degraden la toxina botulínica, volviendo, de ese modo, la toxina inocua.

40

Entre pacientes, el doctor enciende una luz UV en la sala de tratamiento, para degradar de forma fotocatalítica cualquier toxina que pueda haber sido aplicada de forma inadvertida a una superficie en la sala de tratamiento.

45 **Ejemplo 4: Aplicación, eliminación e inactivación de una composición botulínica tópica utilizando un tensioactivo**

Una persona con líneas no deseadas en la zona del entrecejo visita a un especialista clínico para que las trate. El especialista clínico inicialmente limpia el área que va a ser tratada frotándola con una bola de algodón que está humedecida con agua desionizada. El especialista clínico prepara a continuación una composición de toxina tópica reconstituyendo una formulación liofilizada que contiene una neurotoxina toxina botulínica de tipo A, y un soporte cargado positivamente según se describe en el Ejemplo 2. El especialista clínico aplica la composición de toxina tópica sobre el área de tratamiento deseado, y a continuación la extiende con guantes de nitrilo.

50

5 El especialista clínico limpia a continuación el guante contaminado con una toallita húmeda que ha sido impregnada con hipoclorito sódico (es decir, una toallita con lejía). La toallita con lejía elimina físicamente la composición de toxina tóxica e inactiva químicamente la toxina botulínica. El especialista clínico coloca a continuación la toallita de lejía usada en un recipiente hermético que contiene hipoclorito sódico líquido para ayudar a asegurar que los residuos de toxina botulínica quedan inactivados.

10 Después de que se deje tiempo a la composición de toxina tóxica para que penetre en el área tratada de la piel, el especialista clínico elimina el exceso de la composición de toxina tóxica secando las áreas tratadas con una toallita de papel. El especialista clínico a continuación limpia las áreas tratadas con un hisopo de algodón que ha sido previamente impregnado con un tensioactivo. El tensioactivo elimina el exceso de toxina en la superficie de las áreas tratadas, sin afectar a la toxina que ya ha penetrado en la piel.

El especialista clínico a continuación coloca la toallita de papel, hisopo y guantes de nitrilo usados en el recipiente hermético para su eliminación segura.

**Ejemplo 5: Aplicación, eliminación e inactivación de una composición de toxina botulínica tóxica para tratar las líneas del área cantal lateral**

15 Un paciente con líneas en el área cantal lateral no deseadas fue tratado con una composición de toxina botulínica tóxica. Antes de la administración de una composición de toxina botulínica tóxica, las áreas cantales laterales se limpiaron con gasas humedecidas con agua. La composición de toxina botulínica tóxica, que comprende moléculas de toxina botulínica purificadas y un soporte de cadena principal cargada positivamente con grupos eficaces TAT-VIH unidos, se aplicó a gotitas en una de las áreas cantales laterales del paciente utilizando una jeringuilla con una  
20 aguja de punta roma. La composición de toxina botulínica tóxica se aplicó con un masaje en el área cantal lateral con un dedo utilizando guantes. La composición de toxina botulínica tóxica se aplicó de forma similar en la otra área cantal lateral del paciente. Posteriormente, ambas áreas cantales laterales se cubrieron con un vendaje oclusivo. Se dejó descansar al sujeto durante un periodo de descanso de 30 a 65 minutos. Después de este periodo de descanso, las áreas cantales laterales se limpiaron suavemente con una serie de gasas humedecidas con agua.

25 Los materiales usados (por ejemplo, jeringuillas, material oclusivo, guantes, y gasas) fueron dispuestos en una bolsa para peligro biológico. Para inactivar la toxina botulínica, los materiales usados se calentaron a aproximadamente 120 °C durante 60 minutos. Una reducción perceptible en la apariencia de las líneas del área cantal lateral se observó después de 5 días. Después de dos semanas, se observó una reducción sustancial en la apariencia de las  
30 líneas del área cantal lateral. La mayor reducción en la apariencia de las líneas del área cantal lateral (es decir, el efecto pico) ocurrió a aproximadamente 28 días después de la administración de la composición de toxina botulínica tóxica.

**REIVINDICACIONES**

1. Composición tópica o transdérmica que comprende una toxina botulínica y un colorante.
2. Composición según la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende un soporte, dicho soporte comprende una cadena principal polipeptídica cargada positivamente que tiene unida a la misma uno o más grupos eficaces seleccionados del grupo que consiste en  $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$ ,  $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$ , y  $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$ , en donde los subíndices p y q son cada uno independientemente un número entero de 0 a 20.
3. Composición según la reivindicación 2, en donde el soporte comprende la secuencia de aminoácidos RKKRRQRRR- G-(K)<sub>15</sub>-G-RKKRRQRRR.
4. Composición según la reivindicación 1, en donde la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en los serotipos de la toxina botulínica A, B, C1, D, E, F, y G.
5. Composición según la reivindicación 4, en donde la toxina botulínica es una molécula de toxina botulínica purificada.
6. Composición según la reivindicación 1, en donde el colorante es un colorante visible.
7. Composición según la reivindicación 6, en donde el colorante visible es un colorante artificial.
8. Composición según la reivindicación 6, en donde el colorante se selecciona del grupo que consiste en FD&C Azul N° 1, FD&C Azul N° 2, FD&C Verde N° 3, FD&C Rojo N° 40, FD&C Rojo N° 3, FD&C Amarillo N° 5, y FD&C Rojo N° 6.
9. Composición según la reivindicación 6, en donde el colorante visible es un colorante alimenticio natural.
10. Composición según la reivindicación 9, en donde el colorante alimenticio natural se selecciona del grupo que consiste en colorante de caramelo, annatto, cochinilla, betanina, cúrcuma, azafrán, paprika, pandan, y conchita azul.
11. Composición según la reivindicación 1, en donde el colorante es un colorante fluorescente.
12. Composición según la reivindicación 11, en donde el colorante fluorescente se selecciona del grupo que consiste en fluoresceína sódica, rodamina B, Naranja de acridina, proteína verde fluorescente, curcumina, y sulfuro de zinc.

25