

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Act. 411 PRESENTACION Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 78

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** _____
FORMULACIONES INYECTABLES DE TOXINA BOTULINICA

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** _____
REVANCE THERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO _____
NEWARK, CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. **APODERADO** _____
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D.C.,** _____

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674- -00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Act. 411 PRESENTACION Folios: 77

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:**

1

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I.☐ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**Nombre: **REVANCE THERAPEUTICS, INC.**
Sociedad constituida y existente bajo las
leyes del Estado de Delaware, Estados
Unidos de América.Dirección: 7555 Gateway Blvd.,
Newark,
California 94560,
Estados Unidos de AméricaDomicilio: Newark,
California,
Estados Unidos de América**IDENTIFICACIÓN**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**Nombre: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 35.456.344T.P 23.555

4

**INVENTOR (ES)
(72)**1. **Curtis L. RUEGG**
826 Shepard Way,
Redwood City,
California 94062,
Estados Unidos de América3. **Jacob M. WAUGH**
425 First Street, #1801,
San Francisco,
California,
Estados Unidos de América2. **Hongran F. STONE**
1799 Croner Ave.,
Menlo Park,
California 94025,
Estados Unidos de América

5

PCT (86)Solicitud Internacional No. PCT/US2009/069576Fecha: 28 de diciembre de 2009Publicación Internacional No. WO 2010/078242 A1Fecha: 08 de julio de 2010

6

Título (54)**FORMULACIONES INYECTABLES DE TOXINA BOTULÍNICA**

7

Clasificación Internacional (51) A61K 039/008

8

PrioridadSI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

31 de diciembre de 2008

(31) Número de Solicitud

61/142,063

9

Comprobante de pago No.: 11-0069575Fecha: 18 de julio de 2011Comprobante de pago No.: 11-0071473Fecha: 25 de julio de 2011Comprobante de pago No.: 11-0071516Fecha: 25 de julio de 2011Comprobante de pago No.: 11-0071579Fecha: 25 de julio de 2011Comprobante de pago No.: 11-0071580Fecha: 25 de julio de 2011

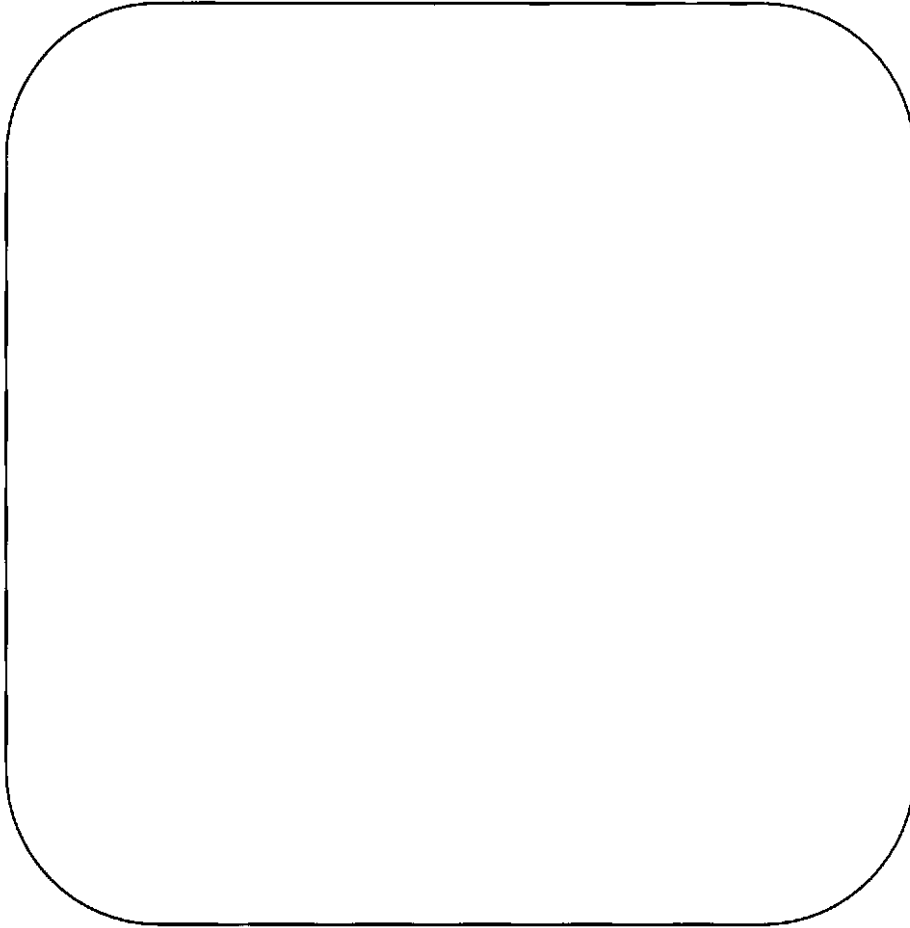
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.oo.
- ☒ Comprobante de pago por 13 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$351.000.oo.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poder de la sociedad **REVANCE THERAPEUTICS, INC.**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2010/078242 A1.
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA :

Luz Clemencia de Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

4

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/078242 A1

Descripción:

Páginas 41 en español

Reivindicaciones: Número (s) 23

Figuras: Número (s) 3

2. ☒ **Forma PCT//SA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3.

4. ☒ Listado de Secuencias.

5. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

State of California

SECRETARY OF STATE

Requested for use in Colombia.

Not for use within the United States of America.

The purpose of the Apostille is to certify the authenticity of the signature of the official signing the document, the capacity in which the official signing the document has acted, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp.

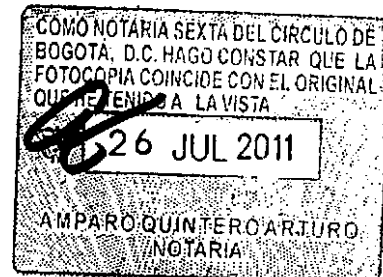
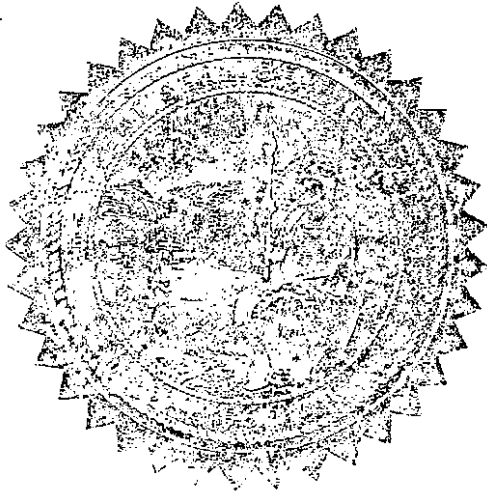
APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*
This public document
2. *has been signed by Heidi Butler*
3. *acting in the capacity of Notary Public, State of California*
4. *bears the seal/stamp of Heidi Butler, Notary Public,*
State of California

CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 4th day of February 2010*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 778289*
9. *Seal/Stamp:*



10. Signature

Jana Bowen
Secretary of State

BY *[Signature]*



REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

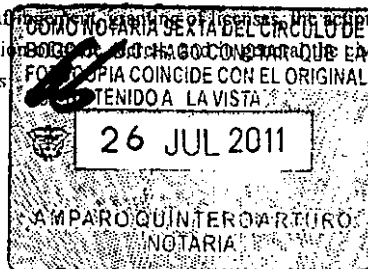
Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned **REVANCE THERAPEUTICS, INC.**
domiciliado (s) en/of **7555 Gateway Blvd., Newark, CA, 94560, United States of America**

por el presente nombramos a Luz Clemencia de Páez TPA.23.555, Nidia Osorio TPA. 73.366, Oscar Correa TPA. 71.027, Edna Sarmiento TPA. 65.794, Jorge Chávarro TPA. 40.119, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o todos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contenciosos.

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint Luz Clemencia de Páez TPA.23.555, Nidia Osorio TPA. 73.366, Oscar Correa TPA. 71.027, Edna Sarmiento TPA. 65.794, Jorge Chávarro TPA. 40.119, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, injunctive measures, administrative or judicial, nullity, measures of precaution, concession of licenses, the tutela, the protection of industrial secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits.



administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

7

instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy / Given and signed this _____

February 1, 2010

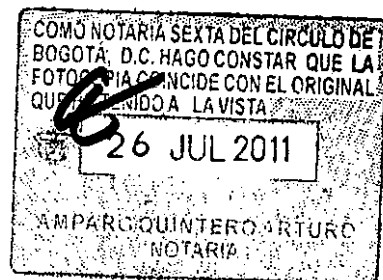
en/in Newark, CA

por/by L. Daniel Browne

Firma President, CEO - Relevance Therapeutics Inc.

Signature [Signature]

(Please see attached CA
Notary Acknowledgment)



CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

State of California

County of Alameda

On February 1, 2010 before me, Heidi Butler, Notary Public

personally appeared L. Daniel Browne



who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal
Signature Heidi Butler
Signature of Notary Public

Place Notary Seal Above

OPTIONAL

Though the information below is not required by law, it may prove valuable to persons relying on the document and could prevent fraudulent removal and reattachment of this form to another document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: Representation and Power of Attorney

Document Date: Number of Pages:

Signer(s) Other Than Named Above:

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: L. Daniel Browne
☐ Individual
☒ Corporate Officer — Title(s): CEO, President
☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
☐ Attorney in Fact
☐ Trustee
☐ Guardian or Conservator
☐ Other:

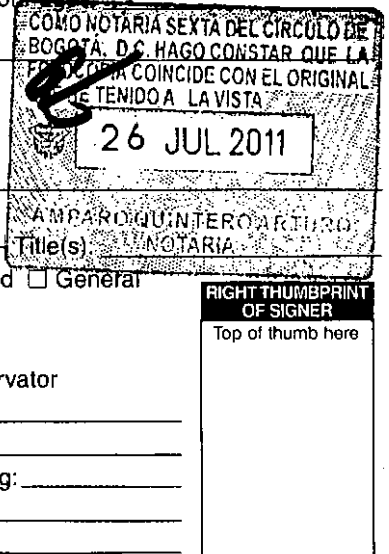
RIGHT THUMBPRINT OF SIGNER
Top of thumb here

Signer Is Representing:

Signer's Name:
☐ Individual
☐ Corporate Officer — Title(s):
☐ Partner — ☐ Limited ☐ General
☐ Attorney in Fact
☐ Trustee
☐ Guardian or Conservator
☐ Other:

RIGHT THUMBPRINT OF SIGNER
Top of thumb here

Signer Is Representing:



Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Jeffrey W. Bullock

3. acting in the capacity of Secretary of State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Office of Secretary of State

Certified

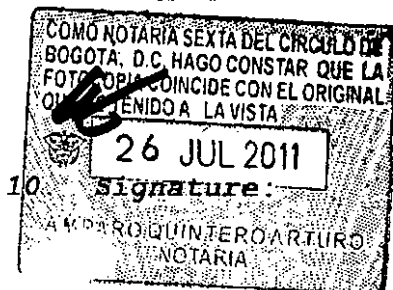
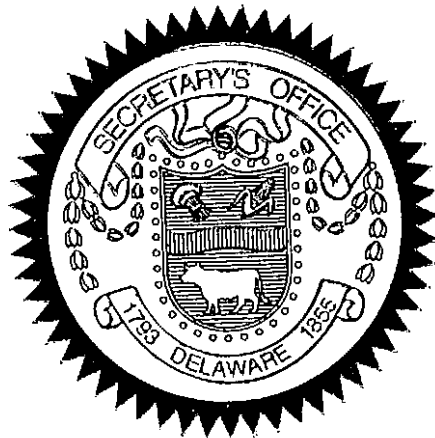
5. at Dover, Delaware

6. the twenty-second day of April, A.D. 2010

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0412740

9. Seal/Stamp:



10. 
Secretary of State

Delaware

PAGE 1

The First State

I, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY "REVANCE THERAPEUTICS, INC." IS DULY INCORPORATED UNDER THE LAWS OF THE STATE OF DELAWARE AND IS IN GOOD STANDING AND HAS A LEGAL CORPORATE EXISTENCE SO FAR AS THE RECORDS OF THIS OFFICE SHOW, AS OF THE TWENTY-SECOND DAY OF APRIL, A.D. 2010.

AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE FRANCHISE TAXES HAVE BEEN PAID TO DATE.

AND I DO HEREBY FURTHER CERTIFY THAT THE ANNUAL REPORTS HAVE BEEN FILED TO DATE.



3074007 8300

100413396

You may verify this certificate online
at corp.delaware.gov/authver.shtml

Jeffrey W. Bullock, Secretary of State
AUTHENTICATION: 7948992

DATE: 04-22-10

11

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 05.20/10a realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia, registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento mediante el cual **REVANCE THERAPEUTICS, INC.**, domiciliado en 7555 Gateway Blvd., Newark, CA 94560, Estados Unidos de América, otorga derechos de representación y poder a los Doctores Luz Clemencia de Páez, tpa. 23.555; Nidia Osorio, tpa. 73.366; Oscar Correa tpa. 71.027; Edna Sarmiento, tpa. 65.794 y Jorge Chávarro, tpa. 40.119, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el 1 de febrero de 2010 en Newark, California, Estados Unidos de América por L. Daniel Browne, Presidente y Director Ejecutivo.

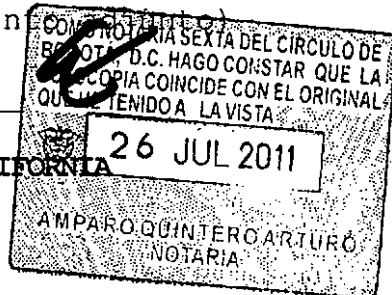
Firma Firma Ilegible

(Por favor ver el acto notarial de reconocimiento)

ACTA NOTARIAL DE RECONOCIMIENTO MULTIPROPÓSITOS DE CALIFORNIA

Estado de California

Condado de Alameda



El 1 de febrero de 2010 ante mí, Heidi Butler, Notario Público,

Fecha

Indique aquí el Nombre y Cargo del Funcionario

compareció personalmente L. Daniel Browne

Nombre(s) del Signatario(s)

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

HEIDI BUTLER
Comisión # 1727224
Notario Público - California
Condado de Santa Clara

quien comprobó con fundamento en evidencia satisfactoria ser la persona cuyo nombre está suscrito en el instrumento anexo y reconoció ante mí que él suscribió el mismo en su calidad autorizada y que por medio de su firma en el instrumento la persona o la

12

Comisión Vence Mar. 23 de 2011

entidad a nombre de la cual dicha persona actuó, ejecutó el documento.

Certifico SO PENA DE PERJURIO según las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es verdadero y correcto.

Fijar Sello Notarial Arriba

TESTIFICA mi firma y sello oficial.

Firma Ilegible

Firma del Notario Público

OPCIONAL

Aunque la siguiente información no es obligatoria por ley, esta podría tener valor para aquellas personas que admitan el documento y podría prevenir la renoción fraudulenta y anexión de este formato a otro documento.

DESCRIPCIÓN DEL DOCUMENTO ANEXO

Título o clase del documento: Representación y Poder

Fecha del Documento: _____ Número de Páginas: _____

Otros Signatarios distintos a los anteriores: _____

CALIDAD(ES) REIVINDICADA(S) POR SIGNATARIO(S)

Nombre del signatario: L. Daniel Browne

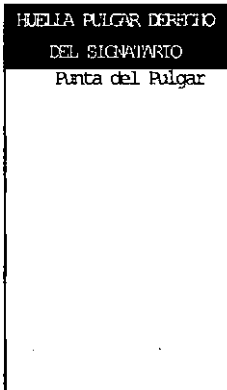
Nombre del signatario: _____

☐ Individuo
Funcionario Director Ejecutivo
☒ Corporativo Cargo(s): y Presidente

☐ Socio ☐ Comanditario ☐ General

☐ Apoderado
☐ Fiduciario
☐ Guardián o Curador
☐ Otro: _____

El Signatario representa a:
Revanche Therapeutics, Inc.

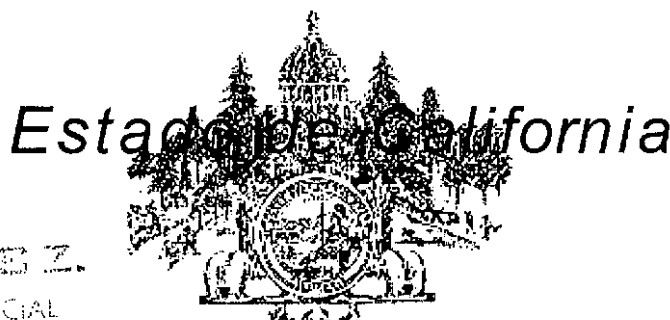
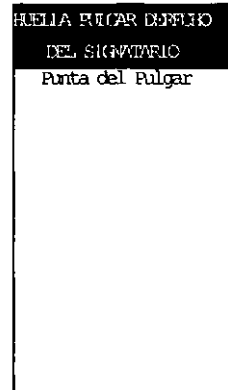


☐ Individuo
Funcionario _____
☐ Corporativo CARGO(S) INTERCAJURO NOTARIA

☐ Socio ☐ Comanditario ☐ General

☐ Apoderado
☐ Fiduciario
☐ Guardián o Curador
☐ Otro: _____

El Signatario representa a: _____



Diego F. Vazquez
DIEGO F. VAREZAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE FEBRERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

B

SECRETARIO DE ESTADO

Solicitado para uso en Colombia

No puede ser usado dentro de los Estados Unidos de América

El objeto de esta Apostilla es certificar la autenticidad de la firma del funcionario que suscribe el documento, la calidad en la cual dicho funcionario ha actuado y en caso de ser indicado, la identidad del sello o timbre.

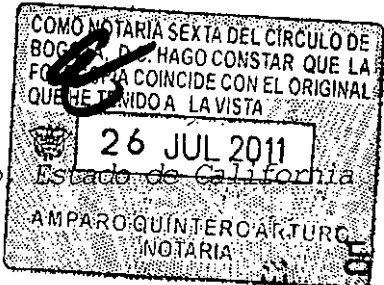
APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octubre 1961)

- 1. País: Estados Unidos de América
- Este documento público
- 2. ha sido firmado por Heidi Butler
- 3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de California
- 4. lleva el sello/estampilla de Heidi Butler, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

- 5. En Sacramento, California
- 6. El 4 de febrero de 2010
- 7. por el Suplente del Secretario de Estado
- 8. No. 778289
- 9. Sello/estampilla:



- 10. Firma
- Firma Ilegible
- Secretario de Estado

Por Firma ilegible

EL GRAN SELLO DEL ESTADO DE CALIFORNIA

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

Delaware
El Primer Estado

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

019483

Diego Vinas
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
AS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

BOGOTÁ, D.C. 21 JUL 2011 A LAS 11:04

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE
BOGOTÁ, D.C. HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCORIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA

26 JUL 2011

AMPARO QUINTERO ARTEURO
NOTARIA

14

YO, JEFFREY W. BULLOCK, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE LA SOCIEDAD "REVANCE THERAPEUTICS, INC." ESTÁ DEBIDAMENTE CONSTITUIDA DE CONFORMIDAD CON LAS LEYES DEL ESTADO DE DELAWARE Y CUMPLE CON SU OBJETO SOCIAL Y TIENE UNA EXISTENCIA LEGAL CORPORATIVA DE ACUERDO CON LO QUE MUESTRAN LOS ARCHIVOS DE ESTA OFICINA A VEINTIDÓS DE ABRIL DE 2010.

Y ADICIONALMENTE CERTIFICO QUE LOS DERECHOS DE LICENCIA HAN SIDO PAGADOS A LA FECHA.

Y ADICIONALMENTE CERTIFICO QUE LOS INFORMES ANUALES HAN SIDO PRESENTADOS HASTA LA FECHA.

3074007 8300

100413396



Firma ilegible

Jeffrey W. Bullock, Secretario de Estado

AUTENTICACIÓN: 7948992

FECHA: 04-22-10

Apostilla

(Convention de La Haye du 5 Oct 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público:

2. ha sido firmado por Jeffery W. Bullock
3. actuando en calidad de Secretario de Estado de Delaware
4. lleva el sello/estampilla de Secretario de Estado

Certificado

5. En Dover, Delaware
6. El veintidós de abril de 2010



Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

15

7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware

8. No. 0412740

9. Sello/estampilla:

10. Firma:



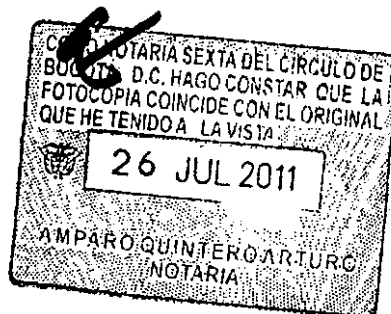
Secretario de Estado

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ\DVZ\ID-171339\WPCL002H\COLO 17580-841-001-3

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCCION E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES -- INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

SECRETARIA DE JUSTICIA
REVISIONES EXISTENTES
COPIA A 15 YAM 0005
BOGOTA D.C. 10 0700
BOGOTA D.C. 10 0700



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

019482

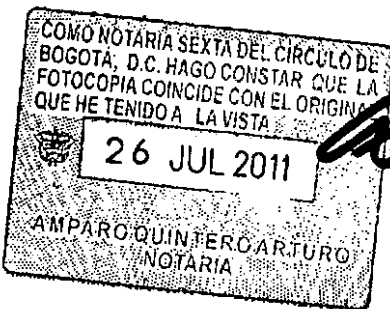
Dr. Vayas

CUYA FIRMA PARCE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
AS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2008 MAY 21 AM 1:03

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
8 July 2010 (08.07.2010)



PCT



(10) International Publication Number
WO 2010/078242 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 39/08 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/069576

(22) International Filing Date:
28 December 2009 (28.12.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/142,063 31 December 2008 (31.12.2008) US

(71) Applicant (for all designated States except US): RE-
VANCE THERAPEUTICS, INC. [US/US]; 7555 Gate-
way Boulevard, Newark, CA 94560 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): RUEGG, Curtls, L.
[US/US]; 826 Shepard Way, Redwood City, CA 94062
(US). STONE, Hongran, F. [US/US]; 1799 Croner Ave.,
Menlo Park, CA 94025 (US). WAUGH, Jacob, M. [US/
US]; 425 First Street, #1801, San Francisco, CA 94105
(US).

(74) Agent: ENG, Joseph D.; King & Spalding LLP, 1185
Avenue of the Americas, New York, NY 10036 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: INJECTABLE BOTULINUM TOXIN FORMULATIONS

(57) Abstract: This invention provides novel injectable compositions comprising botulinum toxin that may be administered to a subject for various therapeutic, aesthetic and/or cosmetic purposes. The injectable compositions contemplated by the invention exhibit one or more advantages over conventional botulinum toxin formulations, including reduced antigenicity, a reduced tendency to undergo unwanted localized diffusion following injection, increased duration of clinical efficacy or enhanced potency relative, faster onset of clinical efficacy, and/or improved stability.



WO 2010/078242 A1

17

FORMULACIONES INYECTABLES DE TOXINA BOTULÍNICA

SOLICITUD DE PATENTE RELACIONADA

[0001] Esta solicitud reclama el beneficio de prioridad bajo 35 U.S.C. § 119 a la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. 61/142,063, presentada el 31 de diciembre de 2008, cuyo contenido se incorpora en esta especificación por referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

[0002] Esta invención se refiere a composiciones inyectables novedosas que contienen toxina botulínica, las cuales pueden administrarse a un sujeto para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos.

ARTE PREVIO DE LA INVENCION

[0003] La piel protege los órganos del cuerpo de las amenazas ambientales externas y actúa como un termostato para mantener la temperatura corporal. Consta de varias capas diferentes, cada una con funciones especializadas. Las capas principales incluyen la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es una capa estratificante de células epiteliales que recubre la dermis, la cual se compone de tejido conectivo. Tanto la epidermis como la dermis se soportan además por la hipodermis, una capa interna de tejido adiposo.

[0004] La epidermis, la capa más superficial de la piel, tiene únicamente 0.1 a 1.5 milímetros de espesor (Inlander, Skin, New York, N.Y.: People's Medical Society, 1-7 (1998)). Se compone de queratinocitos y se divide en varias capas, basadas en su estado de diferenciación. La epidermis puede clasificarse además

en el stratum corneum y la epidermis viable, que consta de los queratinocitos basales y granulares (células de Malphigi). El stratum corneum es higroscópico y requiere por lo menos 10% de humedad en peso para mantener su flexibilidad y suavidad. La higroscopicidad es atribuible en parte a la capacidad de retención de agua de la queratina. Cuando la capa córnea pierde su suavidad y flexibilidad, se vuelve áspera y quebradiza, resultando en una piel seca.

[0005] La dermis, situada justo debajo de la epidermis, tiene un espesor de 1.5 a 4 milímetros. Es la más gruesa de las tres capas de la piel. La mayoría de las estructuras de la piel, incluyendo las glándulas sudoríparas y las glándulas sebáceas (que segregan sustancias a través de orificios en la piel llamados poros, o comedones), folículos pilosos, terminaciones nerviosas, y vasos sanguíneos y linfáticos se encuentran en la dermis (Inlander, Skin, New York, N.Y.: People's Medical Society, 1-7 (1998)). Sin embargo, los principales componentes de la dermis son el colágeno y la elastina.

[0006] La hipodermis es la capa más profunda de la piel. Actúa como un aislante para la conservación del calor corporal y como un amortiguador para la protección de los órganos (Inlander, Skin, New York, N.Y.: People's Medical Society, 1-7 (1998)). Adicionalmente, la hipodermis almacena también grasa para reservas de energía. El pH de la piel se encuentra normalmente entre 5 y 6. Esta acidez se debe a la presencia de aminoácidos anfotéricos, ácido láctico, y ácidos grasos de las secreciones de las glándulas sebáceas. El término "manto ácido" se refiere a la presencia de sustancias solubles en agua en la mayor parte de las regiones de la piel. La capacidad amortiguadora de pH de la piel se debe en parte a estas secreciones, almacenadas en la capa córnea de la piel.

[0007] Las arrugas, una de las señales reveladoras del envejecimiento, pueden ocasionarse por cambios bioquímicos, histológicos y fisiológicos que se acumulan del daño ambiental a la piel. (Benedetto, "International Journal of

Dermatology," 38:641-655 (1999)). Adicionalmente, existen otros factores secundarios que pueden causar pliegues, surcos y frunces característicos de las arrugas faciales (Stegman et al., The Skin of the Aging Face Cosmetic Dermatological Surgery, 2nd ed., St. Louis, Mo.: Mosby Year Book: 5-15 (1990)). Estos factores secundarios incluyen el estiramiento constante de la gravedad, la presión posicional frecuente y constante sobre la piel (v.g., durante el sueño) y los movimientos faciales repetidos, causados por la contracción de los músculos faciales (Stegman et al., The Skin of the Aging Face Cosmetic Dermatological Surgery, 2nd ed., St. Louis, Mo.: Mosby Year Book: 5-15 (1990)).

[0008] Diferentes técnicas se han utilizado con el fin de mitigar potencialmente los signos del envejecimiento. Estas técnicas van desde las cremas hidratantes faciales que contienen alfa hidroxácidos y retinol, hasta las intervenciones quirúrgicas y las inyecciones de neurotoxinas. Por ejemplo, en 1986, Jean y Alastair Carruthers, un equipo de marido y mujer, conformado por un cirujano oculoplástico y una dermatóloga, desarrollaron un método de usar la forma tipo A de toxina botulínica para el tratamiento de arrugas asociadas con el movimiento – en el área de la superficie lisa entre los arcos superciliares (glabella) (Schantz and Scott, In Lewis G. E. (Ed) Biomedical Aspects of Botulinum, New York: Academic Press, 143-150 (1981)). El uso de los Carruthers de la forma tipo A de toxina botulínica para el tratamiento de arrugas llevó a la publicación fundamental de este método en 1992 (Schantz and Scott, In Lewis G. E. (Ed) Biomedical Aspects of Botulinum, New York: Academic Press, 143-150 (1981)). Hacia 1994, el mismo equipo reportó experiencias con otras arrugas asociadas con el movimiento en la cara (Scott, *Ophthalmol*, 87:1044-1049 (1980)). Esto, a su vez, llevó al nacimiento de la era del tratamiento cosmético usando la forma tipo A de toxina botulínica.

[0009] Se divulga que la forma tipo A de toxina botulínica es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. Las esporas de *C. botulinum*

se encuentran en el suelo y pueden crecer en envases de alimentos sellados y esterilizados en forma inapropiada. El botulismo, que puede ser fatal, puede causarse por la ingestión de las bacterias. La toxina botulínica actúa para producir parálisis de los músculos, la cual impide la transmisión sináptica inhibiendo la liberación de acetilcolina a través de la unión neuromuscular, y se piensa que actúa en otras formas también. En esencia, su acción bloquea las señales que normalmente causarían espasmos o contracciones musculares, lo cual se traduce en parálisis. Durante la última década, la actividad paralizante de los músculos de la toxina botulínica se ha adaptado para lograr una variedad de efectos terapéuticos. La administración controlada de la toxina botulínica se ha utilizado para facilitar la parálisis muscular, con el fin de tratar una variedad de anomalías, por ejemplo, trastornos neuromusculares caracterizados por hiperactividad de los músculos esqueléticos. Los trastornos que se han tratado con toxina botulínica incluyen espasmo hemifacial, tortícolis espasmódica de aparición en adultos, fisura anal, blefaroespasma, parálisis cerebral, distonía cervical, jaquecas, estrabismo, trastorno de la unión temporomandibular y varios tipos de calambres y espasmos musculares. Más recientemente, los efectos paralizantes de los músculos de la toxina botulínica se han empleado en aplicaciones faciales cosméticas y terapéuticas, tales como el tratamiento de arrugas, líneas ocasionadas por fruncir el ceño y otros resultados de espasmos o contracciones de los músculos faciales.

[0010] Además de la forma tipo A de toxina botulínica, existen otras siete formas serológicamente distintas de toxina botulínica que son producidas igualmente por las bacterias gram-positivas *Clostridium botulinum*. De estos ocho tipos serológicamente distintos de toxina botulínica, las siete que pueden ocasionar parálisis se han designado como serotipos A, B, C, D, E, F y G de toxina botulínica. Cada uno de éstos se distingue por la neutralización con anticuerpos específicos del tipo. El peso molecular de cada una de las proteínas de toxina botulínica es alrededor de 150 kD. Debido al tamaño de la molécula y a la

21

estructura molecular de la toxina botulínica, no puede atravesar el stratum corneum y las múltiples capas de la arquitectura cutánea subyacente. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en el efecto y en la gravedad y duración de la parálisis que suscitan en diferentes especies animales. Por ejemplo, en ratas, se ha determinado que la toxina botulínica tipo A es 500 veces más potente que la toxina botulínica tipo B, medida por el índice de parálisis. Adicionalmente, se ha determinado que la toxina botulínica tipo B es no tóxica en primates en una dosis de 480 U/kg, alrededor de 12 veces la LD₅₀ de primate para el tipo A.

[0011] Como se libera por bacterias *Clostridium botulinum*, la toxina botulínica es un componente de un complejo de toxina que contiene la molécula de la proteína toxina botulínica de aproximadamente 150 kD, junto con proteínas asociadas no-toxina. Se cree que estas proteínas no-toxina endógenas incluyen una familia de proteínas hemaglutinina, así como proteínas no-hemaglutinina. Se ha publicado que las proteínas no-toxina estabilizan la molécula de toxina botulínica en el complejo de toxina y lo protegen contra la desnaturalización por ácidos digestivos cuando se ingiere el compuesto de toxina. Por consiguiente, las proteínas no-toxina del complejo de toxina protegen la actividad de la toxina botulínica y, con ello, mejoran la penetración sistémica cuando el complejo de toxina se administra a través del tubo digestivo. Adicionalmente, se cree que algunas de las proteínas no-toxina estabilizan específicamente la molécula de la toxina botulínica en la sangre.

[0012] La presencia de proteínas no-toxina los complejos de toxina hacen normalmente que los complejos de toxina tengan pesos moleculares que son mayores que el de la molécula de la toxina botulínica esencial, que es alrededor de 150 kD, como se indicó anteriormente. Por ejemplo, las bacterias *Clostridium botulinum* pueden producir complejos de toxina botulínica tipo A que tienen pesos moleculares de alrededor de 900 kD, 500 kD o 300 kD. Los tipos B y C de toxina

botulínica se producen como complejos que tienen un peso molecular de alrededor de 700 kD o alrededor de 500 kD. El tipo D de la toxina botulínica se produce como complejos que tienen pesos moleculares de alrededor de 300 kD o 500 kD. Los tipos E y F de la toxina botulínica se producen únicamente como complejos que tienen un peso molecular de alrededor de 300 kD.

[0013] Para proporcionar estabilidad adicional a la toxina botulínica, los complejos de toxina se estabilizan convencionalmente combinando los complejos con albúmina durante la fabricación. Por ejemplo, BOTOX® (Allergan, Inc., Irvine, CA) es una formulación con contenido de toxina botulínica que contiene 100 U de tipo A de toxina botulínica con proteínas accesorias, 0.5 miligramos de albúmina, y 0.9 miligramos de cloruro de sodio. La albúmina sirve para unir y estabilizar complejos de toxina en ambientes dispares, incluyendo los asociados con la fabricación, transporte, almacenamiento y administración.

[0014] Normalmente, la toxina botulínica se administra a pacientes por inyecciones cuidadosamente controladas de composiciones que contienen complejo de toxina botulínica y albúmina. Sin embargo, existen varios problemas asociados con esta estrategia. Las inyecciones no sólo son dolorosas, sino que, por lo general, localmente se generan grandes pozos subdérmicos de toxina alrededor de los sitios de inyección, con el fin de obtener el efecto terapéutico o cosmético deseado. La toxina botulínica puede migrar de estos pozos subdérmicos para causar parálisis indeseada en áreas circundantes del cuerpo. Este problema se agrava cuando el área por tratar es grande y se requieren muchas inyecciones de toxina para tratar el área. Más aún, debido a que los complejos de toxina inyectados contienen proteínas no-toxina y albúmina que estabilizan la toxina botulínica e incrementan el peso molecular del complejo de toxina, los complejos de toxina tienen una semi-vida prolongada en el cuerpo y pueden ocasionar una respuesta antigénica indeseable en el paciente. Por ejemplo, con el tiempo, algunos pacientes desarrollarán una alergia a la albúmina usada

como un estabilizante en formulaciones comerciales actuales. Además, los complejos de toxina pueden inducir al sistema inmunitario del paciente a formar anticuerpos neutralizantes, de manera que se requieren grandes cantidades de toxina en administraciones subsiguientes para obtener el mismo efecto. Cuando esto ocurre, las inyecciones subsiguientes tienen que aplicarse cuidadosamente de modo que no liberen una gran cantidad de toxina en el torrente sanguíneo del paciente, lo cual podría llevar a un envenenamiento sistémico fatal, especialmente puesto que las proteínas no-toxina y la albúmina estabilizan la toxina botulínica en la sangre.

[0015] En vista de las desventajas asociadas con las formulaciones actuales de toxina botulínica, sería altamente deseable disponer de una formulación inyectable de toxina botulínica que sea eficaz y estable, pero exhiba una antigenicidad reducida y una menor tendencia a difundirse localmente después de la inyección. Sería igualmente deseable usar tal formulación de toxina botulínica para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos.

SUMARIO DE LA INVENCION

[0016] Esta invención proporciona composiciones inyectables que contienen toxina botulínica asociada no covalentemente con una molécula transportadora cargada positivamente. En incorporaciones preferidas, las composiciones de la invención poseen una o más ventajas sobre las formulaciones comerciales convencionales de toxina botulínica, tales como BOTOX® o MYOBLOC®. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, las composiciones pueden exhibir una o más ventajas sobre las formulaciones convencionales inyectables de toxina botulínica, incluyendo antigenicidad reducida, una menor tendencia a experimentar difusión en el tejido circundante luego de la inyección, una mayor duración de la eficacia clínica o una potencia mejorada en relación con formulaciones convencionales de toxina botulínica, una

manifestación más rápida de la eficacia clínica y/o una estabilidad mejorada.

[0017] Un aspecto de esta invención es el reconocimiento de que ciertas moléculas no nativas (es decir, moléculas no encontradas en complejos de toxina botulínica obtenidos de bacterias *Clostridium botulinum*) pueden agregarse a la toxina botulínica, complejos de toxina botulínica y, en particular, complejos de toxina botulínica reducida (como se define en esta especificación) para mejorar la difusión de la toxina a través de los tejidos. Las moléculas no nativas se asocian no covalentemente con la toxina y actúan como potenciadores de penetración que mejoran la capacidad de la toxina de acceder a estructuras diana luego de la inyección. Además, las moléculas no nativas pueden aumentar la estabilidad de la toxina antes y después de la inyección. A modo de ejemplo, los potenciadores de penetración pueden ser transportadores cargados positivamente, tales como péptidos catiónicos, los cuales no tienen una actividad inherente tipo toxina botulínica y contienen además uno o más dominios de transducción de proteína, como se describe en esta especificación.

[0018] Otra incorporación de esta invención es proporcionar una composición que contiene toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica (o un complejo de toxina botulínica de proteína reducida que incluya precisamente la neurotoxina misma de 150 kD o la neurotoxina con algunas, mas no todas, de las proteínas de complejo nativas) y un transportador cargado positivamente.

[0019] La invención se refiere además a un método para producir un efecto biológico inyectando una cantidad efectiva de las composiciones de esta invención a un sujeto o paciente en necesidad de dicho tratamiento. El efecto biológico puede incluir, por ejemplo, parálisis muscular, reducción de la hipersecreción o sudoración, tratamiento de dolor neurológico o jaqueca, manejo de rinitis o sinusitis, tratamiento de la hiperactividad de la vejiga, reducción de espasmos musculares, prevención o reducción del acné, reducción o

mejoramiento de una respuesta inmunitaria, disminución de las arrugas, o prevención o tratamiento de varios otros trastornos.

[0020] Esta invención provee asimismo kits para preparar formulaciones que contienen una toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica, o complejo de la proteína toxina botulínica reducida y un transportador cargado positivamente, o una pre-mezcla que, a su vez, puede usarse para producir tal formulación. Se proveen asimismo kits que contienen medios para administrar secuencialmente un complejo de toxina botulínica (o un complejo de toxina botulínica reducida incluyendo precisamente la neurotoxina misma de 150 KD o la neurotoxina con algunas proteínas de complejo nativas) y un transportador cargado positivamente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figure 1: Un gráfico de barras que muestra el tiempo requerido para regresar al valor DAS de la situación inicial (0.4), luego de la administración repetida de uno cualquiera de RT003 o BOTOX®

Figure 2: Figura 2A muestra la pata trasera de un ratón inyectada con un colorante oscuro para indicar la porción del músculo gastrocnemio de un ratón que es afectado por una inyección lateral-a-línea media. Figura 2B muestra la pata trasera de un ratón inyectada con un colorante oscuro para indicar la porción del músculo gastrocnemio de un ratón, que es afectado por una inyección de la línea media.

Figure 3: Puntuaciones de abducción digital, medidas como una función del tiempo luego de la inyección de RT003, RTT150, o BOTOX® en una cualquiera de las porciones lateral-a-línea media o línea media del músculo gastrocnemio de un ratón.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0021] Esta invención se refiere a novedosas composiciones inyectables que contienen toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica, o un complejo de toxina botulínica reducida. En incorporaciones preferidas, las composiciones estabilizan la toxina o permiten el transporte o difusión de la toxina a través de los tejidos luego de la inyección, de tal manera que la toxina tenga antigenicidad reducida, un mejor perfil de seguridad, potencia mejorada, manifestación más rápida de la eficacia clínica y/o mayor duración de la eficacia clínica, comparadas con complejos comerciales convencionales de toxina botulínica unida a albúmina exógena (v.g., BOTOX® o MYOBLOC®). Las composiciones de la invención pueden usarse como aplicaciones inyectables para proporcionar una toxina botulínica a un sujeto, para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos, como se describe en esta especificación. Las composiciones de la invención tienen además un perfil de seguridad mejorado sobre las otras composiciones y métodos de liberación de la toxina botulínica. Adicionalmente, estas composiciones pueden deparar reducciones benéficas en las respuestas inmunitarias a la toxina botulínica.

[0022] El término "toxina botulínica", tal como se emplea en esta especificación, puede referirse a cualquiera de los tipos conocidos de toxina botulínica (v.g., moléculas de proteína toxina botulínica de 150 kD asociadas con los diferentes serotipos de *C. botulinum*), o bien producidos por la bacteria o bien por técnicas recombinantes, así como a cualquiera de aquellos tipos que puedan descubrirse con posterioridad, incluyendo serotipos recién descubiertos, y variantes creadas por técnicas de ingeniería genética o proteínas de fusión. Como ya se mencionó, actualmente se han caracterizado siete neurotoxinas botulínicas inmunológicamente distintas, a saber: los serotipos A, B, C, D, E, F y G de toxina botulínica, cada uno de los cuales se distingue por neutralización con

anticuerpos específicos del tipo. Los serotipos de toxina botulínica se encuentran disponibles en el comercio, por ejemplo, de Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo.) y de Metabionics, Inc. (Madison, Wis.), así como de otras fuentes. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en las especies animales a las que afectan y en la gravedad y duración de la parálisis que suscitan. Por lo menos dos tipos de toxina botulínica, los tipos A y B, se encuentran disponibles en el comercio en formulaciones para el tratamiento de ciertas anomalías. Tipo A, por ejemplo, está contenida en las preparaciones de Allergan, que tienen la marca registrada BOTOX®TM, y de Ipsen, que tienen la marca registrada DYSPORT®, y tipo B se encuentra contenida en las preparaciones de Elan, que tienen la marca registrada MYOBLOC®.

[0023] El término "toxina botulínica" empleado en las composiciones de esta invención puede referirse alternativamente a un derivado de toxina botulínica, es decir, un compuesto que posee actividad de toxina botulínica pero contiene una o más alteraciones químicas o funcionales en alguna parte o en alguna cadena de aminoácidos en relación con toxinas botulínicas nativas de ocurrencia natural o recombinantes. Por ejemplo, la toxina botulínica puede ser una neurotoxina modificada que es una neurotoxina que tiene por lo menos uno de sus aminoácidos eliminado, modificado o reemplazado, comparada con la forma nativa, o la neurotoxina modificada puede ser una neurotoxina producida recombinantemente o un derivado o fragmento de la misma. Por ejemplo, la toxina botulínica puede ser una que se ha modificado de una manera que, por ejemplo, mejora sus propiedades o disminuye efectos secundarios indeseables, pero que conserva todavía la actividad de toxina botulínica deseada. Alternativamente, la toxina botulínica usada en esta invención puede ser una toxina preparada empleando técnicas recombinantes o químicas sintéticas, v.g. un péptido recombinante, una proteína de fusión, o una neurotoxina híbrida, por ejemplo preparada de subunidades o dominios de diferentes serotipos de toxina botulínica (véase la Patente de los Estados Unidos No. 6,444,209, por ejemplo).

La toxina botulínica puede ser asimismo una porción de la molécula general que ha demostrado poseer la actividad de toxina botulínica necesaria y, en tal caso, puede usarse *per se* o como parte de una molécula de combinación o conjugado, por ejemplo una proteína de fusión. Alternativamente, la toxina botulínica puede estar en la forma de un precursor de toxina botulínica, el cual puede ser él mismo no tóxico, por ejemplo una proteasa de zinc no tóxica, que se vuelve tóxica con la escisión proteolítica.

[0024] El término "complejo de toxina botulínica" o "complejo de toxina", tal como se emplea en esta especificación, se refiere a la molécula de la proteína toxina botulínica de aproximadamente 150 kD (perteneciente a uno cualquiera de los serotipos A-G de toxina botulínica), junto con proteínas no-toxina endógenas asociadas (es decir, proteína hemaglutinina y proteína no-hemaglutidina, no-toxina, producida por bacterias *Clostridium botulinum*). Nótese, sin embargo, que el complejo de toxina botulínica no necesita derivarse de las bacterias *Clostridium botulinum* como un complejo unitario de toxina. Por ejemplo, toxina botulínica o toxina botulínica modificada puede prepararse recombinantemente primero y luego combinarse posteriormente con las proteínas no-toxina. De igual manera, la toxina botulínica recombinante puede adquirirse (v.g., de List Biological Laboratories, Campbell, Ca.) y luego combinarse con proteínas no-toxina.

[0025] Esta invención contempla también la modulación de la estabilidad de moléculas de toxina botulínica mediante la adición de uno o más estabilizantes exógenos, la eliminación de estabilizantes endógenos, o una combinación de las anteriores. Por ejemplo, esta invención contempla el uso de "complejos de toxina botulínica reducida", en el cual los complejos de toxina botulínica tienen cantidades reducidas de proteína no-toxina, comparadas con las cantidades encontradas naturalmente en complejos de toxina botulínica producida por bacterias *Clostridium botulinum*. En una incorporación, complejos de toxina botulínica reducida se preparan usando cualquier método convencional de

separación de proteínas para extraer una fracción de la proteína hemaglutinina o proteína no-hemaglutinina no-toxina de complejos de toxina botulínica derivada de bacterias *Clostridium botulinum*. Por ejemplo, complejos de toxina botulínica reducida pueden producirse disociando complejos de toxina botulínica mediante la exposición a glóbulos rojos con un pH de 7.3 (v.g., véase EP 1514556 A1, incorporada aquí por referencia). Pueden emplearse HPLC, diálisis, columnas, centrifugación, y otros métodos de extraer proteínas de proteínas. Alternativamente, cuando los complejos de toxina botulínica reducida tienen que producirse combinando toxina botulínica, producida sintéticamente, con proteínas no-toxina, se puede agregar simplemente menos hemaglutinina o proteína no-hemaglutidina no-toxina a la mezcla que la que estaría presente para complejos de toxina botulínica de ocurrencia natural. Cualquiera de las proteínas no-toxina (v.g., proteína hemaglutinina o proteína no-hemaglutidina no-toxina, o ambas) en los complejos de toxina botulínica reducida de acuerdo con la invención pueden reducirse independientemente en cualquier cantidad. En ciertas incorporaciones ejemplares, una o más proteínas no-toxina se reducen en por lo menos alrededor de 0.5%, 1%, 3%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100%, comparadas con las cantidades encontradas normalmente en complejos de toxina botulínica. Como ya se anotó, las bacterias *Clostridium botulinum* producen siete diferentes serotipos de toxina, y preparaciones comerciales se fabrican con cantidades relativas diferentes de proteínas no-toxina (es decir, cantidad diferente de complejos de toxina). Por ejemplo, MYOBLOC™ tiene 5000 U de toxina botulínica tipo B por ml con albúmina sérica humana al 0.05%, 0.01 M de succinato de sodio, y 0.1 M de cloruro de sodio. DYSPORT™ tiene 500 U de complejo toxina botulínica tipo A-hemaglutinina con 125 mcg de albúmina y 2.4 mg de lactosa. En ciertas incorporaciones, sustancialmente la totalidad de la proteína no-toxina (v.g., mayor que 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de la proteína hemaglutinina y la proteína no-hemaglutidina no-toxina) que se encontraría normalmente en complejos de toxina botulínica derivada de bacterias *Clostridium botulinum* se retira del complejo de toxina botulínica. Más aún, aunque la cantidad

de proteínas no-toxina endógenas puede reducirse en la misma cantidad en algunos casos, esta invención contempla igualmente reducir cada una de las proteínas no-toxina endógenas en diferentes cantidades, así como reducir por lo menos una de las proteínas no-toxina endógenas, pero no las otras.

[0026] Como se anotó anteriormente, por lo general se agrega un estabilizante exógeno (v.g., albúmina) para estabilizar las formulaciones de toxina botulínica. Por ejemplo, en el caso del BOTOX®, se agrega 0.5 mg de albúmina humana por 100 U de complejo de toxina botulínica tipo A para estabilizar el complejo. Generalmente, la cantidad de estabilizante exógeno que puede agregarse para estabilizar las composiciones de acuerdo con la invención no está particularmente limitada. En algunas incorporaciones, la cantidad de estabilizante agregado puede ser menor que la cantidad adicionada convencionalmente, debido a la capacidad de transportadores cargados positivamente de la invención de actuar como un estabilizante por su propio derecho. Por ejemplo, la cantidad de albúmina exógena agregada puede ser cualquier cantidad menor que el exceso convencional de tres órdenes de magnitud de albúmina exógena y, en ciertas incorporaciones ejemplares de la invención, es únicamente alrededor de 0.25, 0.20, 0.15, 0.10, 0.01, 0.005, 0.001, 0.0005, 0.00001, 0.000005, 0.000001, o 0.0000001 mg por 100 U de toxina botulínica. En una incorporación, no se agrega albúmina exógena como estabilizante a las composiciones de la invención.

[0027] De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que una molécula transportadora cargada positivamente, que tiene dominios de transducción de proteínas o grupos de eficiencia, como se describe en esta especificación, es apropiada como sistema de transporte para una toxina botulínica, permitiendo que la toxina se inyecte con penetración mejorada a estructuras diana tales como músculos y/o otras estructuras asociadas con la piel. El transporte ocurre sin modificación covalente de la toxina botulínica. Además de mejorar la penetración de la toxina botulínica, los transportadores cargados

positivamente de la invención, en ciertas incorporaciones preferidas, pueden estabilizar la toxina botulínica contra degradación. En tales incorporaciones, la proteína hemaglutinina y la proteína no-hemaglutidina, no-toxina, que están normalmente presentes para estabilizar la toxina botulínica pueden reducirse u omitirse completamente. De manera análoga, puede omitirse la albúmina exógena que se agrega normalmente durante la fabricación.

[0028] Mediante el uso de los términos "cargado positivamente" o "catiónico" en conexión con el término "transportador", se da a entender que el transportador tiene una carga positiva bajo por lo menos algunas condiciones de solución-fase, más preferiblemente bajo por lo menos algunas condiciones fisiológicamente compatibles. Más específicamente, "cargado positivamente" y "catiónico", tal como se emplea en esta especificación, significa que el grupo en cuestión contiene funcionalidades que están cargadas bajo todas las condiciones de pH, por ejemplo, una amina cuaternaria, o contiene una funcionalidad que puede adquirir una carga positiva bajo ciertas condiciones de solución-fase, tales como cambios de pH en el caso de aminas primarias. Más preferiblemente, "cargado positivamente" o "catiónico", tal como se emplea en esta especificación, se refieren a aquellos grupos que tienen el comportamiento de asociarse con aniones bajo condiciones fisiológicamente compatibles. Polímeros con una multiplicidad de fracciones cargadas positivamente no necesitan ser homopolímeros, como será evidente a una persona experta en el arte. Otros ejemplos de fracciones cargadas positivamente son bien conocidos en el arte previo y pueden emplearse fácilmente, como será evidente a las personas expertas en el arte.

[0029] Generalmente, el transportador cargado positivamente (también designado como una "cadena principal cargada positivamente") es normalmente una cadena de átomos, con grupos en la cadena que llevan una carga positiva con un pH fisiológico, o con grupos que llevan una carga positiva unida a cadenas

laterales que se extienden de la cadena principal. En ciertas incorporaciones preferidas, la cadena principal cargada positivamente es un péptido catiónico. Tal como se emplea en esta especificación, el término "péptido" se refiere a una secuencia de aminoácidos, pero no implica una connotación con respecto al número de residuos de aminoácido en la secuencia de aminoácidos. Por consiguiente, el término "péptido" puede abarcar igualmente polipéptidos y proteínas. En ciertas incorporaciones preferidas, la cadena principal cargada positivamente en sí no tendrá una actividad biológica terapéutica o enzimática. En ciertas incorporaciones, la cadena principal es una cadena principal de hidrocarburo lineal que, en algunas incorporaciones, se interrumpe por heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, azufre, silicio y fósforo. La mayoría de los átomos de la cadena principal son usualmente carbono. Adicionalmente, a menudo la cadena principal será un polímero de unidades repetitivas (v.g., aminoácidos, poli(etilenoxi), poli(propilenamina), polialquilenimina, y similares) pero puede ser un heteropolímero. En un grupo de incorporaciones, la cadena principal cargada positivamente es una polipropilenamina, en donde un número de los átomos de nitrógeno de la amina están presentes como grupos amonio (tetra-sustituidos) que llevan una carga positiva. En otra incorporación, la cadena principal cargada positivamente es un polímero no peptídico, el cual puede ser un hetero- u homopolímero tal como una polialquilenimina, por ejemplo una polietilenimina o polipropilenimina, que tiene un peso molecular de desde alrededor de 10.000 a alrededor de 2.500.000, preferiblemente desde alrededor de 100.000 a alrededor de 1.800.000, y muy preferiblemente desde alrededor de 500.000 a alrededor de 1.400.000. En otro grupo de incorporaciones, la cadena principal tiene unida una pluralidad de fracciones de cadena lateral que incluyen grupos cargados positivamente (v.g., grupos amonio, grupos piridinio, grupos fosfonio, grupos sulfonio, grupos guanidinio, o grupos amidinio). Las fracciones de cadena lateral en este grupo de incorporaciones pueden situarse en espaciamientos a lo largo de la cadena principal que son consistentes en separaciones, o variables. Adicionalmente, la

longitud de las cadenas laterales puede ser similar o disímil. Por ejemplo, en un grupo de incorporaciones, las cadenas laterales pueden ser cadenas de hidrocarburos lineales o ramificados 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, anotados anteriormente. La asociación entre el transportador cargado positivamente y la toxina botulínica es por interacción no covalente, cuyos ejemplos no limitantes incluyen interacciones iónicas, enlace de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, o combinaciones de las anteriores.

[0030] En un grupo de incorporaciones, la cadena principal cargada positivamente es un polipéptido que tiene múltiples grupos de cadenas laterales cargados positivamente (v.g., lisina, arginina, ornitina, homoarginina, y similares). Preferiblemente, el polipéptido tiene un peso molecular desde alrededor de 100 a alrededor de 1.500.000, más preferiblemente desde alrededor de 500 a alrededor de 1.200.000, muy preferiblemente desde alrededor de 1000 a alrededor de 1.000.000. Una persona experta en el arte observará que cuando se usan aminoácidos en esta porción de la invención, las cadenas laterales pueden tener la forma D o L (configuración R o S) en el centro de unión. En ciertas incorporaciones preferidas, el polipéptido tiene un peso molecular desde alrededor de 500 a alrededor de 5000, más preferiblemente desde 1000 a alrededor de 4000, más preferiblemente desde 2000 a alrededor de 3000.

[0031] Alternativamente, la cadena principal puede incluir análogos de aminoácido y/o aminoácidos sintéticos. La cadena principal puede ser igualmente 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)). En pocas palabras, un peptoide es una poliglicina en la cual la cadena lateral se une a los átomos de nitrógeno de la cadena principal en lugar de los

átomos de α -carbono. Como ya se indicó, una porción de las cadenas laterales terminará normalmente en un grupo cargado positivamente para proporcionar un componente de la cadena principal cargado positivamente. La síntesis de peptoides se describe, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 5,877,278, la cual se incorpora por este medio por referencia en su totalidad. Tal como el término se emplea en esta especificación, cadenas principales cargadas positivamente que tienen una construcción de cadena principal peptóide se consideran "no-péptido" ya que no están compuestos de aminoácidos que tienen cadenas laterales de ocurrencia natural en las ubicaciones α -carbono.

[0032] Puede usarse una variedad de otras cadenas principales empleando, por ejemplo, imitaciones estéricas o electrónicas de polipéptidos, en donde los enlaces amida del péptido se reemplazan con sustitutos tales como enlaces éster, grupos tioamidas (--CSNH--), tioamida inversa (--NHCS--), aminometileno (--NHCH₂--), o los grupos metilenamino inverso (-CH₂NH-), grupos ceto-metileno (--COCH₂--), fosfinato (--PO₂RCH₂--), fosfonamidato y éster de fosfonamidato (--PO₂RNH--), péptido inverso (--NHCO-), trans-alqueno (--CR=CH---), fluoroalqueno (--CF=CH--), dimetileno (--CH₂CH₂--), tioéter (--CH₂S--), hidroxietileno (--CH(OH)CH₂--), metilenoxi (--CH₂O--), tetrazol (CN₄), sulfonamido (--SO₂NH--), metilensulfonamido (--CHRSO₂NH--), sulfonamida inversa (--NHSO₂--), y cadenas principales con malonato y/o subunidades gem-diamino-alquilo, por ejemplo, como se reseña por Fletcher et al. ((1998) Chem. Rev. 98:763) y se detalla por las referencias citadas allí. Muchas de las anteriores substituciones resultan en cadenas principales poliméricas aproximadamente isoestéricas relativas a cadenas principales formadas de α -aminoácidos.

[0033] En cada una de las cadenas principales provistas más arriba, pueden incorporarse grupos de cadena lateral que portan un grupo cargado positivamente. Por ejemplo, las cadenas principales enlazadas a sulfonamida (--SO₂NH-- y --NHSO₂--) pueden tener grupos de cadena lateral unidos a los

átomos de nitrógeno. De manera similar, el enlace hidroxietileno ($--CH(OH)CH_2--$) puede llevar un grupo de cadena lateral unido al radical hidroxilo. Una persona experta en el arte puede adaptar fácilmente las demás químicas de enlace para proporcionar grupos de cadena lateral cargados positivamente, usando métodos sintéticos estándar.

[0034] En una incorporación, la cadena principal cargada positivamente es un polipéptido que tiene dominios de transducción de proteína (también conocidos como grupos de eficiencia). Tal como se emplea en esta especificación, un grupo de eficiencia o dominio de transducción de proteína es cualquier agente que tiene el efecto de promover la translocación de la cadena principal cargada positivamente a través de un tejido o membrana de una célula. Ejemplos no limitantes de dominios de transducción o grupos de eficiencia incluyen $-(gly)_{n1}-(arg)_{n2}$, HIV-TAT o fragmentos de los anteriores, o el dominio de transducción de proteína de Antennapedia, o un fragmento del mismo, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de desde 0 a 20, más preferiblemente 0 a 8, aún más preferiblemente 2 a 5, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero impar de desde alrededor de 5 a alrededor de 25, más preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 17, muy preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 13. En algunas incorporaciones, el fragmento HIV-TAT no contiene la región rica en cisteína de la molécula HIV-TAT, con el fin de minimizar los problemas asociados con la agregación de disulfuro. Aún más preferidas son aquellas incorporaciones en las cuales el fragmento HIV-TAT tiene la fórmula $(gly)_p-RGRDDRRQRRR-(gly)_q$, $(gly)_p-YGRKKRRQRRR-(gly)_q$ o $(gly)_p-RKKRRQRRR-(gly)_q$ en donde los subíndices p y q son cada uno independientemente un entero de desde 0 a 20, y el fragmento se une a la cadena principal mediante el término C o el término N del fragmento. En ciertas incorporaciones preferidas, p es uno y q es cero o p es cero y q es uno. Fragmentos HIV-TAT preferidos son aquellos en los cuales los subíndices p y q son cada uno independientemente enteros de desde 0 a 8, más preferiblemente 0 a 5. En otra incorporación preferida la cadena

lateral cargada positivamente o grupo de ramificación es el dominio de transducción de la proteína Antennapedia (Antp) (PTD - *protein transduction domain*), o un fragmento del mismo, que retiene actividad. Éstos son conocidos en el arte, por ejemplo, de Console et al., J. Biol. Chem. 278:35109 (2003), y un ejemplo no limitante de un PTD de Antp, contemplado por esta invención, es SGRQIKIWFQNRRMKWKKC.

[0035] Preferiblemente el transportador cargado positivamente incluye dominios de transducción de proteína cargados positivamente en una cantidad de por lo menos alrededor de 0.01%, como un porcentaje del peso total del transportador, preferiblemente desde alrededor de 0.01 a alrededor de 50 % en peso, más preferiblemente desde alrededor de 0.05 a alrededor de 45 % en peso, y muy preferiblemente desde alrededor de 0.1 a alrededor de 30 % en peso. Para dominios de transducción de proteína cargados positivamente, que tienen la fórmula $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, un rango preferido es desde alrededor de 0.1 a alrededor de 25%.

[0036] En otra incorporación, la porción de la cadena principal es una polilisina, y los dominios de transducción de proteína cargados positivamente se unen a los grupos amino de la cadena lateral de la lisina o a los términos C o N. En algunas incorporaciones preferidas, la polilisina puede tener un peso molecular que es por lo menos 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, o 6000 D, y menos que alrededor de 2.000.000, 1.000.000, 500.000, 250.000, 100.000, 75.000, 50.000, y 25.000 D. En el rango de 100 a 2.000.000 D, se contempla que el rango inferior y/o superior pueda aumentarse o disminuirse, respectivamente, en 100, siendo cada sub-rango resultante una incorporación específicamente contemplada de la invención. En algunas incorporaciones ejemplares, la polilisina tiene un peso molecular desde alrededor de 1.000 a alrededor de 1.500.000 D, desde alrededor de 2.000 a alrededor de 800.000 D, o desde alrededor de 3.000

a alrededor de 200.000 D. En otras incorporaciones ejemplares, la polilisina tiene un peso molecular desde alrededor de 100 a alrededor de 10.000 D, desde alrededor de 500 a alrededor de 5.000 D, desde alrededor de 1.000 a alrededor de 4.000 D, desde alrededor de 1.500 a alrededor de 3.500 D o desde alrededor de 2.000 a alrededor de 3.000 D. En algunas incorporaciones, la polilisina contemplada por esta invención puede ser cualquiera de las polilisinas disponibles en el comercio (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo., USA) 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. La selección de una polilisina apropiada dependerá de los componentes restantes de la composición y serán suficientes para proporcionar una carga positiva neta total a la composición y una longitud que es preferiblemente desde una a cuatro veces la longitud combinada de los componentes cargados negativamente. Dominios preferidos de transducción de proteína cargados positivamente o grupos de eficiencia incluyen, por ejemplo, -gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg (-Gly₃Arg₇) o HIV-TAT.

[0037] En otra incorporación preferida la cadena principal cargada positivamente es una polialquilenimina, cuyos ejemplos no limitantes incluyen polietilenimina, polipropilenimina, y polibutilenimina. En ciertas incorporaciones, la polialquilenimina tiene un peso molecular de por lo menos 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, o 6000 D, y menos de alrededor de 2.000.000, 1.000.000, 500.000, 250.000, 100.000, 75.000, 50.000, y 25.000 D. En el rango de 100 a 2.000.000 D, se contempla que el rango inferior y/o superior pueda aumentarse o disminuirse, respectivamente, en 100, siendo cada sub-rango resultante una incorporación específicamente contemplada de la invención.

[0038] En otras incorporaciones de esta invención, el transportador es una cadena principal de polilisina relativamente corta o de polietilenimina (PEI -

polyethyleneimine) (que puede ser lineal o ramificada) y que tiene grupos de ramificación cargados positivamente. Sin querer entrar en limitaciones teóricas, se cree que tales transportadores son útiles para minimizar la agregación incontrolada de las cadenas principales y la toxina botulínica en una composición terapéutica, que hace que la eficiencia de transporte disminuya dramáticamente. Cuando el transportador es una cadena principal de polilisina lineal relativamente corta o PEI, la cadena principal tendrá un peso molecular de menos de 75.000 D, más preferiblemente menos de 30.000 D, y muy preferiblemente, menos de 25.000 D. Cuando el transportador es una cadena principal de polilisina ramificada relativamente corta o PEI, sin embargo, la cadena principal tendrá un peso molecular de menos de 60.000 D, más preferiblemente de menos de 55.000 D, y muy preferiblemente de menos de 50.000 D.

[0039] En una incorporación particularmente interesante, las moléculas no nativas son péptidos catiónicos que no tienen actividad inherente tipo toxina botulínica y que contienen asimismo uno o más dominios de transducción de proteína, como se describe en esta especificación. Sin querer entrar en limitaciones teóricas científicas particulares de algún tipo, se cree que los péptidos mejoran la penetración del tejido de moléculas asociadas en el complejo después de la inyección, mejorando al mismo tiempo la estabilización de la toxina botulínica en la piel e *in vitro*. Se cree que la penetración mejorada del tejido, proporcionada por estos péptidos en particular depara una antigenicidad reducida, un mejor perfil de seguridad, potencia mejorada, manifestación más rápida de la eficacia clínica o duración más prolongada de la eficacia clínica, comparada con los complejos de toxina botulínica comerciales convencionales, que están unidos a la albúmina exógena (v.g., BOTOX® o MYOBLOC®).

[0040] En incorporaciones preferidas, la concentración de transportadores cargados positivamente en las composiciones de acuerdo con la invención es suficiente para mejorar la liberación de la toxina botulínica a dianas moleculares

tales como, por ejemplo, placas de nervios motores. Adicionalmente, sin querer entrar en limitaciones teóricas, se cree que la tasa de penetración sigue una cinética mediada por receptor, de manera que la penetración del tejido aumenta con cantidades crecientes de moléculas potenciadoras de la penetración hasta un punto de saturación, luego del cual la tasa de transporte se vuelve constante. Por consiguiente, en una incorporación preferida, la cantidad de moléculas agregadas, potenciadoras de la penetración es igual a la cantidad que maximiza la tasa de penetración justo antes de la saturación. Un rango útil de concentración para el transportador cargado positivamente en las composiciones inyectables de esta invención es alrededor de 0.1 pg a alrededor de 1.0 mg por unidad de la composición de toxina botulínica, como se describe en esta especificación. Más preferiblemente, el transportador cargado positivamente en las composiciones tópicas de la invención está presente en el rango de alrededor de 1.0 pg a 0.5 mg por unidad de toxina botulínica.

[0041] Las composiciones de esta invención están preferiblemente en una forma que permite la inyección en la piel o epitelio de sujetos o pacientes, (es decir, humanos u otros mamíferos en necesidad del tratamiento particular). El término "en necesidad" pretende incluir necesidades farmacéuticas o relacionadas con la salud (v.g., tratar enfermedades que implican espasmos musculares faciales indeseados), así como necesidades cosméticas y subjetivas (v.g., alterar o mejorar la apariencia del tejido facial). En incorporaciones preferidas, las composiciones se preparan mezclando la toxina botulínica (que contiene las proteínas no-toxina asociadas o proteínas no-toxina asociadas reducidas) con el transportador cargado positivamente y, usualmente, con uno o más transportadores o excipientes adicionales, farmacéuticamente aceptables. En su forma más simple, pueden contener un diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable, tal como una solución salina amortiguada (v.g., solución salina amortiguada con fosfato). No obstante, las composiciones pueden contener otros ingredientes encontrados normalmente en composiciones

farmacéuticas o cosméticas inyectables, incluyendo un transportador dermatológica o farmacéuticamente aceptable, vehículo o medio que sea compatible con los tejidos a los cuales se aplicará. El término "dermatológica o farmacéuticamente aceptable," tal como se emplea en esta especificación, significa que las composiciones o componentes de las mismas así descritas son apropiadas para uso en contacto con estos tejidos o para uso en pacientes en general sin toxicidad excesiva, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica, y similares. Según sea apropiado, las composiciones de la invención pueden contener cualquier ingrediente usado convencionalmente en los campos bajo consideración, y particularmente en cosmética y dermatología.

[0042] En términos de su forma, las composiciones de esta invención pueden incluir soluciones, emulsiones (incluyendo microemulsiones), suspensiones, geles, polvos, u otras composiciones líquidas o sólidas típicas usadas para inyección al músculo y otros tejidos en los que pueden emplearse las composiciones. En incorporaciones preferidas, las composiciones de la invención están presentes en formulaciones estériles, de baja viscosidad, apropiadas para inyección con una jeringa. Las composiciones de la invención pueden estar en la forma de un polvo liofilizado que se reconstituye usando un diluyente líquido farmacéuticamente aceptable antes de la inyección. En ciertas incorporaciones, el polvo liofilizado se reconstituye con un diluyente líquido para formar una formulación inyectable con una viscosidad de alrededor de 0.1 a alrededor de 2000 cP, más preferiblemente alrededor de 0.2 a alrededor de 500 cP, aún más preferiblemente alrededor de 0.3 a alrededor de 50 cP, y todavía más preferiblemente alrededor de 0.4 a alrededor de 2.0 cP. Las composiciones de la invención pueden contener, además de la toxina botulínica y un transportador cargado positivamente, otros ingredientes usados normalmente en tales productos, tales como antimicrobianos, agentes de hidratación, agentes de esponjamiento de tejido o agentes de relleno de tejido, preservantes, emulsionantes, aceites sintéticos o naturales, disolventes, surfactantes,

detergentes, agentes de gelificación, antioxidantes, agentes de carga, espesantes, polvos, agentes de control de viscosidad y agua, e incluir, opcionalmente, anestésicos, activos anti-pruríticos, extractos botánicos, agentes acondicionadores, minerales, polifenoles, siliconas o derivados de los anteriores, vitaminas, y especialidades fito-farmacéuticas.

[0043] Las composiciones inyectables de acuerdo con esta invención pueden estar en la forma de composiciones de liberación controlada o liberación sostenida, que comprenden toxina botulínica y un transportador cargado positivamente, encapsulados o contenidos en otra forma en un material, de tal modo que se liberen en el tejido en una manera controlada en el transcurso del tiempo. La composición que comprende la toxina botulínica y un transportador cargado positivamente puede estar contenida en matrices, liposomas, vesículas, microcápsulas, microesferas y similares, o en material particulado sólido, la totalidad de los cuales se selecciona y/o construye para facilitar la liberación de la toxina botulínica en el tiempo. La toxina botulínica y el transportador cargado positivamente pueden encapsularse juntos (es decir, en la misma cápsula) o separadamente (es decir, en cápsulas separadas).

[0044] Las formulaciones de toxina botulínica de acuerdo con la invención pueden aplicarse por inyección (normalmente usando una jeringa) a músculos que subyacen a la piel, o a estructuras glandulares en la piel, en una cantidad efectiva para producir parálisis, producir relajación, aliviar contracciones, prevenir o aliviar espasmos, disminuir la producción glandular, u otros efectos deseados. La aplicación local de la toxina botulínica en esta manera podría deparar reducciones en la dosificación, disminuir la toxicidad y permitir optimización más precisa de la dosificación para efectos deseados relativos a materiales implantables o inyectables.

[0045] Las composiciones de la invención se administran para liberar una

cantidad efectiva de la toxina botulínica. El término "cantidad efectiva", tal como se emplea en esta especificación, significa una cantidad de una toxina botulínica, como ya se definió, que es suficiente para producir la parálisis muscular deseada u otro efecto biológico o estético, pero que implícitamente es una cantidad segura, es decir, una que es lo suficientemente baja para evitar efectos secundarios serios. Los efectos deseados incluyen la relajación de ciertos músculos con el propósito, por ejemplo, de disminuir la aparición de líneas finas y/o arrugas, especialmente en la cara, o ajustar la apariencia facial en otros modos tales como dilatar los ojos, levantar las comisuras de la boca, o suavizar las líneas que se despliegan en abanico del labio superior, o el alivio general de la tensión muscular. Este último efecto, alivio general de la tensión muscular, puede efectuarse en la cara o en cualquier otro lugar. Las composiciones de la invención pueden contener una cantidad efectiva apropiada de la toxina botulínica para aplicación como un tratamiento de dosis única, o pueden ser más concentradas, para dilución en el lugar de administración o para uso en aplicaciones múltiples. Gracias al uso del transportador cargado positivamente de esta invención, una toxina botulínica puede administrarse por inyección a un sujeto para tratar anomalías tales como arrugas, espasmos indeseados de los músculos faciales u otros espasmos musculares, hiperhidrosis, acné, o anomalías en alguna otra parte del cuerpo, en la cual se desea alivio del dolor muscular o espasmos. La toxina botulínica se administra por inyección a músculos o a otras estructuras tisulares diana o asociadas con la piel. La administración puede hacerse, por ejemplo, a las piernas, hombros, espalda (incluyendo la región lumbar), axila, palmas de la mano, pies, cuello, cara, ingle, dorsos de las manos o pies, codos, brazos, rodillas, piernas, nalgas, torso, pelvis, o cualesquiera otras partes del cuerpo donde se desea la administración de la toxina botulínica.

[0046] La administración de las composiciones inyectables que contienen la toxina botulínica de esta invención puede llevarse igualmente a cabo para tratar otras afecciones, incluyendo cualquier enfermedad para la cual la

43

prevención de la transmisión sináptica o la liberación de acetilcolina conferiría un beneficio terapéutico. Por ejemplo, las afecciones que podrían tratarse por las composiciones de acuerdo con la invención incluyen, sin limitación, dolor neurológico, jaqueca u otro dolor de cabeza, hiperactividad de la vejiga, rinitis, sinusitis, acné, distonía, contracciones distónicas (subjetivas o clínicas), hiperhidrosis (subjetiva o clínica), e hipersecreción de una o más glándulas controladas por el sistema nervioso colinérgico. Las composiciones de esta invención pueden usarse asimismo para reducir o mejorar la respuesta inmunitaria, o tratamiento de otras anomalías para las cuales se ha sugerido o realizado la administración de toxina botulínica por inyección.

[0047] Muy preferiblemente, las composiciones se administran por o bajo la dirección de un médico u otro profesional de cuidado de la salud. Pueden administrarse en un tratamiento único o en una serie de tratamientos en el tiempo. En incorporaciones preferidas, una composición de acuerdo con la invención se inyecta en un sitio o sitios en donde se desea un efecto asociado con la toxina botulínica. Debido a su naturaleza, la toxina botulínica se administra preferiblemente en una cantidad, posología, y frecuencia que producirán el resultado deseado, sin ocasionar resultados adversos o indeseados de algún tipo. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, las composiciones de la invención se aplican con una posología de desde alrededor de 1 U a alrededor de 20.000 U, y más preferiblemente desde alrededor de 1 U a alrededor de 10.000 U de toxina botulínica por cm^2 de superficie cutánea. Pueden emplearse dosis más altas en estos rangos, por ejemplo, en situaciones en las que la toxina botulínica se administra en conjunción con materiales de liberación controlada, como se describe en esta especificación. En ciertas incorporaciones, las formulaciones de toxina botulínica de la invención se administran para proporcionar 1 a 400 U, más preferiblemente 10 a 350 U, aún más preferiblemente 30 a 250 U y muy preferiblemente 50 a 200 U de toxina botulínica por cada inyección.

[0048] Esta invención contempla asimismo el uso de una variedad de dispositivos de aplicación para inyectar a través de la piel composiciones que contienen toxina botulínica, descritas en esta especificación. Tales dispositivos pueden incluir, sin limitación, una aguja y jeringa, o pueden incluir dispositivos más sofisticados capaces de dispensar y monitorear la administración de la composición y, opcionalmente, monitorear el estado del sujeto en uno o más aspectos (v.g., monitoreando la reacción del sujeto a las sustancias que se están dispensando).

[0049] En algunas incorporaciones, las composiciones pueden pre-formularse y/o pre-cargarse en un dispositivo de administración como tal. De igual manera, esta invención contempla incorporaciones en donde las composiciones se proveen en un kit que almacena uno o más componentes separadamente de los componentes restantes. Por ejemplo, en ciertas incorporaciones, la invención provee un kit que almacena separadamente toxina botulínica y el transportador cargado positivamente para combinar en el momento de la aplicación o antes de ella. La cantidad de transportador cargado positivamente o la relación de concentración de estas moléculas a la toxina botulínica dependerá de qué transportador se escoge para uso en la composición en cuestión. La cantidad o relación apropiada de molécula transportadora en un caso dado puede determinarse fácilmente, por ejemplo, conduciendo uno o más experimentos tales como los descritos a continuación.

[0050] En general, la invención contempla además un método para administrar toxina botulínica (alternativamente como complejos de toxina botulínica o complejos de toxina botulínica reducida) a un sujeto o paciente en necesidad de ello, en el cual se administra una cantidad efectiva de toxina botulínica en conjunción con un transportador cargado positivamente, como se describe en esta especificación. Por "en conjunción con" se da a entender que los dos componentes (toxina botulínica y transportador cargado positivamente) se

45

administran en un procedimiento de combinación, que puede involucrar combinarlos ambos antes de la administración a un sujeto, o administrarlos separadamente, pero en una manera tal que actúen conjuntamente para facilitar la administración requerida de una cantidad efectiva de la proteína terapéutica. Por ejemplo, una composición que contiene el transportador cargado positivamente puede administrarse primero a la piel del sujeto, seguida por la aplicación de un parche cutáneo, jeringa, u otro dispositivo que contiene la toxina botulínica. La toxina botulínica puede almacenarse en forma seca en una jeringa u otro dispositivo dispensador, y el transportador cargado positivamente puede inyectarse antes de aplicación de la toxina, de manera que los dos actúen conjuntamente, resultando en la potenciación deseada de la penetración del tejido. En ese sentido, en consecuencia, las dos sustancias (transportador cargado positivamente y toxina botulínica) actúan en combinación o probablemente interactúan para formar una composición o combinación *in situ*. Por lo tanto, la invención incluye asimismo un kit con un dispositivo para dispensar toxina botulínica y un líquido, gel, o similar que contiene el transportador cargado positivamente, y que es apropiado para inyección a la piel o tejido diana de un sujeto. Kits para administrar las composiciones de la invención, bajo la dirección de un profesional del cuidado de la salud o por el paciente o sujeto, pueden incluir también un aplicador personalizado apropiado para ese propósito.

[0051] Las composiciones de esta invención son apropiadas para uso en ambientes fisiológicos con un pH que varía desde alrededor de 4.5 a alrededor de 6.3, y puede tener por consiguiente tal pH. Las composiciones de acuerdo con esta invención pueden almacenarse a temperatura ambiente o bajo condiciones refrigeradas.

[0052] Se entiende que los siguientes ejemplos e incorporaciones descritas en esta especificación son para propósitos ilustrativos únicamente y que varias

46

modificaciones o cambios a la luz de los mismos se sugerirán a las personas expertas en el arte y tienen que incluirse en el espíritu y alcance de esta solicitud y el ámbito de las reivindicaciones anexas. Todas las publicaciones, patentes, y solicitudes de patente citadas en esta especificación se incorporan por este medio por referencia en su totalidad para todos los propósitos.

EJEMPLO 1

Duración de la Parálisis Muscular Local en un Modelo Murino.

[0053] Este ejemplo compara la duración de la parálisis muscular local en ratones inyectados con RT003 o BOTOX®. RT003 es una formulación inyectable ejemplar de acuerdo con la invención, que contiene toxina botulínica tipo A (purificada para eliminar todas las proteínas no-toxina endógenas) y un transportador cargado positivamente con la secuencia RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRR. El BOTOX® contiene igualmente toxina botulínica tipo A, pero se agrega albúmina exógena para estabilizar la molécula de toxina botulínica tipo A.

[0054] La parálisis muscular se midió usando el ensayo de puntuación de la abducción digital (DAS - *digit abduction score*) como se divulga por Aoki, K.R. en "A comparison of the safety margins of botulinum neurotoxin serotypes A, B, and F in mice", Toxicon 2001; 39(12):1815-1820. En el ensayo DAS, un ratón se suspende brevemente por su cola para producir una respuesta característica de sobresalto, en la cual el ratón extiende sus miembros posteriores y separa sus dígitos posteriores. La medida en la cual el ratón es capaz de exhibir esta respuesta de sobresalto se califica en una escala de cinco puntos (de 0-4), representando cero una respuesta normal de sobresalto y representando cuatro la reducción máxima en la abducción de los dígitos y extensión de las patas. La calificación se hace por un observador sin conocimiento de la medida en la cual el ratón en cuestión se ha tratado con neurotoxina. Se determinó que la puntuación

47

de la línea de referencia usando el ensayo DAS era 0.4 para una población no tratada de animales.

[0055] El estudio divulgado en este ejemplo incluyó diez animales (5 ratones en el grupo RT003 y 5 ratones en el grupo BOTOX®). Cada uno de los animales se inyectó tres veces con la respectiva formulación de toxina botulínica (es decir., RT003 o BOTOX®), con un período de 40 días entre cada dosificación. Luego de la inyección, se contó el número de días que todos los animales en cada grupo de estudio estuvieron por encima de la línea de referencia 0.4 del ensayo DAS. Los resultados, mostrados en FIG. 1, indican que la puntuación del ensayo DAS para el grupo tratado con RT003 permaneció por encima del valor de línea de referencia 0.4 durante 25, 22, y 21 días, luego del primero, segundo y tercer tratamiento, respectivamente. En contraste, la puntuación del ensayo DAS para el grupo tratado con BOTOX® permaneció por encima del valor de la línea de referencia 0.4 durante 11, 8, y 11 días, luego del primero, segundo y tercer tratamiento, respectivamente.

[0056] Estos datos del ensayo DAS indican que la parálisis muscular local causada por la formulación RT003 dura aproximadamente dos veces tanto como la parálisis muscular local causada por BOTOX®. Este resultado tiene implicaciones importantes para usos terapéuticos de RT003 y otros compuestos inyectables que contienen toxina botulínica de acuerdo con la invención. En particular, usando composiciones inyectables de acuerdo con la invención, se puede reducir significativamente la frecuencia de inyecciones de seguimiento requeridas para mantener un efecto terapéutico o cosmético particular causado por la toxina botulínica. A su vez, la frecuencia reducida de aplicación puede resultar en una mejor eficacia a largo plazo, ya que el sujeto es menos propenso a desarrollar anticuerpos contra la toxina botulínica.

EJEMPLO 2**Formulaciones Inyectables de Toxina botulínica con un Perfil Mejorado de Seguridad**

[0057] Durante las últimas décadas, la toxina botulínica ha encontrado uso como agente terapéutico para tratar una variedad de anomalías, incluyendo arrugas, hiperhidrosis, y espasmos musculares. No obstante, como la toxina botulínica es la toxina más potente de ocurrencia natural conocida por los humanos, la administración inadecuada de la toxina puede ser sumamente peligrosa. Por ejemplo, la aplicación sistémica accidental de toxina botulínica puede llevar a parálisis, dificultad respiratoria, e incluso la muerte. Más aún, incluso si la toxina botulínica se administrara adecuadamente a una región localizada del cuerpo como parte de un tratamiento terapéutico, la toxina tiene una tendencia natural a difundirse en el transcurso del tiempo, aumentando así el riesgo de parálisis indeseada en otras parte del cuerpo. Por ejemplo, cuando para tratar arrugas se inyecta toxina botulínica alrededor de los ojos, ésta puede difundirse a los músculos que controlan el movimiento de los párpados. Si esto ocurre, los músculos del párpado pueden paralizarse parcialmente, llevando a una anomalía bien conocida como "caída de los párpados," en la cual el párpado se cierra parcialmente e interfiere la visión normal.

[0058] Un aspecto de esta invención es proveer formulaciones inyectables de toxina botulínica con un perfil mejorado de seguridad, comparadas con formulaciones comerciales de toxina botulínica disponibles actualmente. En incorporaciones preferidas, las formulaciones inyectables de toxina botulínica tienen una tendencia reducida a difundirse después de la inyección. De este modo, ciertas formulaciones preferidas de la invención permiten una administración más exacta de la toxina botulínica, reduciendo dramáticamente efectos secundarios indeseados, asociados con una difusión local incontrolada de

toxina botulínica.

[0059] Este ejemplo divulga un estudio comparativo de la tendencia de la toxina botulínica en varias formulaciones a difundirse luego de la inyección. El estudio involucraba tres formulaciones de toxina botulínica: (1) BOTOX®; (2) RT003, una solución estabilizada y amortiguada que contenía la molécula de toxina botulínica tipo A de 150 kD, asociada no covalentemente con un transportador cargado positivamente que tiene la fórmula RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRR; y (3) RTT150, que es idéntico a la formulación RT003, excepto que no contiene el transportador cargado positivamente presente en RT003.

[0060] El músculo gastrocnemio de cada uno de los ratones utilizados en el estudio se inyectó con una de las formulaciones de toxina botulínica mencionadas anteriormente, en la porción lateral-a-línea media del músculo (Figura 2A), o en la porción de línea media del músculo (Figura 2B). Se realizaron ensayos DAS en cada uno de los ratones durante cuatro días después de la inyección con la toxina botulínica para determinar si la toxina botulínica de la respectiva formulación exhibía alguna tendencia a difundirse del músculo gastrocnemio hacia las garras traseras del ratón. De los ensayos DAS, cualquier capacidad de los animales de prueba para separar sus dígitos posteriores se interpretaba como un indicio de difusión de la toxina botulínica.

[0061] Figura 3 muestra los resultados de los ensayos DAS realizados luego de inyectar los animales de prueba con las diferentes formulaciones de toxina botulínica, como se describe más arriba. Nótese que las puntuaciones de abducción digital se agrupan en dos racimos, correspondientes a si la inyección fue en la porción de línea media o lateral-a-línea media del músculo gastrocnemio. Las puntuaciones DAS, generalmente más bajas para las inyecciones en la línea media, comparadas con las puntuaciones DAS para inyecciones laterales-a-línea media, indican que el grado de parálisis en las garras posteriores de los animales

de prueba es generalmente menor luego de la inyección de la línea media. Sin querer entrar en limitaciones teóricas, se cree que este comportamiento resulta de la mayor distancia que la toxina botulínica tiene que recorrer para alcanzar los dígitos posteriores de un animal de prueba luego de la inyección de la línea media, comparada con la inyección lateral-a-línea media. Se cree que esta mayor distancia de recorrido requerida por la toxina botulínica disminuye la probabilidad de parálisis de los dígitos posteriores.

[0062] Figura 3 muestra una puntuación de abducción digital de cero durante todos los cuatro días luego de la inyección de la línea media de la formulación RT003. Este resultado indica que la toxina botulínica en la formulación RT003 permanece localizada en la porción de línea media del músculo gastrocnemio luego de una inyección y que no ocurre difusión que cause parálisis en la escala de tiempo del experimento. En contraste, puntuaciones de abducción digital por encima de la línea de referencia DAS 0.4 se observan luego de la inyección de las formulaciones de RTT150 y BOTOX®, siendo la puntuación DAS promedio más alta para la formulación de BOTOX®. Los resultados DAS para las formulaciones de RTT150 y BOTOX® indican que la parálisis de los dígitos posteriores de los animales de prueba se apreció después de la inyección de estas formulaciones en la línea media, observándose un mayor grado de parálisis después de la inyección de la formulación de BOTOX®. Estos datos sugieren que las moléculas de toxina botulínica en las formulaciones de RTT150 y BOTOX® son capaces de difundirse localmente después de la inyección, con un mayor grado de difusión local para las moléculas de toxina botulínica en la formulación de BOTOX®.

[0063] Figura 3 muestra asimismo que la parálisis de los dígitos posteriores se observa para todos los animales de prueba luego de la inyección lateral-a-línea media, sin considerar la formulación específica de toxina botulínica. Como ya se discutió, se cree que este mayor grado de parálisis luego de la inyección lateral-a-

51

línea media, comparada con la inyección de la línea media, se relaciona con una menor distancia de recorrido para la toxina botulínica a las garras posteriores de los animales de prueba. No obstante, aunque todas las tres formulaciones de toxina botulínica exhiben difusión causante de parálisis luego de la inyección lateral-a-línea media, el grado de parálisis en animales de prueba inyectados con RT003 es menor, en promedio, que el grado de parálisis observado para las formulaciones de RTT150 y BOTOX® durante la escala de tiempo del experimento. Por consiguiente, los datos del ensayo DAS correspondientes a la inyección lateral-a-línea media son cualitativamente similares a los de la inyección de la línea media en que muestran una tendencia disminuida para difusión local de toxina botulínica para la formulación de RT003, comparada con RTT150 y BOTOX®.

[0064] Una comparación de la tasa de difusión local luego de la inyección de la línea media y la inyección lateral-a-línea media puede hacerse considerando un parámetro denominado el "índice de difusión", el cual se define de acuerdo con la Ecuación (1):

$$\text{Índice de difusión} = \frac{\text{Puntuación de abducción digital línea media}}{\text{Puntuación de abducción digital lateral-a-línea media}} \times 100. \quad (I)$$

Puesto que las puntuaciones de abducción digital pueden variar desde 0 a 4, y se espera que las puntuaciones de abducción digital lateral-a-línea media sean más altas que las puntuaciones de abducción digital de línea media (como se discutió anteriormente), los valores del índice de difusión variarán normalmente desde 0 a 100. Un valor del índice de difusión que se aproxime a 100 indica que la relación de las puntuaciones de abducción digital de línea media y lateral-a-línea media se aproxima a la unidad. Esto puede ocurrir si las tasas de difusión, luego de la inyección, son lo suficientemente y los tiempos de difusión para que la toxina botulínica alcance y paralice los dígitos posteriores del animal de prueba luego de

la inyección de línea media y lateral-a-línea media son comparables o casi los mismos. En el otro extremo, valores del índice de difusión que se aproximan a cero indican que la relación de las puntuaciones de abducción digital de línea media y lateral-a-línea media se está aproximando a cero. Esto puede ocurrir si la difusión de la toxina botulínica luego de la inyección de la línea media es tan baja que es insuficiente para causar parálisis en los dígitos posteriores de los animales de prueba, incluso aún cuando se observa parálisis luego de la inyección lateral-a-línea media.

[0065] Tabla 1 muestra valores del índice de difusión calculados usando puntuaciones de abducción digital luego de la inyección de línea media o lateral-a-línea media de BOTOX®, RT003, y RTT150, como se reportan en el experimento correspondiente a Figura 3. En la escala de tiempo del experimento, los valores del índice de difusión correspondientes a la inyección de la formulación de BOTOX® son más altos que los valores observados para las formulaciones de RTT150 y RT003. Esto indica que, para la inyección de la formulación de BOTOX®, la relación de las puntuaciones de abducción digital de línea media y lateral-a-línea media están más cercanas a la unidad, comparadas con las relaciones observadas para las formulaciones RTT150 y RT003. Puesto que la toxina botulínica tiene que difundirse aún más para causar parálisis de los dígitos posteriores de un animal de prueba luego de la inyección de la línea media, la observación de que la relación de las puntuaciones de abducción digital de línea media y lateral-a-línea media luego de la inyección de BOTOX® está más cercana a la unidad sugiere que la tasa de difusión de la toxina botulínica luego de la inyección de la línea media de BOTOX® es bastante sustancial en relación con la tasa luego de la inyección lateral-a-línea media. En otras palabras, el aumento en la longitud de la ruta de difusión, asociada con la inyección de la línea media no es una barrera para causar parálisis de los dígitos posteriores.

[0066] En contraste, los valores del índice de difusión para RT003 son

Generar Anticuerpos

[0068] Cuando la toxina botulínica se inyecta periódicamente en un paciente para tratar una anomalía indeseada tal como arrugas, se observa a menudo que la eficacia de la toxina botulínica disminuye con inyecciones sucesivas, aún cuando la duración de los efectos de la toxina botulínica pueda permanecer la misma. Se cree que este fenómeno es el resultado de la formación de anticuerpos contra la toxina botulínica por el sistema inmunitario del paciente. Desde una perspectiva del tratamiento, la formación de anticuerpos contra la toxina botulínica por el paciente es indeseable, porque entonces se requieren dosis cada vez más crecientes de toxina botulínica para lograr el mismo efecto, lo cual plantea serios problemas relacionados tanto con la seguridad como con el costo.

[0069] En ciertas incorporaciones, esta invención provee formulaciones inyectables de toxina botulínica que tienen una tendencia disminuida a inducir la formación de anticuerpos, comparadas con formulaciones inyectables de toxina botulínica comerciales disponibles actualmente. Por consiguiente, es estas incorporaciones, las formulaciones de toxina botulínica ayudan a minimizar el riesgo asociado con la inyección de toxina botulínica permitiéndole a una persona, en el transcurso del tiempo, utilizar menos toxina para conseguir el mismo efecto.

[0070] En este ejemplo, los datos del ensayo DAS obtenidos después de inyecciones repetidas de RT003 y BOTOX®, como se describe en Ejemplo 2, se analizan como una función del tiempo para determinar cómo la eficacia de estas dos formulaciones cambia luego de la administración repetida a los mismos animales de prueba. Generalmente, luego de la administración repetida de una cualquiera de las dos formulaciones, la duración de los efectos asociados con la toxina botulínica fueron los mismos. No obstante, el grado de parálisis muscular luego de la administración repetida varió dependiendo de la formulación. Para

SS

cuantificar el cambio en el grado de parálisis muscular, la variación porcentual en las puntuaciones de abducción digital luego de la inyección de uno cualquiera de RT003 o BOTOX® se determinó de acuerdo con la Ecuación (2):

$$\% \text{ variación en DAS} = \frac{\text{DAS para el tratamiento enésimo} - \text{DAS para el primer tratamiento}}{\text{DAS para el primer tratamiento}} \times 100\% \quad (2)$$

Puesto que el numerador de la Ecuación (2) es la diferencia entre las puntuaciones de abducción digital medidas para el tratamiento enésimo y el primer tratamiento, la variación porcentual en DAS será negativa si la puntuación de abducción digital medida para el tratamiento enésimo es menor que la puntuación de abducción digital medida para el primer tratamiento. En otras palabras, la variación porcentual en DAS es negativa cuando se observa menos parálisis después del tratamiento enésimo, comparado con el primer tratamiento. Tabla 2 muestra la variación porcentual en los valores DAS medidos luego de la administración repetida de las formulaciones RT003 y BOTOX®, de acuerdo con el procedimiento descrito en Ejemplo 2.

Tabla 2: Variación Porcentual en el Valor DAS luego de la Administración Repetida de RT003 y BOTOX®

	1 ^{er.} tratamiento	1 ^{er.} retratamiento	2 ^{do.} retratamiento
RT003	0%	0%	-30%
BOTOX®	0%	-44%	-67%

[0071] Como se indica en la Tabla 2, después del primer retratamiento, la variación porcentual en la puntuación de abducción digital fue -44% para la formulación de BOTOX®, lo cual sugiere una caída sustancial en la eficacia. En

contraste, la variación porcentual en la puntuación de abducción digital para la formulación de RT003 fue cero, indicando que la puntuación DAS después del segundo retratamiento fue la misma que luego de la administración inicial y el primer retratamiento. Este resultado indica que el grado de parálisis observado después del primer retratamiento de RT003 es el mismo que el grado de parálisis luego del primer tratamiento y que la insignificante formación de anticuerpos neutralizantes ocurrió en los animales de prueba incluso después del primer retratamiento. Luego del 2^{do}. retratamiento de RT003 y BOTOX®, las variaciones porcentuales calculadas en los valores DAS fueron negativas para ambas formulaciones, aunque la magnitud de la variación porcentual en los valores DAS para la formulación de RT003 fue la mitad del valor determinado para BOTOX®. La variación porcentual mayor y negativa en los valores DAS observados para BOTOX® sugiere que los animales de prueba tenían una tasa más elevada de generación de anticuerpos contra BOTOX®, comparado con RT003. Por consiguiente, estos datos indican que las formulaciones contempladas por esta invención, tales como RT003, pueden tener una menor tendencia a inducir la formación de anticuerpos que neutralizan el efecto de la toxina botulínica. Por consiguiente, este resultado sugiere que, usando las formulaciones contempladas por esta invención, una persona puede, con el tiempo, utilizar menos toxina botulínica para alcanzar el mismo efecto terapéutico.

EJEMPLO 4

Formulaciones Inyectables de Toxina Botulínica con Estabilidad Mejorada

[0072] Este ejemplo demuestra que las moléculas transportadoras cargadas positivamente, usadas en las formulaciones inyectables de toxina botulínica de la invención, no sólo mejoran el perfil de seguridad de las formulaciones (Ejemplo 2), sino que mejoran además su estabilidad. La Tabla 3 muestra los resultados de experimentos de envejecimiento en donde las

57

formulaciones RT003 y RTT150 se envejecen a 4 °C (RT003 únicamente) y a 40 °C (RT003 y RTT150) durante varios intervalos de tiempo. Luego de envejecer a las temperaturas especificadas durante los tiempos especificados, se midió la potencia de las formulaciones RT003 y RTT150 mediante una serie de estudios de la LD₅₀ IP (intraperitoneal) en ratón. Los resultados, resumidos en la Tabla 3, indican que la potencia de RT003 permanece esencialmente sin modificación luego del envejecimiento a 4 °C, incluso después de seis meses. Más aún, la potencia de la formulación de RT003, medida por la capacidad de la formulación de matar los animales diana en un estudio LD₅₀ IP en ratones, disminuye tan sólo ligeramente incluso si la formulación de RT003 se envejece a temperatura elevada (40 °C) durante seis meses. Por contraste, la formulación de RTT150 exhibió una disminución significativa en la potencia luego de únicamente un mes de envejecimiento a 40 °C. Puesto que las formulaciones de RT003 y RTT150 son idénticas, con la excepción de que la formulación de RT003 contiene también una molécula transportadora cargada positivamente que tiene la fórmula RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRR, estos datos indican que la molécula transportadora cargada positivamente mejora la estabilidad de la toxina botulínica en la formulación de RT003.

Tabla 3: Resultados del Estudio LD₅₀ IP en Ratones luego del Envejecimiento de RT003 y RTT150 en Varias Condiciones

	Condición (°C)	Tiempo (meses)	% Diana
RT003	4	0	100%
	4	6	118%
	40	6	93%
RTT150	40	1	<50%

58

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un método de administrar toxina botulínica para conseguir un efecto terapéutico o cosmético a un individuo en necesidad de ello, método que comprende
 - inyectar una cantidad efectiva de una composición en el individuo para conseguir un efecto terapéutico o cosmético,
 - en donde la composición contiene
 - un transportador cargado positivamente que incluye una cadena principal cargada positivamente con una pluralidad de grupo de eficiencia unidos a ésta,
 - un complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica, y
 - en donde el transportador cargado positivamente se asocia no covalentemente con el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida o toxina botulínica se obtiene de los serotipos A, B, C, D, E, F, o G de *C. botulinum*.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cadena principal cargada positivamente incluye un poliaminoácido.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el poliaminoácido se selecciona del grupo conformado por polilisina, poliarginina, polihistidina, y poliornitina.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los grupos de

eficiencia incluyen una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por $(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT o fragmentos de los anteriores, el dominio de transducción de proteína de Antennapedia, o un fragmento del mismo, $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$ o $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$, y SGRQIKIWFQNRRMKWKKC;

en donde el subíndice $n1$ es un entero desde 0 a 20, el subíndice $n2$ es independientemente un entero impar desde alrededor de 5 a alrededor de 25, más preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 17, muy preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 13; y

en donde los subíndices p y q son cada uno independientemente enteros de desde 0 a 8.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente estabiliza la toxina botulínica contra degradación.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente reduce la difusión local de la toxina botulínica luego de la inyección.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente tiene la secuencia de aminoácidos RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRR.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición tiene una tendencia reducida a la generación de anticuerpos luego de la inyección en el cuerpo del sujeto, comparada con BOTOX®.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el efecto cosmético es tratamiento de arrugas.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el efecto terapéutico es reducción de un síntoma asociado con un trastorno seleccionado del grupo conformado por espasmo hemifacial, torcicolis espasmódica de manifestación en adultos, fisura anal, blefaroespasmo, parálisis cerebral, jaquecas, estrabismo, trastorno de la unión temporomandibular, dolor neurológico, hiperactividad de la vejiga, rinitis, sinusitis, acné, distonía, contracciones distónicas, hiperhidrosis, e hipersecreción de una glándula controlada por el sistema nervioso colinérgico.
12. Un método de preparar la formulación inyectable de toxina botulínica, método que comprende
 - proveer una cantidad efectiva de un complejo de toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica reducida, o una toxina botulínica;
 - proveer un transportador cargado positivamente que incluye una cadena principal cargada positivamente que tiene una pluralidad de grupos de eficiencia unidos a ésta;
 - combinar el complejo de toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica con el transportador cargado positivamente y un diluyente farmacéuticamente aceptable.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica se obtiene del serotipo A, B, C, D, E, F, o G de *C. botulinum*.
14. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la cadena principal cargada positivamente incluye un poliaminoácido.
15. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el poliaminoácido se selecciona del grupo conformado por polilisina, poliarginina, polihistidina, y poliornitina.

61

16. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde los grupos de eficiencia son una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por (gly)_{n1}-(arg)_{n2}, HIV-TAT o fragmentos de los anteriores, el dominio de transducción de proteína de Antennapedia, o un fragmento del mismo, (gly)_p-RGRDDRRQRRR-(gly)_q, (gly)_p-YGRKKRRQRRR-(gly)_q o (gly)_p-RKKRRQRRR-(gly)_q, and SGRQIKIWFQNRMRMKWKKC;
en donde el subíndice _{n1} es un entero desde 0 a 20, el subíndice _{n2} es independientemente un entero impar desde alrededor de 5 a alrededor de 25, más preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 17, muy preferiblemente alrededor de 7 a alrededor de 13; y
en donde los subíndices _p y _q son cada uno independientemente enteros de desde 0 a 8.
17. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente estabiliza la toxina botulínica contra degradación.
18. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente reduce la difusión local de la toxina botulínica luego de la inyección.
19. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el transportador cargado positivamente tiene la secuencia de aminoácidos RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRR.
20. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición tiene una tendencia reducida a la generación de anticuerpos luego de la inyección en el cuerpo del sujeto, comparada con BOTOX®.
21. Una composición inyectable estéril que contiene

una cantidad efectiva de un complejo de toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica reducida, o una toxina botulínica; y

un transportador cargado positivamente que incluye una cadena principal cargada positivamente que tiene una pluralidad de grupos de eficiencia unidos a ésta;

en donde el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica se asocia no covalentemente con el transportador cargado positivamente.

22. Una jeringa que incluye

una cantidad efectiva de un complejo de toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica reducida, o una toxina botulínica; y

un transportador cargado positivamente que incluye una cadena principal cargada positivamente que tiene una pluralidad de grupos de eficiencia unidos a ésta;

en donde el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica se asocia no covalentemente con el transportador cargado positivamente.

23. Una composición reconstituida de toxina botulínica que contiene

una cantidad efectiva de un complejo de toxina botulínica, un complejo de toxina botulínica reducida, o una toxina botulínica; y

un transportador cargado positivamente que incluye una cadena

63

WO 2010/078242

PCT/US2009/069576

principal cargada positivamente que tiene una pluralidad de grupos de eficiencia unidos a ésta; y

un diluyente líquido acuoso farmacéuticamente aceptable,

en donde el complejo de toxina botulínica, complejo de toxina botulínica reducida, o toxina botulínica se asocia no covalentemente con el transportador cargado positivamente,

y en donde la composición reconstituida de toxina botulínica tiene una viscosidad en el rango de alrededor de 0.4 a alrededor de 2.0 cP.

RESUMEN

Esta invención proporciona composiciones inyectables novedosas con contenido de toxina botulínica, que pueden administrarse a un sujeto para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos. Las composiciones inyectables contempladas por la invención exhiben una o más ventajas sobre las formulaciones convencionales de toxina botulínica, incluyendo antigenicidad reducida, una menor tendencia a experimentar difusión localizada indeseada luego de la inyección, una mayor duración de la eficacia clínica o potencia mejorada relativa, manifestación más rápida de la eficacia clínica, y/o estabilidad mejorada.

65

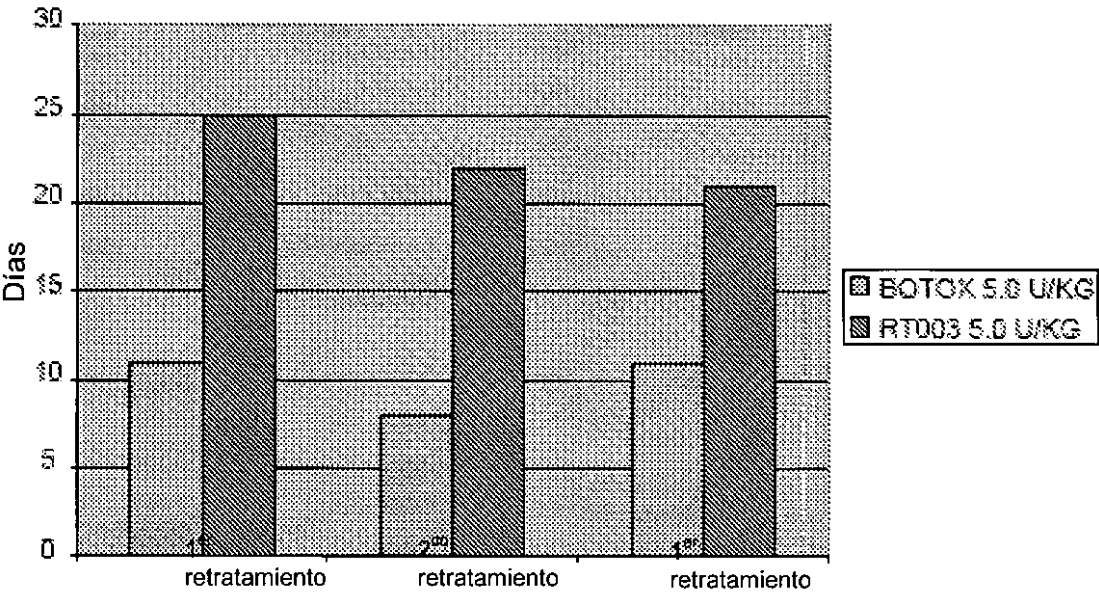
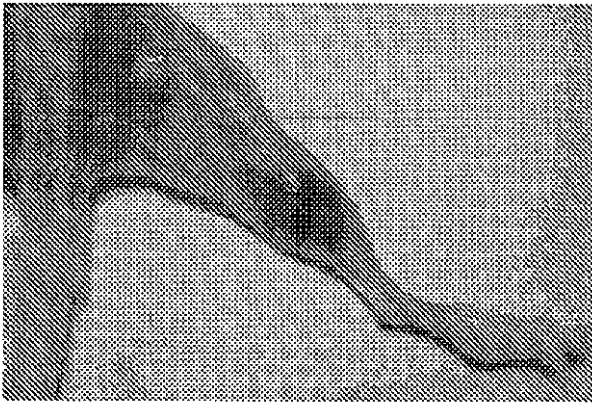
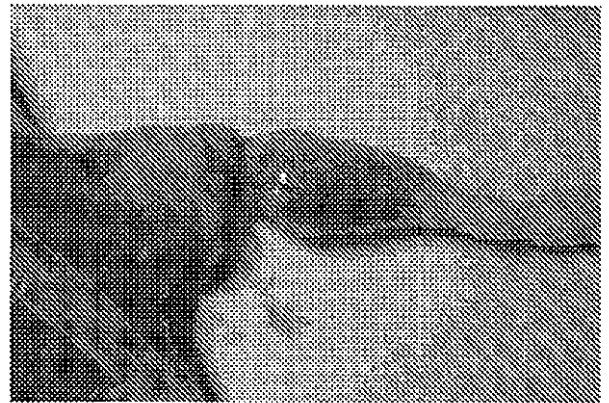


FIGURA 1

66



Inyección lateral a línea media
(A)



Inyección de línea media
(B)

FIGURA 2

67

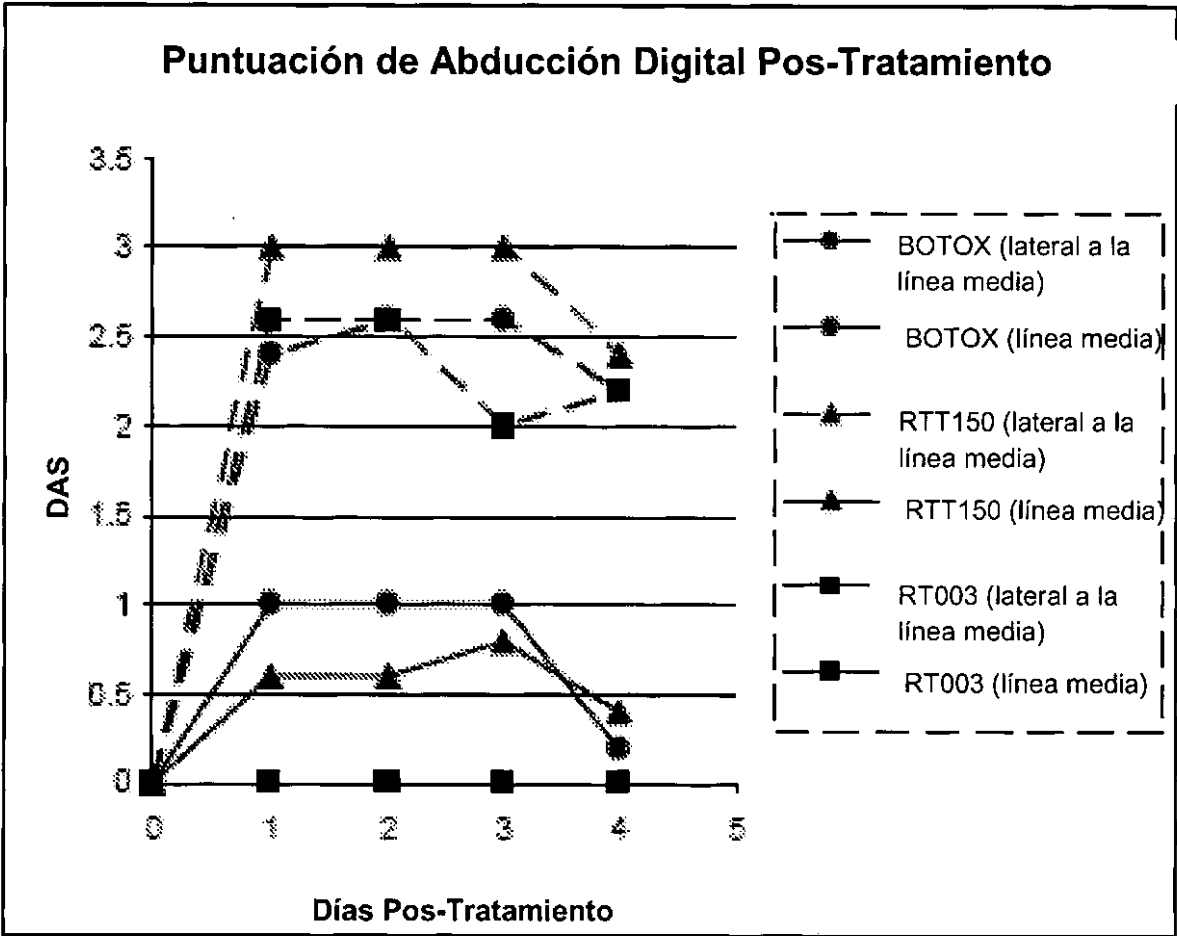


FIGURA 3

Listado de secuencias en formato txt.TXT
LISTADO DE SECUENCIAS

<110> REVANCE THERAPEUTICS, INC.

<120> FORMULACIONES INYECTABLES DE TOXINA BOTULÍNICA

<130> 13720-105131

<140> PCT/US2009/ 069576

<141> 2009-12-28

<150> 61/142,063

<151> 2008-12-31

<160> 7

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 45

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido Sintético

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<220>

<221> misc_feature

<222> (21)..(45)

<223> Esta región puede abarcar cualquier entero agregado de 5 a 25
residuos

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
20 25 30

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
35 40 45

<210> 2

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus de inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(51)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Arg Gly Arg Asp Asp Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly
50

<210> 3

<211> 51

<212> PRT

<213> Virus de inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(51)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<400> 3

70

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Gly
 50

<210> 4

<211> 49

<212> PRT

<213> Virus de inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(49)

<223> Esta región puede abarcar 0 a 20 residuos

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> Desconocido

<220>

<223> Descripción del Desconocido: Secuencia de Antennapedia

<400> 5

Ser Gly Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp
 1 5 10 15

Lys Lys Cys

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido
 sintético

<400> 6

Gly Gly Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10

<210> 7

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido
 Sintético

<400> 7

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Lys Lys Lys Lys Lys Lys
 1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln
 20 25 30

Arg Arg Arg
 35

72

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 09/69576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 39/08 (2010.01)

USPC - 424/247.1

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(8) - A61K 39/08 (2010.01)

USPC - 424/247.1

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
424/236.1, 239.1, 185.1, 184.1, 234.1; 530/300

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WEST - DB=PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB; PLUR=YES; OP=ADJ; Google Scholar

Search terms: botulinum toxin, botox, polylysine, polyarginine, polyhistidine, polyornithine, amino acid, carrier, adjuvant, positiv\$, stable, stabiliz\$, polylysine, polyarginine, polyhistidine, polyornithine, HIV-TAT, \$GRDDRRQRR\$, \$GRKKRRQR\$, \$KRRRQRR\$, \$QIKIWFQNR

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2008/0107690 A1 (DAKE et al.) 08 May 2008 (08.05.2008) para [0015]-[0017]; [0020]; [0037]; [0038]; [0043]; [0046]-[0052]; [0054]; [0055]; [0064]; [0100]; [0105]; [0122].	1-22
Y		23
Y	US 2006/0210614 A1 (QUAY et al.) 21 September 2006 (21.09.2006) para [0016]; [0018].	23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

02 March 2010 (02.03.2010)

Date of mailing of the international search report

09 MAR 2010

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

(21) N° de solicitud:					(51) Int Cl: A61K 039/008
22) Fecha de solicitud:					(71) Solicitante(s) REVANCE THERAPEUTICS, INC.
(30) Prioridad	(31) Prioridad	(32) Fecha	(33) País		(72) Inventor(es) CURTIS L. RUEGG Y OTROS
	61/142,063	31/12/2008	US		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 31/07/2011					(87) Publicación internacional
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT					Fecha: 08/07/2010
Fecha de presentación de la solicitud: 28/12/2009					N° publicación: WO 2010/078242 A1
No. de solicitud PCT/US2009/069576					
(54) Titulo: FORMULACIONES INYECTABLES DE TOXINA BOTULÍNICA					

Resumen:

Esta invención proporciona composiciones inyectables novedosas con contenido de toxina botulínica, que pueden administrarse a un sujeto para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos. Las composiciones inyectables contempladas por la invención exhiben una o más ventajas sobre las formulaciones convencionales de toxina botulínica, incluyendo antigenicidad reducida, una menor tendencia a experimentar difusión localizada indeseada luego de la inyección, una mayor duración de la eficacia clínica o potencia mejorada relativa, manifestación más rápida de la eficacia clínica, y/o estabilidad mejorada.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0069575

Bogotá D.C., Julio 18 de 2011 - 16:48:56

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	182169982	18/07/2011	41.083.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78



No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 77

COD: 15869-841-006-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Julio 18 de 2011 - 16:49:15

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
-/-

75



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0071473

Bogotá D.C., Julio 25 de 2011 - 16:38:15

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	185802120	25/07/2011	47.698.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	14.000.00	14.000.00
				\$14.000.00
=====				

SON: **CATORCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

CCO: 15861-841-006-2

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: Info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Julio 25 de 2011 - 16:38:27

76

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0071516
		Bogotá D.C., Julio 25 de 2011 - 16:38:15

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS	NI 860.041.367
---------------------------------	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	185802120	25/07/2011	47.698.000.00

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	5 TRAMITES DE SOL. DE MODELO DE UTILIDAD	335.000.00	335.000.00
				\$335.000.00
			=====	

SON: **TRESCIENTOS TREINTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674- -00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Act. 411 PRESENTACION Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 78

COD: 15861-841-006-8

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

77



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0071579

Bogotá D.C., Julio 25 de 2011 - 16:38:15

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	185802120	25/07/2011	47.698.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. LINDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	1.000.00	1.000.00
				\$1.000.00

SON: **MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

No. 11-094674-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 77

COW: 15861-841-006-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Julio 25 de 2011 - 16:38:32

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0071580

Bogotá D.C., Julio 25 de 2011 - 16:38:15

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	185802120	25/07/2011	47.698.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	1.000.00	1.000.00
				\$1.000.00

SON: **MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-094674- -00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

No. 11-094674- -00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 77

COW: 15861-847-006-8

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Julio 25 de 2011 - 16:38:32



No. 11-094674.-00000-0000

Fecha: 2011-07-28 11:02:49 Dep. 2020 DIR.NUEVASOR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Act. 411 PRESENTACION Folios: 78

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIAPATENTE DE INVENCION ☐MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐