



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Organización CSA Ltda



Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

DVN
NOV

07-103543

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

COMPOSICIONES Y METODOS PARA APLICACION TOPICA

Y SUMINISTRO TRANSDERMICO DE UN OLIGOPEPTIDO

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

REVANCE THERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO

CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

85



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-103543- -00000-0000

Fecha: 2007-10-03 16:56:37 Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION Folios: 124

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL 3/10

1

☒ Patente de Invención.

☒ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ 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: 2400 Bayshore Parkway,
Suite 100,
Mountain View,
California 94043,
Estados Unidos de América

Domicilio: Mountain View,
California,
Estados Unidos de América

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

C.E. ☐

NIT ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE

O APODERADO

Nombre: **EMILIO FERRERO**

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. ☒

C.E. ☐

NIT ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 438.019 T.P 31.929

4

INVENTOR (ES)

(72)

1. **Michael D. DAKE**
665 Gerona Road,
Stanford, California 94305,
Estados Unidos de América

2. **Jacob M. WAUGH**
4020 El Camino Real #116,
Mountain View, California 94040,
Estados Unidos de América

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2006/007600

Publicación Internacional No. WO 2006/094193 A3

Fecha: 3 de marzo de 2006

Fecha: 8 de septiembre de 2006

6

Título (54)

COMPOSICIONES Y METODOS PARA APLICACION TOPICA
Y SUMINISTRO TRANSDERMICO DE UN OLIGOPEPTIDO

7

Clasificación Internacional (51)

C07K 007/000

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

US

3 de marzo de 2005

60/658,741

9

Comprobante de pago No.:

07-74,952

Fecha: 17 de septiembre de 2007

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 482.000.oo.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ 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: EMILIO FERRERO

FIRMA : *Emilio Ferrero*
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2006/094193 A3

Descripción:

Páginas 27 en el idioma original

Páginas 45 en español

Reivindicaciones: Número (s) 68

Figuras: Número (s) 2

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.
3. ☒ Listado de Secuencias.
4. ☒ Extracto de publicación.

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

787 -15861 4
737

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Harriet Smith Windsor

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

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

Certified

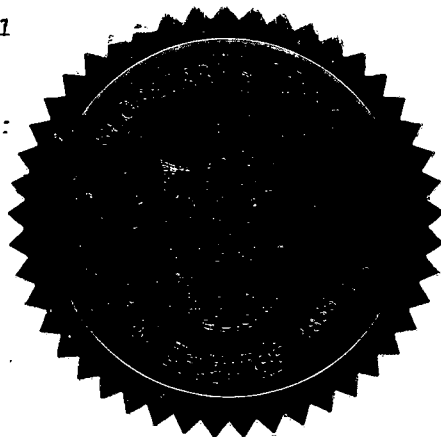
5. at Dover, Delaware

6. the fourteenth day of February, A.D. 2007

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0307721

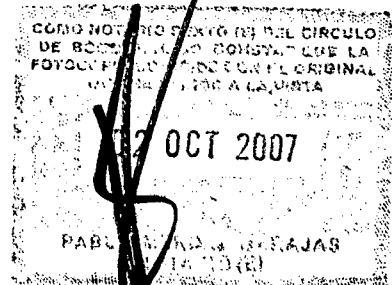
9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Harriet Smith Windsor

Secretary of State

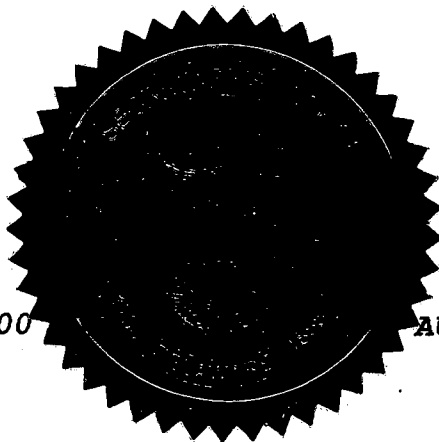
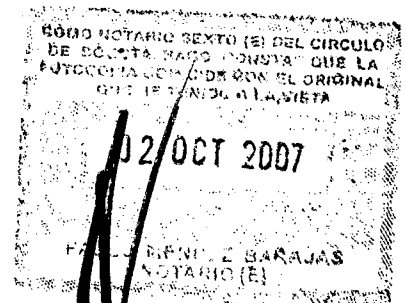


Delaware

PAGE 1

The First State

I, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY THE ATTACHED IS A TRUE AND CORRECT COPY OF THE CERTIFICATE OF AMENDMENT OF "ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.", CHANGING ITS NAME FROM "ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC." TO "REVANCE THERAPEUTICS, INC.", FILED IN THIS OFFICE ON THE NINETEENTH DAY OF APRIL, A.D. 2005, AT 1:19 O'CLOCK P.M.



Harriet Smith Windsor

Harriet Smith Windsor, Secretary of State

3074007 8100

AUTHENTICATION: 5434111

070170493

DATE: 02-14-07

**CERTIFICATE OF AMENDMENT OF
AMENDED AND RESTATED CERTIFICATE OF INCORPORATION OF
ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.**

L. Daniel Browne hereby certifies that:

FIRST: The date of filing of the original Certificate of Incorporation of this corporation with the Secretary of State of the State of Delaware was August 10, 1999.

SECOND: He is the duly elected and acting President of ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC., a Delaware corporation (the "Corporation").

THIRD: The Board of Directors of the Corporation, acting in accordance with the provisions of Sections 141 and 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware, adopted resolutions amending its Amended and Restated Certificate of Incorporation as follows:

Article I shall be amended and restated to read in its entirety as follows:

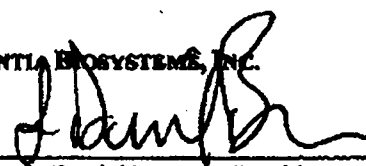
"The name of this company is REVANCE THERAPEUTICS, INC. (the "Company" or the "Corporation")."

FOURTH: Thereafter, pursuant to a resolution of the Board of Directors, this Certificate of Amendment was submitted to the stockholders of the Corporation for their approval, and was duly adopted in accordance with the provisions of Sections 228 and 242 of the General Corporation Law of the State of Delaware.

FIFTH: All other provisions of the Amended and Restated Certificate of Incorporation shall remain in full force and effect.

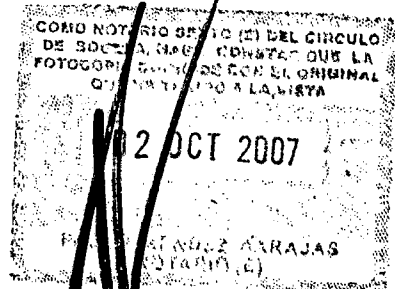
IN WITNESS WHEREOF, the Corporation has caused this Certificate of Amendment to be signed by its President this 19th day of April 2005.

ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.

By: 

L. Daniel Browne, President

519908 v1/HN
b55w011.DOC



State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

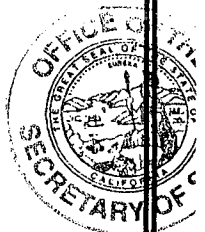
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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

CERTIFIED

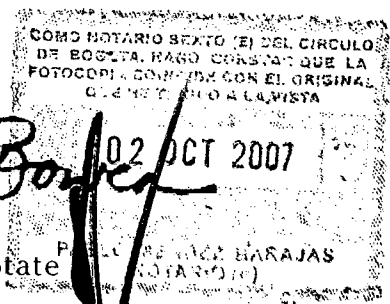
5. At Sacramento, California
6. the 8th day of January 2007
7. by Deputy Secretary of State, State of California
8. No. 340934
9. Seal/Stamp:

10. Signature



Rose Shea

Secretary of State



CALIFORNIA ALL-PURPOSE ACKNOWLEDGMENT

State of California

County of Santa Clara

On 12-12-06 before me, Rose Shea, Notary Public

personally appeared Daniel Browne

personally known to me

(or 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.



Place Notary Seal Above

WITNESS my hand and official seal.

Rose Shea

Signature of Notary Public

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: Power of Attorney

Document Date: 12-12-06 Number of Pages: 1

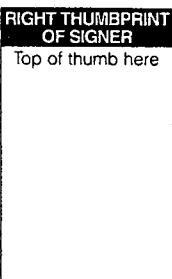
Signer(s) Other Than Named Above: 0

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name:

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

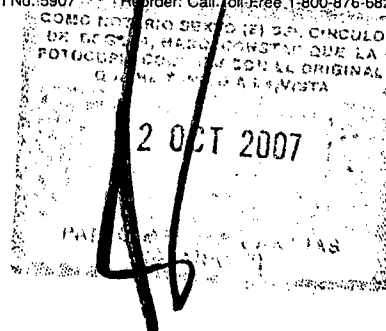
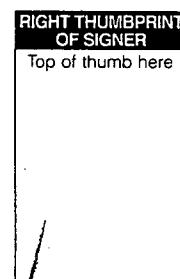
Signer Is Representing:



Signer's Name:

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

Signer Is Representing:



POWER-OF-ATTORNEY

I (we), the undersigned Revance Therapeutics, Inc., an american firm

of 2400 Bayshore Parkway, Suite 100, Mountain View, CA 94043
- USA

do hereby grant to EMILIO FERRERO, T.P.A. N° 31.929; GONZALO PERDOMO, T.P.A. N° 831;
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, T.P.A. N° 23.555 and GERMAN CAVELIER, T.P.A. N° 832,
domiciled at Carrera 4a. No. 72-35, Bogotá, Colombia, Power of Attorney to obtain
and to obtain the protection of my (our) industrial property and against unfair competition, for which
purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with
or without jurisdiction, especially administrative, administrative contentious and judicial authorities, in all
that pertains to the following matters: 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, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the
protection of trade secrets, and in general the civil, penal and administrative suits relating to those rights;
actions and suits instituted by me (us) or against me (us). That in all the above matters they may
substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, compromise,
desist, cancel, receive, resign, and ratify the acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this 12th Days

in December 2006

by Daniel Broune

[Signature]
Signature

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 03.15/07a realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia, registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI

CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

204

Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad y diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales y licencias.

PODER

Yo, (nosotros), el suscrito Revance Therapeutics, Inc., una sociedad de los Estados Unidos de América, domiciliada en 2400 Bayshore Parkway, Suite 100, Mountain View, CA 94043, Estados Unidos de América, por el presente otorgo(amos) a EMILIO FERRERO, T.P.A. 31.929; GONZALO PERDOMO, T.P.A. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, T.P.A. 23.555 y GERMÁN CAVELIER, T.P.A. 832, domiciliados en la Carrera 4a No. 72-35, Bogotá, Colombia, poder para obtener la protección de mí (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, 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, renuncia voluntaria y 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,

COMO NOTARIO SUSCRIBI
FOTOCOPIA CONFECCIONADA CON LA ORIGINAL
QUE SE ENTREGA A LA VISTA
02 OCT 2007

concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-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, transigir, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

Dado y firmado hoy 12 de

en Diciembre de 2006.

por Daniel Browne

Firma Ilegible

Firma

ACTA NOTARIAL DE RECONOCIMIENTO MULTIPROPÓSITOS DE CALIFORNIA

Estado de California

Condado de Santa Clara

El 12-12-06 ante mí, Rose Shea, Notario Público,
Fecha Nombre y Cargo del Funcionario (p.e. Juan Pérez, Notario Público)

compareció personalmente Daniel Browne
Nombre(s) del Signatario(s)

☐ a quien conozco personalmente

☒ (o probó con fundamento en evidencia satisfactoria)

ser la persona cuyo nombre aparece 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 documento anexo la persona o la entidad a nombre de la cual dicha persona actuó, ejecutó el documento.

TESTIFICA mi firma y sello oficial.

Firma Ilegible

Firma del Notario Público

Fijar Sello Notarial Arriba

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 remoción fraudulenta y anexión de este formato a otro documento.

DESCRIPCIÓN DEL DOCUMENTO ANEXO

Título del Documento Anexo: Poder

Fecha del Documento: 12-12-06 Número de Páginas: 1

Otros Signatarios distintos a los anteriores: _____

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

Nombre del signatario: _____ Nombre del signatario: _____

☐ Individuo ☐ Individuo

☐ Funcionario Corporativo Cargo(s): _____ ☐ Funcionario Corporativo Cargo(s): _____

☐ Socio ☐ Comanditario ☐ General ☐ Socio ☐ Comanditario ☐ General

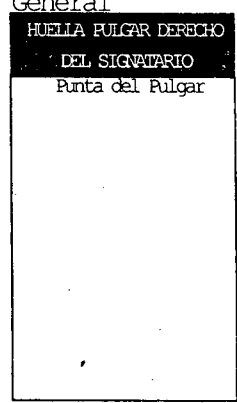
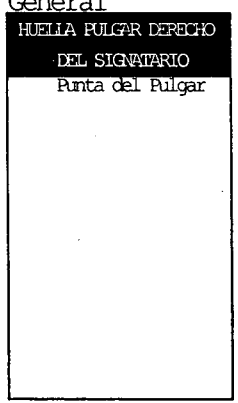
☐ Apoderado ☐ Apoderado

☐ Fiduciario ☐ Fiduciario

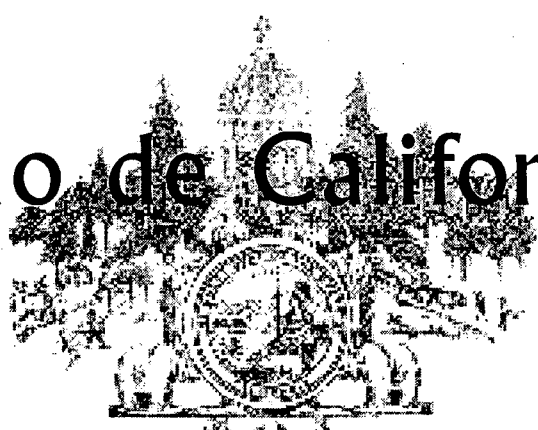
☐ Guardián o Curador ☐ Guardián o Curador

☐ Otro: _____ ☐ Otro: _____

El Signatario representa a: _____ El Signatario representa a: _____



Estado de California

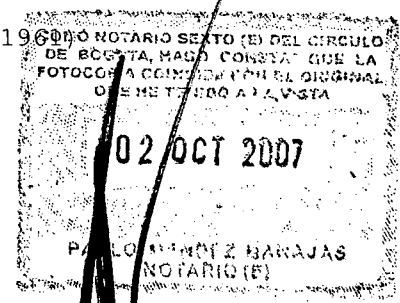


SECRETARIO DE ESTADO

APOSTILLA

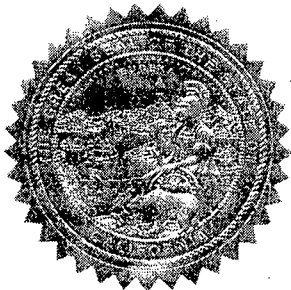
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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



CERTIFICADO

- 5. En Sacramento, California
- 6. El 8 de Enero de 2007
- 7. por el Suplente del Secretario de Estado, Estado de California
- 8. **No. 340934**
- 9. Sello/estampilla:



10. Firma

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
Firma Ilegible MINISTERIO DE JUSTICIA
Secretario de Estado

Por Firma ilegible

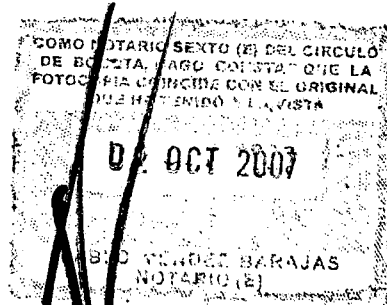
Sello obtenido por escáner con inscripción: EL GRAN SELLO DEL ESTADO DE CALIFORNIA

Sellos parciales en tinta roja sobre los lados derechos de los dos documentos anteriores con la inscripción. EL GRAN SELLO DEL ESTADO DE CALIFORNIA.

Estado de Delaware

Oficina del Secretario de Estado

YO, HARRIET SMITH WINDSOR, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE LA ADJUNTA ES UNA COPIA FIEL Y CORRECTA DEL CERTIFICADO DE REFORMA DE "ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.", POR EL CUAL SE CAMBIA SU NOMBRE DE "ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC." A "REVANCE THERAPEUTICS, INC." PRESENTADO EN ESTA OFICINA EL DIECINUEVE DE ABRIL DE 2005 A LA 1:19 P.M.



Firma ilegible

Harriet Smith Windsor, Secretario de Estado

3074007 8100

070170493



AUTENTICACIÓN: 5434111

FECHA: 02-14-07

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

2007 MAR 16 A 11:47

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

833807

COYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

COPIA DEL ORIGINAL DEL CIRCULO
DE BOGOTÁ QUE LA
FOTOCOPIA DEL ORIGINAL
DE BOGOTÁ

02 OCT 2007

TAJAS

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTÁ, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

Pablo Menendez Barajas

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTÁ, 16 MAR 2007

NOTARIA SEXTA
PABLO MENDEZ
BARAJAS
Notario Sexto Encargado

**CERTIFICADO DE REFORMA DEL
CERTIFICADO REFORMADO Y REPLANTEADO DE CONSTITUCIÓN DE
ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.**

L. Daniel Browne, por el presente certifica que:

PRIMERO: La fecha de presentación del Certificado de Constitución original de esta sociedad ante el Secretario de Estado del Estado de Delaware fue el 10 de agosto de 1999.

SEGUNDO: Él ha sido debidamente elegido y ocupa el cargo de Presidente de ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC. una sociedad de Delaware (la "Sociedad").

TERCERO: La Junta Directiva de la Sociedad, actuando de conformidad con las disposiciones de las Secciones 141 y 242 de la Ley General de Sociedades del Estado de Delaware, adoptó resoluciones mediante las cuales se reforma el Certificado Reformado y Replanteado de Constitución de la siguiente manera:

El Artículo I será reformado para que diga en su integridad lo siguiente:

"El nombre de esta compañía es REVANCE THERAPEUTICS, INC. (la "Compañía" o la "Sociedad")."

CUARTO: Posteriormente, de conformidad con una resolución de la Junta Directiva, este Certificado de Reforma fue enviado a los accionistas de la Sociedad para su aprobación y fue debidamente adoptado de conformidad con las disposiciones de la Sección 228 y 242 de la Ley General de Sociedades del Estado de Delaware.

QUINTO: Todas las demás disposiciones del Certificado Reformado y Replanteado de Constitución continuarán con plena vigencia y efecto.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, la Sociedad ha causado que este Certificado de Reforma sea suscrito por su Presidente hoy 19 de Abril de 2005.

ESSENTIA BIOSYSTEMS, INC.

Por: Firma Ilegible
L. Daniel Browne, Presidente

Apostilla

(Convention de La Haye du 5 Octubre 1961)

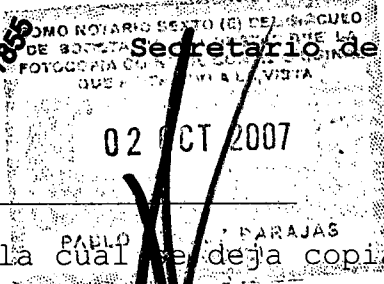
1. País: Estados Unidos de América
- Este documento público:
2. ha sido firmado por Harriet Smith Windsor
3. actuando en calidad de Secretario de Estado de Delaware
4. lleva el sello/estampilla de la Oficina del Secretario de Estado

Certificado

5. En Dover, Delaware
6. El catorce de Febrero de 2007
7. por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0307721
9. Sello/estampilla:
10. *[Firma]*



Harriet Smith Windsor
Secretario de Estado



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

DVZ//ID-008620/WPCL002G/COLO 15550-841-001

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

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

2007 MAR 16 A 11:44

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

833806
Cuya firma aparece en el
documento desempeña
las funciones indicadas

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

02 OCT 2007

PABLO MENDEZ BARAJAS

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

*Diego Felipe
Josefina Zamora*

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 16 MAR 2007

NOTARIA SEXTO
PABLO MENDEZ
BARAJAS
Notario Sexto Encargado

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
8 September 2006 (08.09.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/094193 A3

- (51) International Patent Classification:
C07K 7/00 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2006/007600
- (22) International Filing Date: 3 March 2006 (03.03.2006)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/658,741 3 March 2005 (03.03.2005) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): RE-
VANCE THERAPEUTICS, INC. [US/US]; 2400
Bayshore Parkway, Suite 100, Mountain View, California
94043 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): DAKE, Michael, D.
[US/US]; 665 Gerona Road, Stanford, California 94305
(US). WAUGH, Jacob, M. [US/US]; 4020 El Camino Real
#116, Mountain View, California 94040 (US).
- (74) Agent: Joseph Eng, Jr., Ph.D.; King & Spalding, LLP,
1185 Avenue of the Americas, New York, NY 10036-4003
(US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, 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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

[Continued on next page]

(54) Title: COMPOSITIONS AND METHODS FOR TOPICAL APPLICATION AND TRANSDERMAL DELIVERY OF AN
OLIGOPEPTIDE



(57) Abstract: The invention relates to the transdermal application of oligopeptides for reducing synaptic transmission in tissues of an animal. In one aspect, this invention relates to compositions comprising an oligopeptide and optionally a carrier comprising a positively charged "backbone" having positively charged branching or "efficiency" groups, as described herein. Most preferably the positively charged carrier is a long-chain positively charged polypeptide or a positively charged nonpeptidyl polymer, for example, a polyalkyleneimine. The invention further relates methods for producing a biologic effect of reducing synaptic transmission in a tissue by topically applying an effective amount of such a composition, preferably to the skin, of a subject or patient in need of such treatment. This invention also provides kits for preparing or formulating a composition that comprises the oligopeptide and optionally a carrier, as well as such additional items that are needed to produce a usable formulation, or a premix that may in turn be used to produce such a formulation.

WO 2006/094193 A3



(88) Date of publication of the international search report:
18 January 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TOPICAL APPLICATION AND TRANSDERMAL DELIVERY OF AN OLIGOPEPTIDE

[0001] This application claims benefit of priority of U.S. Provisional Application Ser. No. 60/658,741 filed March 3, 2005, incorporated herein by reference in its entirety.

FIELD OF THE INVENTION

[0002] The invention relates to the transdermal application of oligopeptides for reducing synaptic transmission in tissues of an animal.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0003] This invention relates to new compositions comprising an oligopeptide, more specifically to such compositions that enable the transport or delivery of an oligopeptide through the skin or epithelium (also referred to as "transdermal delivery"), and that therefore may be used as topical applications for providing an oligopeptide to a subject, for various therapeutic, aesthetic and/or cosmetic purposes, as described herein.

[0004] Botulinum toxins (also known as botulin toxins or botulinum neurotoxins) are neurotoxins produced by the gram-positive bacteria *Clostridium botulinum*. They act to produce paralysis of muscles by preventing synoptic transmission or release of acetylcholine across the neuromuscular junction, and are thought to act in other ways as well. Their action essentially blocks signals that normally would cause muscle spasms or contractions, resulting in paralysis.

[0005] Allan B. Scott first used botulinum toxin A (BTX-A) in monkeys in 1973. Scott demonstrated reversible ocular muscle paralysis lasting 3 months (Lamanna, *Science*, 130:763-772 (1959)). Soon afterwards, BTX-A was reported to be a successful treatment in humans for strabismus, blepharospasm, and spasmodic torticollis (Baron et al., In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Eds), *Bailey & Scotts Diagnostic Microbiology*, St. Louis, MO: Mosby Year Book, 504-523 (1994); Carruthers and Carruthers, *Adv Dermatol*, 12:325-348 (1997); Markowitz, In: Strickland GT (Eds) *Hunters Tropical Medicine*, 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 441-444 (1991)). In 1986, Jean and Alastair Carruthers, a husband and wife team consisting of an oculoplastic surgeon and a dermatologist, began to evolve the cosmetic use of BTX-A for treatment of movement-associated wrinkles in the glabella area (Schantz and Scott, In Lewis GE (Ed) *Biomedical Aspects of Botulinum*, New York: Academic Press, 143-150 (1981)). The Carruthers' use of BTX-A for the treatment of wrinkles led to their seminal publication of this approach in 1992 (Schantz and Scott, In Lewis GE (Ed)

19

Biomedical Aspects of Botulinum, New York: Academic Press, 143-150 (1992)). By 1994, the same team reported experiences with other movement-associated wrinkles on the face (Scott, *Ophthalmol*, 87:1044-1049 (1980)). This in turn led to the birth of the era of cosmetic BTX-A treatment.

[0006] Skin protects the body's organs from external environmental threats and acts as a thermostat to maintain body temperature. It consists of several different layers, each with specialized functions. The major layers include the epidermis, the dermis and the hypodermis. The epidermis is a stratifying layer of epithelial cells that overlies the dermis, which consists of connective tissue. Both the epidermis and the dermis are further supported by the hypodermis, an internal layer of adipose tissue.

[0007] The epidermis, the topmost layer of skin, is only 0.1 to 1.5 millimeters thick (Inlander, *Skin*, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). It consists of keratinocytes and is divided into several layers based on their state of differentiation. The epidermis can be further classified into the stratum corneum and the viable epidermis, which consists of the granular melphigian and basal cells. The stratum corneum is hygroscopic and requires at least 10% moisture by weight to maintain its flexibility and softness. The hygroscopicity is attributable in part to the water-holding capacity of keratin. When the horny layer loses its softness and flexibility it becomes rough and brittle, resulting in dry skin.

[0008] The dermis, which lies just beneath the epidermis, is 1.5 to 4 millimeters thick. It is the thickest of the three layers of the skin. In addition, the dermis is also home to most of the skin's structures, including sweat and oil glands (which secrete substances through openings in the skin called pores, or comedos), hair follicles, nerve endings, and blood and lymph vessels (Inlander, *Skin*, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). However, the main components of the dermis are collagen and elastin.

[0009] The hypodermis is the deepest layer of the skin. It acts both as an insulator for body heat conservation and as a shock absorber for organ protection (Inlander, *Skin*, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). In addition, the hypodermis also stores fat for energy reserves. The pH of skin is normally between 5 and 6. This acidity is due to the presence of amphoteric amino acids, lactic acid, and fatty acids from the secretions of the sebaceous glands. The term "acid mantle" refers to the presence of the water-soluble

substances on most regions of the skin. The buffering capacity of the skin is due in part to these secretions stored in the skin's horny layer.

[0010] One of the principal functions of skin is to provide a barrier to the transportation of water and substances potentially harmful to normal homeostasis. The body would rapidly dehydrate without a tough, semi-permeable skin. The skin helps to prevent the entry of harmful substances into the body. Although most substances cannot penetrate the barrier, a number of strategies have been developed to selectively increase the permeability of skin with variable success.

[0011] Botulinum toxin type A is said to be the most lethal natural biological agent known to man. At the same time, the muscle-paralyzing effects of botulinum toxin have been used for therapeutic effects. Controlled administration of botulinum toxin has been used to provide muscle paralysis to treat conditions, for example, neuromuscular disorders characterized by hyperactive skeletal muscles. Conditions that have been treated with botulinum toxin include hemifacial spasm, adult onset spasmodic torticollis, anal fissure, blepharospasm, cerebral palsy, cervical dystonia, migraine headaches, strabismus, temperomandibular joint disorder, and various types of muscle cramping and spasms. More recently the muscle-paralyzing effects of botulinum toxin have been taken advantage of in therapeutic and cosmetic facial applications such as treatment of wrinkles, frown lines, and other results of spasms or contractions of facial muscles.

[0012] In all treatments currently used, the botulinum toxin is administered by carefully controlled or monitored injection, creating large wells of toxin at the treatment site. A few scattered references to topical treatment are present in the literature. For example, assertions that botulinum toxin may be applied topically are made in U.S. patent 6,063,768 of Eric R. First, but no information is given as to how this may be accomplished. In another patent in which First is named as an inventor, U.S. patent 6,087,327 (of Pearce and First), mention is made that the botulinum toxin may be topically administered by solubilization in normal phosphate buffer containing gelatin stabilizer and administered topically into the nasal cavity of a dog. The patent cites a publication by Shaari et al., (*Otolaryngol. Head Neck Surg.* **112**; 566, 1995) in which such an experiment was conducted. German published patent application 198 52 981 describes topical compositions containing botulinum toxin and dimethyl sulfoxide for treatment of hyperhidrosis. An example in which a single patient was treated is included.

[0013] US patent 5,670,484 (Binder) describes the use of botulinum toxin in treating cutaneous cell-proliferative disorders (for example, psoriasis and dermatitis) using neurotoxins, including botulinum toxin. The patent asserts that compositions may be applied topically, but no examples of suitable formulations are given, and in the test examples the botulinum toxin was administered by injection. U.S. published application 2003/0113349 (Coleman III) represents that topical formulations containing botulinum toxin may be used to treat hyperactive glandular conditions in the skin. However, the description relates to conditions in cutaneous glands and does not discuss transdermal applications. In addition, like most of the publications discussed here, it contains no working examples. Finally, U.S. published application 2004/0009180 (Donovan) discloses the use of botulinum toxin in topical treatments for a number of conditions, some of which apparently involve transdermal delivery, for instance, topical application to relax muscles. The publication states that transdermal delivery is accomplished by use of an enhancing agent. Agents said to be suitable for this purpose include various alcohols, including polyalcohols, amines, amides, transferomes and liposomes. The examples are all written in the present tense, indicating that some or all may be conceptual rather than empirical.

[0014] One approach to solving the problems associated with botulinum toxin therapy is to use fragments of the toxin or other agents that interfere with the SNARE complex. The SNARE complex is an assembly of three proteins that plays a central role in neuronal exocytosis, the process where neurotransmitter loaded vesicles fuse with the neuron cell membrane and expel their contents. (Gutierrez, L.M., et. al. *FEBS Lett.* 372, 39-43 (1995); Gutierrez, L.M., et. al. *J. Biol. Chem.* 272, 2634-2639 (1997); Ferrer-Montiel, A.V., et. al. *FEBS Lett.* 435,84-88 (1998))

[0015] This work has resulted in identification of effective oligopeptides of 20 or more amino acids. However, these agents like botulinum toxins themselves were also found to have extremely poor ability to penetrate skin. More recently, a 6 amino acid peptide with the sequence glutamic acid-glutamic acid-methionine-glutamine-arginine-arginine (EEMQRR) has been shown to retain some activity in one model. (C. Blanes-Mira, et. al. *International Journal of Cosmetic Science*, 2002, 24, 303-310).

[0016] This hexapeptide, when derivatized to improve skin penetration and employed at very high concentrations such as 10% affords wrinkle reduction in certain cases (acetyl hexapeptide or ARGIRELINE®). However, the transdermal penetration of this peptide even when derivatized with palmitate or acylated as in ARGIRELINE® remains so low that

efficacy in wrinkle reduction requires high concentrations of expensive compounds – most of which does not cross the skin. Safety advantages relative to complete botulinum toxins are likely but have yet to be established in these applications given with the high load necessitated by low skin penetration. Hence, the limitations of botulinum toxins in terms of route of administration are largely preserved with these agents.

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

[0017] It is apparent that there are at least two problems associated with the therapeutic use of botulinum toxin. The first is the inherent toxicity of botulinum toxin resulting in the requirement for close medical supervision of its use. The second is the great difficulty in getting the botulinum toxin to penetrate the skin so it can reach the site where it is needed to exert its biological effects. The present invention addresses both of these problems by providing an oligopeptide which has similar biological activity to botulinum toxin but with a much lower level of toxicity and a lower molecular weight to enhance its penetration of the skin.

[0018] In one aspect, this invention relates to compositions comprising an oligopeptide and optionally a carrier comprising a positively charged “backbone” having positively charged branching or “efficiency” groups, as described herein. Most preferably the positively charged carrier is a long-chain positively charged polypeptide or a positively charged nonpeptidyl polymer, for example, a polyalkyleneimine. The invention further relates methods for producing a biologic effect of reducing synaptic transmission in a tissue by topically applying an effective amount of such a composition, preferably to the skin, of a subject or patient in need of such treatment.

[0019] This invention also provides kits for preparing or formulating a composition that comprises the oligopeptide and optionally a carrier, as well as such additional items that are needed to produce a usable formulation, or a premix that may in turn be used to produce such a formulation. Alternatively the kit comprises means for separately, but in conjunction, administering the oligopeptide and a carrier to a subject.

[0020] This invention also provides a composition comprising a first oligopeptide of from 6 to about 20 amino acids, said first oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, the composition further comprising a carrier comprising a second oligopeptide having attached positively charged branching groups independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, and fragments of HIV-TAT or of

23

Antennapedia PTD or mixtures thereof, in which the subscript n1 is an integer of from 0 to about 20, and the subscript n2 is independently an odd integer of from about 5 to about 25.

[0021] This invention also provides a method for reducing symptoms associated with a medical condition selected from the list consisting of dystonia, muscle spasms, autonomic nerve disorders, cerebrel palsy, Parkinson's disease, tremors, epilepsy, inner ear disorders, muscles disorders, nerve entrapment disorders, hyperhidrosis, acne, mucous, secretions, psoriasis, diabetes related cutaneous disorders, wound healing, mammary gland disorders, hair growth, urologic disorders, neuropsychiatric disorders, cancer and hypercalcemia comprising administering a therapeutically effective amount of the composition comprising a first oligopeptide of from 6 to about 20 amino acids, said first oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, the composition further comprising a carrier comprising a second oligopeptide having attached positively charged branching groups independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, and fragments of HIV-TAT or of Antennapedia PTD or mixtures thereof, in which the subscript n1 is an integer of from 0 to about 20, and the subscript n2 is independently an odd integer of from about 5 to about 25.

[0022] This invention also provides a compound comprising an oligopeptide of from 7 to about 20 amino acids, said oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1. In some embodiments the oligopeptide may comprise from 8, 9 or 10 to about 20 amino acids.

[0023] This invention also provides a method for reducing symptoms associated with a medical condition selected from the list consisting of dystonia, muscle spasms, autonomic nerve disorders, cerebrel palsy, Parkinson's disease, tremors, epilepsy, inner ear disorders, muscles disorders, nerve entrapment disorders, hyperhidrosis, acne, mucous, secretions, psoriasis, diabetes related cutaneous disorders, wound healing, mammary gland disorders, hair growth, urologic disorders, neuropsychiatric disorders, cancer and hypercalcemia comprising administering a therapeutically effective amount of a compound comprising an oligopeptide of from 7 to about 20 amino acids, said oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0024] **Figure 1** is a series of photographs depicting mouse foot sweat production visualized by iodine-starch staining (blue-black positives) 7 days after topical application of

24

oligopeptide EEMQRR (left foot) or botulinum toxin (right foot) without carrier (a and c) or oligopeptide EEMQRR (left foot) or botulinum toxin (right foot) with KNR (b and d) in two different animals.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0025] This invention provides compositions and methods for delivery, particularly transdermal delivery, of an oligopeptide by topical application of an appropriate formulation.

[0026] The oligopeptide comprises from 6 to about 20 amino acids and comprises the amino acid sequence EEMQRR (SEQ ID NO: 1). As the oligopeptide is to be delivered transdermally, it is preferred that the oligopeptide comprise as few amino acids beyond 6 as possible, with a maximum size of approximately 20 amino acids. In some embodiments the oligopeptide comprises from either 7, 8, 9 or 10 to about 20 amino acids and comprises the amino acid sequence EEMQRR (SEQ ID NO: 1). The amino acids may be in either the D or L form. To enhance transdermal delivery, this oligopeptide may be optionally modified by the addition of charged groups including but not limited to an acetyl group, an amide group, a phosphate group, or fatty acids including but not limited to a palmitoyl group or similar such modifications. In some embodiments, the oligopeptide contains a sequence of 3-14 neutral or non-polar amino acids immediately adjacent to SEQ ID NO: 1 so as to provide an amphipathic character to the oligopeptide, enhancing its ability to penetrate the skin. These modifications of the oligopeptide may be at either the C-terminal or N-terminal end of the oligopeptide or at both ends. Modifications may also be combined on one oligopeptide, as a non-limiting example the oligopeptide could be acetylated at the N-terminal end and contain neutral amino acids at the C-terminal end or the reverse. Oligopeptides with different modifications could also be combined in some embodiments.

[0027] For embodiments where the oligopeptide is to be used together with a positively charged carrier, the oligopeptide may contain amino acid sequences adjacent to SEQ ID NO: 1 which enhance the non-covalent interaction between the oligopeptide and positively charged carrier. For example sequences of acidic, negatively charged amino acids would interact strongly with the positively charged carrier. Two non-limiting embodiments of such an oligopeptide are the decapeptides DDDDEEMQRR (SEQ ID NO: 2) and EEMQRRDDDD (SEQ ID NO: 3). In some embodiments, mixtures of different oligopeptides may be used, for example both of the decapeptides SEQ ID NO: 2 and SEQ ID NO: 3 could be used in combination.

[0028] The amino acid sequence SEQ ID NO: 1 of the oligopeptide interferes with the functioning of the SNARE complex in a manner similar to botulinum toxin resulting in the inhibition of the release of acetylcholine and a resultant decrease in synaptic transmission. SEQ ID NO: 1 has been shown to have biological effects similar to botulinum toxin (C. Blanes-Mira, et. al. *International Journal of Cosmetic Science*, 2002, 24, 303-310).

[0029] Given the ability of SEQ ID NO: 1 to reduce synaptic transmission, there are a number of medical conditions which could be treated with this oligopeptide. These include but are not limited to conditions where chronic muscle contractions or spasms cause pain or disability. Such conditions include but are not limited to migraine or other headaches, cerebral palsy, Parkinson's disease, epilepsy, tremors, dystonias, muscle spasms, autonomic nerve disorders, strabismus and palatal myoclonus. Without being limited by theory, administration of the oligopeptide of the present invention would block or reduce the nerve impulses reaching the affected muscles thereby ameliorating or alleviating the condition. The present invention is not intended to improve cosmetic appearance by reducing or eliminating fine lines or wrinkles of the face.

[0030] The oligopeptide of the present invention could also be used to treat a variety of glandular conditions. Many glandular tissues are controlled by autonomic nerve impulses and the oligopeptide of the present invention could be used to block these nerve impulses and thereby reduce secretion from these tissues. Specific medical conditions that would benefit from this treatment include but are not limited to hyperhidrosis, acne, seborrheic dermatitis, mammary gland disorders and excess mucous secretion.

[0031] While the mechanism is not clear, neurotoxic compounds with activity on the SNARE complex similar to that of the oligopeptide of the present invention have been found to have activity in certain proliferative skin disorders such as psoriasis, cutaneous manifestations of diabetes and wound healing. Treatment with the oligopeptide of the present invention is expected to reduce or ameliorate the symptoms of proliferative skin disorders.

[0032] According to the present invention, a positively charged carrier molecule having efficiency groups, as described herein, has been found suitable as a transport system for an oligopeptide, enabling the oligopeptide to be administered transdermally to muscles and/or other skin-associated structures. The transport occurs without covalent modification of the oligopeptide.

26

[0033] By "positively charged" is meant that the carrier has a positive charge under at least some solution-phase conditions, including at least some physiologically compatible conditions. More specifically, "positively charged" as used herein, means that the group in question contains functionalities that are charged under all pH conditions, for instance, a quaternary amine, or contains a functionality which can acquire positive charge under certain solution-phase conditions, such as pH changes in the case of primary amines. More preferably, "positively charged" as used herein refers to those groups that have the behavior of associating with anions over physiologically compatible conditions. Polymers with a multiplicity of positively-charged moieties need not be homopolymers, as will be apparent to one skilled in the art. Other examples of positively charged moieties are well known in the prior art and can be employed readily, as will be apparent to those skilled in the art.

[0034] Generally, the positively-charged carrier (also referred to as a "positively charged backbone") is typically a linear chain of atoms, either with groups in the chain carrying a positive charge at physiological pH, or with groups carrying a positive charge attached to side chains extending from the backbone. Preferably, the positively charged backbone itself will not have a defined enzymatic or therapeutic biologic activity. The linear backbone is a hydrocarbon backbone which is, in some embodiments, interrupted by heteroatoms selected from nitrogen, oxygen, sulfur, silicon and phosphorus. The majority of backbone chain atoms are usually carbon. Additionally, the backbone will often be a polymer of repeating units (e.g., amino acids, poly(ethyleneoxy), poly(propyleneamine), polyalkyleneimine, and the like) but can be a heteropolymer. In one group of embodiments, the positively charged backbone is a polypropyleneamine wherein a number of the amine nitrogen atoms are present as ammonium groups (tetra-substituted) carrying a positive charge. In another embodiment, the positively charged backbone is a nonpeptidyl polymer, which may be a hetero- or homo-polymer such as a polyalkyleneimine, for example a polyethyleneimine or polypropyleneimine, having a molecular weight of from about 10,000 to about 2,500,000, preferably from about 100,000 to about 1,800,000, and most preferably from about 500,000 to about 1,400,000. In another group of embodiments, the backbone has attached a plurality of side-chain moieties that include positively charged groups (e.g., ammonium groups, pyridinium groups, phosphonium groups, sulfonium groups, guanidinium groups, or amidinium groups). The sidechain moieties in this group of embodiments can be placed at spacings along the backbone that are consistent in separations or variable. Additionally, the length of the sidechains can be similar or dissimilar. For example, in one

27

group of embodiments, the sidechains can be linear or branched hydrocarbon chains having from one to twenty carbon atoms and terminating at the distal end (away from the backbone) in one of the above-noted positively charged groups. In all aspects of the present invention, the association between the carrier and the oligopeptide is by non-covalent interaction, non-limiting examples of which include ionic interactions, hydrogen bonding, van der Waals forces, or combinations thereof.

[0035] In one group of embodiments, the positively charged backbone is a polypeptide having multiple positively charged sidechain groups (e.g., lysine, arginine, ornithine, homoarginine, and the like). Preferably, the polypeptide has a molecular weight of from about 10,000 to about 1,500,000, more preferably from about 25,000 to about 1,200,000, most preferably from about 100,000 to about 1,000,000. One of skill in the art will appreciate that when amino acids are used in this portion of the invention, the sidechains can have either the D- or L-form (R or S configuration) at the center of attachment. Alternatively, the backbone can be an analog of a polypeptide such as a peptoid. See, for example, Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **32**:543 (1993); Zuckermann *et al. Chemtracts-Macromol. Chem.* **4**:80 (1992); and Simon *et al. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* **89**:9367 (1992)). Briefly, a peptoid is a polyglycine in which the sidechain is attached to the backbone nitrogen atoms rather than the α -carbon atoms. As above, a portion of the sidechains will typically terminate in a positively charged group to provide a positively charged backbone component. Synthesis of peptoids is described in, for example, U.S. Patent No. 5,877,278, which is hereby incorporated by reference in its entirety. As the term is used herein, positively charged backbones that have a peptoid backbone construction are considered "non-peptide" as they are not composed of amino acids having naturally occurring sidechains at the α -carbon locations.

[0036] A variety of other backbones can be used employing, for example, steric or electronic mimics of polypeptides wherein the amide linkages of the peptide are replaced with surrogates such as ester linkages, thioamides (-CSNH-), reversed thioamide (-NHCS-), aminomethylene (-NHCH₂-) or the reversed methyleneamino (-CH₂NH-) groups, keto-methylene (-COCH₂-) groups, phosphinate (-PO₂RCH₂-), phosphonamidate and phosphonamidate ester (-PO₂RNH-), reverse peptide (-NHCO-), trans-alkene (-CR=CH-), fluoroalkene (-CF=CH-), dimethylene (-CH₂CH₂-), thioether (-CH₂S-), hydroxyethylene (-CH(OH)CH₂-), methyleneoxy (-CH₂O-), tetrazole (CN₄), sulfonamido (-SO₂NH-), methylenesulfonamido (-CHRSO₂NH-), reversed sulfonamide (-NHSO₂-), and backbones

with malonate and/or gem-diamino-alkyl subunits, for example, as reviewed by Fletcher *et al.* ((1998) *Chem. Rev.* 98:763) and detailed by references cited therein. Many of the foregoing substitutions result in approximately isosteric polymer backbones relative to backbones formed from α -amino acids.

[0037] In each of the backbones provided above, sidechain groups can be appended that carry a positively charged group. For example, the sulfonamide-linked backbones ($-\text{SO}_2\text{NH}-$ and $-\text{NHSO}_2-$) can have sidechain groups attached to the nitrogen atoms. Similarly, the hydroxyethylene ($-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$) linkage can bear a sidechain group attached to the hydroxy substituent. One of skill in the art can readily adapt the other linkage chemistries to provide positively charged sidechain groups using standard synthetic methods.

[0038] In one embodiment, the positively charged backbone is a polypeptide having branching groups (also referred to as efficiency groups). As used herein, an efficiency group or branching group is any agent that has the effect of promoting the translocation of the positively charged backbone through a tissue or cell membrane. Non-limiting examples of branching or efficiency groups include $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT or fragments thereof, or the protein transduction domain of Antennapedia, or a fragment thereof, in which the subscript $n1$ is an integer of from 0 to 20, in some embodiments 0 to 8, in other embodiments 2 to 5, and the subscript $n2$ is independently an odd integer of from about 5 to about 25, in some embodiments about 7 to about 17, in other embodiments about 7 to about 13. Further embodiments are those in which the HIV-TAT fragment has the formula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$ or $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$ wherein the subscripts p and q are each independently an integer of from 0 to 20 and the fragment is attached to the backbone via either the C-terminus or the N-terminus of the fragment. Preferred HIV-TAT fragments are those in which the subscripts p and q are each independently integers of from 0 to 8, more preferably 2 to 5. In another embodiment, the positively charged side chain or branching group is the Antennapedia (Antp) protein transduction domain (PTD), or a fragment thereof that retains activity. The positively charged carrier may also include side-chain positively charged branching groups in an amount of at least about 0.05 %, as a percentage of the total carrier weight, from about 0.05 to about 45 weight %, and in some embodiments from about 0.1 to about 30 weight %. For positively charged branching groups having the formula $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, the amount is from about 0.1 to about 25 %.

[0039] In another embodiment, the backbone portion is a polylysine and positively charged branching groups are attached to the lysine sidechain amino groups. The polylysine may have a molecular weight of from about 10,000 to about 1,500,000, in some embodiments from about 25,000 to about 1,200,000, and in other embodiments from about 100,000 to about 1,000,000. It can be any of the commercially available (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA) polylysines such as, for example, polylysine having MW > 70,000, polylysine having MW of 70,000 to 150,000, polylysine having MW 150,000 to 300,000 and polylysine having MW > 300,000. The selection of an appropriate polylysine will depend on the remaining components of the composition and will be sufficient to provide an overall net positive charge to the composition and provide a length that is from one to four times the combined length of the negatively charged components. Suitable positively charged branching groups or efficiency groups include, for example, -gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg (-Gly₃Arg₇) or HIV-TAT. In another embodiment the positively charged backbone is a long chain polyalkyleneimine such as a polyethyleneimine, for example, one having a molecular weight of about 1,000,000.

[0040] The positively charged backbones or carrier molecules comprising polypeptides or polyalkyleneimines, having the branching groups described above, are novel compounds and form an aspect of this invention.

[0041] In one embodiment of the invention, only a positively charged carrier that has positively charged branching groups is necessary for transdermal delivery of the botulinum toxin. In certain embodiments, the positively charged carrier is a polypeptide (e.g., lysine, arginine, ornithine, homoarginine, and the like) having multiple positively charged side-chain groups, as described above. The polypeptide has a molecular weight of at least about 10,000. In another embodiment, the positively charged carrier is a nonpeptidyl polymer such as a polyalkyleneimine having multiple positively charged side-chain groups having a molecular weight of at least about 100,000. Such polyalkyleneimines include polyethylene- and polypropyleneimines. In either instance, for use as the sole necessary agent for transdermal delivery the positively charged carrier molecule includes positively charged branching or efficiency groups, comprising -(gly)_{n1}-(arg)_{n2}, in which the subscript n1 is an integer of from 0 to 20 in some embodiments 0 to 8, still other embodiments 2 to 5, and the subscript n2 is independently an odd integer of from about 5 to about 25, in some embodiments from about 7 to about 17, and other embodiments from about 7 to about 13, HIV-TAT or fragments thereof, or Antennapedia PTD or a fragment thereof. The side-chain or branching

groups have the general formula $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$ as described above. Other embodiments are those in which the branching or efficiency groups are HIV-TAT fragments that have the formula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$, or $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$, wherein the subscripts p and q are each independently an integer of from 0 to 20 and the fragment is attached to the carrier molecule via either the C-terminus or the N-terminus of the fragment. The side branching groups can have either the D- or L-form (R or S configuration) at the center of attachment. Suitable HIV-TAT fragments are those in which the subscripts p and q are each independently integers of from 0 to 8, in some embodiments 2 to 5. Other embodiments are those in which the branching groups are Antennapedia PTD groups or fragments thereof that retain the group's activity. These are known in the art, for instance, from Console et al., *J. Biol. Chem.* 278:35109 (2003). The positively charged carrier includes side-chain positively charged branching groups in an amount of at least about 0.05 %, as a percentage of the total carrier weight, from about 0.05 to about 45 weight %, and other embodiments from about 0.1 to about 30 weight %. For positively charged branching groups having the formula $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, the amount is from about 0.1 to about 25 %.

[0042] In another embodiment, the carrier is a polylysine with positively charged branching groups attached to the lysine side-chain amino groups. The polylysine used in this particularly embodiment can be any of the commercially available (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA, e.g.) polylysines such as, for example, polylysine having MW > 70,000, polylysine having MW of 70,000 to 150,000, polylysine having MW 150,000 to 300,000 and polylysine having MW > 300,000. However, a suitable polylysine has a MW of at least about 10,000. Suitable positively charged branching groups or efficiency groups include, for example, $-\text{gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg}$ ($-\text{Gly}_3\text{Arg}_7$), HIV-TAT or fragments of it, and Antennapedia PTD or fragments thereof.

[0043] In other embodiments of this invention, the carrier is a relatively short polylysine or polyethyleneimine (PEI) backbone (which may be linear or branched) and which has positively charged branching groups. Such carriers are useful for minimizing uncontrolled aggregation of the backbones and botulinum toxin in a therapeutic composition, which causes the transport efficiency to decrease dramatically. When the carrier is a relatively short linear polylysine or PEI backbone, the backbone will have a molecular weight of less than 75,000, in some embodiments less than 30,000, and in other embodiments, less than 25,000. When the carrier is a relatively short branched polylysine or PEI backbone,

31

however, the backbone will have a molecular weight less than 60,000, in some embodiments less than 55,000, and in other embodiments less than 50,000. If, however, partitioning agents as described herein are included in the composition, the molecular weight of the branched polylysine and PEI backbones may be up to 75,000, while the molecular weight of the linear polylysine and PEI backbones may be up to 150,000.

[0044] Compositions of this invention are in the form of products to be applied to the skin or epithelium of subjects or patients, i.e. humans or other mammals in need of the particular treatment. The term "in need" is meant to include both pharmaceutical or health-related needs, for example, treating hyperhidrosis, acne or other conditions involving the excess production of secretions or sweat. In general the compositions are prepared by mixing the oligopeptide with the carrier, and usually with one or more additional pharmaceutically acceptable carriers or excipients. In their simplest form they may contain a simple aqueous pharmaceutically acceptable carrier or diluent, such as buffered saline. However, the compositions may contain other ingredients typical in topical pharmaceutical or cosmeceutical compositions, that is, a dermatologically or pharmaceutically acceptable carrier, vehicle or medium, i.e. a carrier, vehicle or medium that is compatible with the tissues to which they will be applied. The term "dermatologically or pharmaceutically acceptable," as used herein, means that the compositions or components thereof so described are suitable for use in contact with these tissues or for use in patients in general without undue toxicity, incompatibility, instability, allergic response, and the like. As appropriate, compositions of the invention may comprise any ingredient conventionally used in the fields under consideration, and particularly in cosmetics and dermatology. The compositions also may include a quantity of a small anion, preferably a polyvalent anion, for example, phosphate, aspartate, or citrate.

[0045] In terms of their form, compositions of this invention may include solutions, emulsions (including microemulsions), suspensions, creams, lotions, gels, powders, or other typical solid or liquid compositions used for application to skin and other tissues where the compositions may be used. Such compositions may contain, in addition to the oligopeptide and carrier, other ingredients typically used in such products, such as antimicrobials, moisturizers and hydration agents, penetration agents, preservatives, emulsifiers, natural or synthetic oils, solvents, surfactants, detergents, gelling agents, emollients, antioxidants, fragrances, fillers, thickeners, waxes, odor absorbers, dyestuffs, coloring agents, powders, viscosity-controlling agents and water, and optionally including anesthetics, anti-itch actives,

botanical extracts, conditioning agents, darkening or lightening agents, glitter, humectants, mica, minerals, polyphenols, silicones or derivatives thereof, sunblocks, vitamins, and phytomedicinals.

[0046] Compositions according to this invention may be in the form of controlled-release or sustained-release compositions, wherein the oligopeptide and the optional carrier are encapsulated or otherwise contained within a material such that they are released onto the skin in a controlled manner over time. The oligopeptide and optional carrier may be contained within matrixes, liposomes, vesicles, microcapsules, microspheres and the like, or within a solid particulate material, all of which is selected and/or constructed to provide release of the oligopeptide over time. The oligopeptide and the optional carrier may be encapsulated together (e.g., in the same capsule) or separately (in separate capsules).

[0047] In particular embodiments, the compositions include gelling agents and/or viscosity-modifying agents. These agents are generally added to increase the viscosity of the composition, so as to make the application of the composition easier and more accurate. Additionally, these agents help to prevent the aqueous oligopeptide/carrier solution from drying out, which tends to cause a decrease in the activity of the oligopeptide. Suitable agents are those that are uncharged and do not interfere with the oligopeptide activity or the efficiency of the oligopeptide-carrier complexes in crossing skin. The gelling agents may be certain cellulose-based gelling agents, such as hydroxypropylcellulose (HPC) for example. In some embodiments, the oligopeptide/carrier complex is formulated in a composition having 2-4% HPC. Alternatively, the viscosity of a solution containing a oligopeptide/carrier complex may be altered by adding polyethylene glycol (PEG). In other embodiments, the oligopeptide/carrier solution is combined with pre-mixed viscous agents, such as Cetaphil® moisturizer.

[0048] The compositions of this invention may optionally include partitioning agents. As used herein, a "partitioning agent" is any substance or additive that has the property of preventing or minimizing unwanted or uncontrolled aggregation of the oligopeptide with the carriers of this invention. Partitioning agents may be useful, for example, when a concentrated oligopeptide solution must be employed due to volume constraints. In these cases, the partitioning agent keeps the oligopeptide dispersed, thereby preventing aggregation of the oligopeptide that would otherwise occur without the partitioning agent. Generally, a partitioning agent is (1) non-irritating, (2) does not destroy the oligopeptide, (3) does not confer any increase in permeability, (4) affords reliable and stable particle sizes, (5) is

uncharged, and (6) does not interfere with complexes of the oligopeptide and the transdermal carrier. An example of a suitable partitioning agent is ethanol (EtOH). In some embodiments, the EtOH is less than 20% of the composition, and in other embodiments, less than 5% of the composition.

[0049] The oligopeptide can be delivered to glandular structures within the skin, in an effective amount to produce reduced glandular output, or other desired effects. Local delivery of the oligopeptide in this manner could afford dosage reductions, reduce toxicity and allow more precise dosage optimization for desired effects relative to injectable or implantable compositions. In the case of hyperhidrosis affecting the palm of the hand, the oligopeptide may be applied in conjunction with a glove so that absorption of the oligopeptide is maximized.

[0050] The compositions of the invention are applied so as to administer an effective amount of the oligopeptide. The term "effective amount" as used herein means an amount of an oligopeptide as defined above that is sufficient to produce the desired reduction in synaptic transmission but that implicitly is a safe amount, i.e. one that is low enough to avoid serious side effects. Desired effects include but are not limited to relaxation of muscles, reduction of tremors and a reduction in the amount of glandular secretions produced. The compositions of the invention may contain an appropriate effective amount of the oligopeptide for application as a single-dose treatment, or may be more concentrated, either for dilution at the place of administration or for use in multiple applications. Through the use of the positively charged carriers of this invention, the oligopeptide can be administered transdermally to a subject for treating conditions such as hyperhidrosis or acne. The oligopeptide is administered topically for transdermal delivery to muscles or to other skin-associated structures. As non-limiting examples, the administration may be made, for example, to the legs, shoulders, back (including lower back), axilla, palms, feet, neck, groin, dorsa of the hands or feet, elbows, upper arms, knees, upper legs, buttocks, torso, pelvis, or any other part of the body where administration of the oligopeptide is desired.

[0051] The compositions are administered by or under the direction of a physician or other health care professional. They may be administered in a single treatment or in a series of periodic treatments over time. For transdermal delivery of the oligopeptide for the purposes mentioned above, a composition as described above is applied topically to the skin at a location or locations where the effect is desired. In embodiments where an aqueous oligopeptide solution is applied directly to the skin, it is preferable to cover the treated area

(e.g., with Cetaphil® moisturizer) or occlude the treated area with a barrier (e.g., Telfa), in order to prevent the solution from drying out, which would lead to a decrease in oligopeptide activity. In some embodiments the amount of oligopeptide applied should be applied with care, at an application rate and frequency of application that will produce the desired result without producing any adverse or undesired results. Accordingly, for instance, topical compositions of the invention should be applied at a rate of from about 0.1 to about 800 μg , preferably from about 1.0 to about 50 μg oligopeptide per cm^2 of skin surface. Higher dosages within these ranges could be employed in conjunction with controlled release materials, for instance, or allowed a shorter dwell time on the skin prior to removal.

[0052] Proper preparation of the skin surface prior to the application of the oligopeptide composition is important for maintaining the efficacy of the solution. For example, the introduction of surfactants on the surface of the skin for the purpose of cleaning off surface oils on the skin prior to application is surprisingly counterproductive, because the surfactants appear to destroy the activity of the botulinum toxin. This occurs even if the skin is subsequently washed with water several times before application of the oligopeptide solution. Even extremely gentle surfactants, such as those found in baby wipes, appear to cause this phenomenon. Accordingly, in methods of administering the compositions of this invention, the skin is pre-cleaned using water alone. Washing with only water also appears to improve the transdermal transport of the botulinum toxin moderately.

[0053] Additionally, the skin may be stripped to reduce the stratum corneum layer prior to application of the oligopeptide complex. In principle, the process of stripping the skin should lead to enhanced efficiency of transdermal transport of the oligopeptide. However, the method used to strip the skin is important. For example, acetone-mediated reduction of the stratum corneum layer in humans or animals appears to reduce the activity of subsequently applied oligopeptide. In contrast, tape stripping (i.e., applying tape on the surface of the skin and then removing the tape) appears to allow deeper penetration of the oligopeptide and dosage reduction. It is presumed that abrasion of the skin surface (e.g., via the use of abrasive pads) would cause a similar effect as tape stripping.

[0054] This invention also comprises devices for transdermal transmission of an oligopeptide that contain a composition that in turn comprises a carrier that has a positively charged backbone with attached branching groups as defined herein, and an oligopeptide. Such devices may be as simple in construction as a skin patch, or may be a more complicated device that includes means for dispensing and monitoring the dispensing of the composition,

35

and optionally means for monitoring the condition of the subject in one or more aspects, including monitoring the reaction of the subject to the substances being dispensed.

[0055] The compositions, both in general, and in such devices, can be pre-formulated or pre-installed in the device as such, or can be prepared later, for example using a kit that contains the two ingredients (oligopeptide and optional carrier) for combining at or prior to the time of application. The amount of carrier molecule or the ratio of it to the oligopeptide will depend on which carrier is chosen for use in the composition in question. The appropriate amount or ratio of carrier molecule in a given case can readily be determined, for example, by conducting one or more experiments such as those described below.

[0056] In general, the invention also comprises a method for administering oligopeptide to a subject or patient in need thereof, comprising topically administering an effective amount of the oligopeptide optionally in conjunction with a carrier comprising a positively charged backbone with attached positively charged branching groups, as described herein. By "in conjunction with" is meant that the two components (oligopeptide and carrier) are administered in a combination procedure, which may involve either combining them in a composition, which is then administered to the subject, or administering them separately, but in a manner such that they act together to provide the requisite delivery of an effective amount of the therapeutic protein. For example, a composition containing the carrier may first be applied to the skin of the subject, followed by applying a skin patch or other device containing the oligopeptide. The oligopeptide may be incorporated in dry form in a skin patch or other dispensing device and the positively charged carrier may be applied to the skin surface before application of the patch so that the two act together, resulting in the desired transdermal delivery. In that sense, thus, the two substances (carrier and oligopeptide) act in combination or perhaps interact to form a composition or combination in situ. Accordingly, the invention also comprises a kit that includes both a device for dispensing oligopeptide via the skin and a liquid, gel, cream or the like that contains the carrier or backbone, and that is suitable for applying to the skin or epithelium of a subject. Kits for administering the compositions of the inventions, either under direction of a health care professional or by the patient or subject, may also include a custom applicator suitable for that purpose.

[0057] The compositions, kits and methods of this invention allow for the delivery of a more pure oligopeptide with higher specific activity and potentially improved pharmacokinetics. In addition, the carrier can act as a stabilizer, reducing the need for foreign accessory proteins (e.g., human serum albumin ranging from 400-600 mg or

recombinant serum albumin ranging from 250-500 mg) and/or polysaccharide stabilizers, and can afford beneficial reductions in immune responses to the oligopeptide. In addition, the compositions are suitable for use in physiologic environments with pH ranging from about 4.5 to about 6.3, and may thus have such a pH. The compositions according to this invention may be stored either at room temperature or under refrigerated conditions.

[0058] The following are non-limiting representative examples of implementations of the invention. They demonstrate the delivery of a functional oligopeptide across skin without requiring covalent modification of the oligopeptide, the ability of the oligopeptide to reduce the production of sweat and the ability of the oligopeptide to reduce the strength of muscle contractions.

Example 1. Inhibition of Sweat by BOTOX® and the oligopeptide EEMQRR in a Mouse Hind Foot Model

[0059] Methods:

[0060] A pilocarpine solution and rodent anesthetic were prepared 24 hours prior to treatment of the animals. The pilocarpine solution was made at a concentration of 1 mg/ml in 0.9% NaCl in a 15-ml centrifuge tube. The solution was vortexed to mix well for 2 minutes and then sterilized by filtering through a PURADISC 25 TF disposable filter device into a sterile vial. The pilocarpine solution was then covered with foil. The rodent anesthetic cocktail was prepared by combining 3.75 ml of 100 mg/ml Ketamine, 3.00 ml of 20 mg/ml Xylazine, and 23.25 ml of saline and vortexing well to mix.

[0061] A 2% iodine solution was prepared in 70% ethanol in a 50-ml centrifuge tube by vortexing to mix well followed by sonication for 15 minutes and then vortexing again. The tube was then covered with parafilm.

[0062] The lysine-asparagine-arginine (KNR) backbone and lysine-asparagine-threonine (KNT) backbone were prepared as a 1 mg/ml solution in deionized H₂O. BOTOX® (botulinum toxin type A; Allergan Inc., Irvine CA) was reconstituted in 1.0 ml of 0.9 % sodium chloride at a concentration of 100 units/ml. The oligopeptide EEMQRR was prepared in deionized H₂O at a concentration of 1 mg/ml.

[0063] There were 6 experimental groups in the study:

BO: null + BOTOX®

BP: KNR + BOTOX®

37

BQ: KNT + BOTOX®

BR: null + Oligopeptide EEMQRR

BS: KNR + Oligopeptide EEMQRR

BT: KNT + Oligopeptide EEMQRR

[0064] The stock solutions for treatment of each of the groups were prepared as follows:

BO: 70 µl BOTOX® and 70 µl PBS.

BP: 70 µl BOTOX®, 35 µl KNR backbone and 35 µl PBS.

BQ: 70 µl BOTOX®, 35 µl KNT backbone and 35 µl PBS.

BR: 70 µl oligopeptide EEMQRR and 70 µl PBS.

BS: 70 µl oligopeptide EEMQRR, 35 µl KNR backbone and 35 µl PBS.

BT: 70 µl oligopeptide EEMQRR, 35 µl KNT backbone and 35 µl PBS.

[0065] Groups: 6 paws per group, except BQ and BT which have 5 paws per group.

[0066] Study procedure:

[0067] 1. Animals were anesthetized with 0.07 ml of anesthetic cocktail injected intraperitoneally and supplemented with isoflurane as necessary.

[0068] 2. A total of 20µl of each treatment solution was applied topically to the assigned hind feet. A pipet tip was used to rub the treatment solution into the hind feet and to coat the bottom of the hind feet completely. The animals' right hind feet received the Botox treatments and the animals' left hind feet received the oligopeptide EEMQRR treatments.

[0069] 3. To dry the treatment solution, the animals were placed under a heat lamp for two minutes and then the feet air dried for 5 minutes.

[0070] 4. Step 2-3 were repeated until all of the treatment solution had been applied and absorbed by the animals' hind feet. Typically this was achieved with two 10 µl applications.

[0071] 5. After the treatment solution had dried completely, approximately 50 µl of Cetaphil® cream was applied to the hind feet.

[0072] 6. The animals' vital signs were monitored until they recovered from the anesthetic.

[0073] After one week, sweat production was evaluated by the use of the starch iodide test. The starch iodide test was carried out by the following procedure.

[0074] 1. The animals were anesthetized with 0.07 ml of anesthetic cocktail injected intraperitoneally supplemented with isoflurane as necessary. If booster dose was necessary, 0.03 ml of anesthetic cocktail was given.

[0075] 3. After 10 minutes when the animals were fully anesthetized and had stable vital signs, both hind feet were painted with a 2% iodine solution in ethanol.

[0076] 4. To dry the feet, the animals were placed under a heat lamp for two minutes and then the feet air dried for 5 minutes.

[0077] 5. The iodine coated feet were then photographed.

[0078] 6. To induce secretion of sweat, the animals were injected with 0.10 ml of 1 mg/ml pilocarpine HCl in 0.9% sodium chloride intraperitoneally. This injection was done about 30 minutes after injection of the anesthetic cocktail.

[0079] 7. The hind feet were then completely coated with starch powder which was rubbed into the feed with fingers wearing powder-free gloves. Excess starch was removed with a small paint brush. Starch was then loosely applied with a compact velour pad. This step was then repeated leaving a light powder residue on the hind feet. Gloves were changed for each treatment group.

[0080] 8. Observed the mice for urine and other secretions. Do not let urine come in contact with the animals' hind feet. Keep the animals on a dry surface.

[0081] 9. Took pictures of hind feet (to record blue-black positive spots) at 10, 20 and 60 minutes after pilocarpine injection.

[0082] 10. Monitored vitals and waited for recovery.

[0083] Observations and Results: The blue-black positive spots were typically best viewed at 50-60 minutes after pilocarpine injection. The starch-iodine test showed that the treatment groups had less blue-black positive spots than the control for both treatments as depicted in the attached representative photographs. Oligopeptide EEMQRR plus a transporter functions markedly better than oligopeptide EEMQRR alone. Oligopeptide

EEMQRR alone is marginally better than Botox alone. Thus surprisingly (1) a oligopeptide can interfere with a secretory condition when applied topically, (2) this process essentially requires a transdermal transport enhancer for therapeutic effects, and (3) these effects can approximate those of native intact botulinum toxin with a suitable transdermal transport enhancer in this model.

Example 2: Topical application of oligopeptide EEMQRR to treat axillary hyperhidrosis in a human patient.

[0084] Methods:

[0085] Participants in the study had pre-existing, subjective hyperhidrosis of the axilla prior to entry in the study. The axilla sweating by gravimetric measurement exceeded 50 mg/5 minutes in both arms. Subjects were 18 years or older, healthy, and with no concurrent treatment with anticholinergic or aminoglycoside or calcium channel blocker (60 days wash off time).

[0086] Gravimetric measurement:

[0087] Acclimation and dose area preparation:

[0088] The patient was acclimated for 15 minutes at a room temperature of 72 ~77 oF at the resting position. The patient removed all shirts exposing both axillae. The dose area which covered 1 cm beyond the hair bearing skin at each axilla was mapped. The dose area was washed with pre-wet sterile gauze pad from a 50 ml conical tube with 5 long strokes from top to bottom in the same direction using one side of the gauze. This wash step was repeated three more times. The axilla was dried with a dry sterile gauze firm padding motion from top to bottom of the axilla then further dried by placing a filter paper under the axillary crease and allowed the filter paper to dwell in the test site for 5 minutes. The patient sat with his arms against their bodies in a resting position. The patient was at rest for 1 minute without axilla manipulation prior to the first gravimetric assessment.

[0089] Sweat production measurement (gravimetric measurement):

[0090] The patient held hands together at the back of head to fully expose axilla while being reclined in a 45 degree angle. The pre-weighed filter paper was removed from the conical tube and place it under the patient's axilla with the tip of the filter aligns with the center of axilla crease line. The patient relaxed his arms to the side of the bodies and sat with both arms held tightly against his trunk. The clock started when the filter papers are securely

placed under both of the axillae. The two axillae were measured simultaneously. After 5 minutes, the filter papers were removed from the axillae and placed each one into the same respective conical tubes and the caps were screwed tightly to prevent the evaporation of the sweat from the tube. Sweat production was repeated two more times at 1 minute intervals.

[0091] Starch/iodine test:

[0092] The patient held hands together at the back of head to fully expose axilla. Iodine solution was applied to the axilla area with a sterile gauze pad and then air dried completely. The area covered by iodine was padded with a thin layer of starch using cotton balls. The patient sat with both arms held tightly against his trunk. After 5 minutes, the patient raised the arms and held hands together at the back of head to fully expose axillae. Baseline and post starch-iodine pictures of left and right axilla were taken. The axillae were cleaned first with 70% EtOH and then with sterile DI water.

[0093] Treatment formulation and application:

[0094] Formulations:

[0095] 1st Treatment:

[0096] Left arm: 600 µl of KN-T (1 mg/ml in saline and 1% EtOH) was added to 600 µl of oligopeptide EEMQRR (10% in saline, plus 1% EtOH), mixed by inversion; the mixture sat at room temperature for 5 minutes. Added 600 µl of 4% HPC (1% EtOH) and mixed thoroughly. Transferred the homogenous solution into a 3 ml syringe.

[0097] Right arm: 600 µl of KN-T (1 mg/ml in saline and 1% EtOH) was added to 600 µl of saline (with 1% EtOH), mixed by inversion; the mixture sat at room temperature for 5 minutes. Added 600 µl of 4% HPC (1% EtOH) to the mixture and mixed thoroughly. Transferred the homogenous solution into a 3 ml syringe.

[0098] 2nd Treatment:

[0099] Left arm: 500 µl of KN-T (1 mg/ml in saline and 5% EtOH) was added to 500 µl of tetra-aspartate-oligopeptide EEMQRR (10% in saline and 5% EtOH), mixed by inversion; the mixture sat at room temperature for 5 minutes. Added 500 µl of 4% HPC (1% EtOH) and mixed thoroughly. Transferred the homogenous solution into a 3 ml syringe.

[00100] Right arm: 500 µl of KN-T (1 mg/ml in saline and 5% EtOH) was added to 500 µl of saline (with 5% EtOH), mixed by inversion; the mixture sat at room temperature for

5 minutes. Added 500 μ l of 4% HPC (1% EtOH) to the mixture and mixed thoroughly.
Transferred the homogenous solution into a 3 ml syringe.

Table 1. Formulation summary (Left arm only)

	10% oligopeptide EEMQRR (saline)	Carrier (1 mg/ml)	HPC (4%)	EtOH
1 st treatment	600 μ l oligopeptide EEMQRR	600 μ l KN-T	600 μ l	1%
2 nd treatment	500 μ l tetra-asp- oligopeptide EEMQRR	500 μ l KN-T	500 μ l	5%

[00101] Drug application:

[00102] While wearing sterile gloves, the drug was spread with syringe evenly around the dose site and massaged with fingers for 1 minute. The patient put his arms down along the side of the body and incubated for 1 hour. At the end of incubation, the dose site was cleansed with sterile gauze.

[00103] RESULTS:

Table 2. Study Summary
(Gravimetric measurement (milligram/5 minutes))

ID	Baseline	2 week post treatment	1 st Treatment	Randomization
Left	371.0 +/- 35.8 (435.0)	35.6 +/- 12.3 (60.0)	oligo/KN- T/HPC/1%EtOH	Oligopeptide EEMQRR
Right	291.7 +/- 26.4 (320.5)	20.1 +/- 7.3 (32.4)	Saline/KN- T/HPC/1%EtOH	Control
Ratio (Left/right)	1.3	1.8		

ID	Baseline 2 nd treatment	3 week/ 1 week post RT	4 week/ 2 week post RT	2 nd Treatment	Randomiza
Left- 2	35.6 +/- 12.3 (60.0)	53.8 +/- 3.5 (60.0)	54.2 +/- 2.9 (58.7)	Tetra-Asp-oligo/ KN- T/HPC/1%EtOH	Oligopepti EEMQR
Right-2	20.1 +/- 7.3 (32.4)	47.1 +/- 6.5 (54.0)	44.6 +/- 3.1 (50.8)	Saline/KN- T/HPC/1%EtOH	Control
Ratio (left/right)	1.8	1.1	1.2		

42

Example 3: Topical application Revance carrier and D10, SNARE-disrupting oligopeptide complex, on muscle force generation in a mouse model.

[00104] MATERIALS AND METHODS:

[00105] D10 (modified acetyl hexapeptide, Revance Therapeutics, Mountain View, CA)

[00106] Polylysine peptides (carriers): Kn21T

Test groups:

	Kn21T carrier	No carrier
10% D10	x	
Control		x

[00107] Study design:

[00108] Male CD1 mice (Charles River, Wilmington, MA) weighing 27-33 g were used. Mice were housed in groups of 5 and allowed ad libitum access to food and water before treatment. Animals were anesthetized using 1.5% isoflurane mixed with oxygen and remained anesthetized for the duration of the study. A dose site of each mouse's hind limb was carefully shaved with an Andis Edjer II cordless rechargeable trimmer (Andis, Sturtevant, WI). The dosing site was prepared with an acetone wash or DI water wash. The dosing site was dried completely before treatment application. Untreated normals, as well as those treated with base formulations (no toxin) applied topically at an equivalent volume served as controls. Muscle contraction force was measured at 2-3.5 hours post topical treatment.

[00109] D10 (modified acetyl hexapeptide) preparation:

[00110] 1. Made a 1.0 mg/ml stock solution of Kn21T carrier with 0.9% NaCl and 5% EtOH in a microcentrifuge tube and mixed by vortex.

[00111] 2. Made a 10% D10 solution in a centrifuge tube and mixed by vortex.

[00112] 3. Took 100 μ l of carrier from step1 and added it to 100 μ l of 10% D10 from step 2 into a microcentrifuge tube and the mixture sat at room temperature for 5 minutes with the tube standing upright for the complexes to form, and then gently inverted again before dosing.

[00113] 4. Removed 200 μ l of the mixture from step 3 with a pipet and applied it to the hind leg.

[00114] Topical application:

[00115] 1. Anesthetized the mouse with 1.5% isoflurane mixed with oxygen.

[00116] 2. Slowly applied the carrier/toxin mixture by using a pipet to spread to the hind leg of the mouse (shaved), massaged the mixture onto the right hind leg while wearing nitrile gloves, incubated for 30 minutes while the mouse is under anesthesia, then the animal was allowed to recover to observe foot mobility (DAS). The animal was placed under anesthesia again until muscle force generation test that took place 2 to 3.5 hours post treatment.

[00117] a. There was no direct heat-lamp exposure hind limb after topical application during 30-minute dwell time.

[00118] Muscle contraction force generation:

[00119] The limb was immobilized by securing it to a wooden table using K-wires through the femur and the tibia to prevent motion. The gastrocnemius was left in situ. A wire suture was tied around the distal end of the Achilles tendon. The tendon was then transected distal to the suture, and the suture was attached to a force transducer (model FT03, Grass, West Warwick, RI), which in turn was connected to a force transducer amplifier (model 13-G4615-50, Gould, Cleveland, OH). The sciatic nerve from the D10 treated side was stimulated directly (SD9 stimulator, Grass, West Warwick, RI) with increasing voltage until the maximum isometric single-twitch force was obtained. The frequency of stimulation then was increased until maximum tetanic force was generated. Twitch is generated by stimulation of one motor unit, and tetanus is generated by applying summation of all motor units by supermaximal stimulation. The same procedure was repeated on the control limbs. Responses were recorded with a calibrated recording oscilloscope (RS 3800, Gould, Cleveland, OH) linked to the force transducer. [Ma J, Elsaïdi GA, Smith TL, et al. Time course of recovery of juvenile skeletal muscle after botulinum toxin A injection. Am. J. Phys. Med. Rehabil. 2004; 83(10):774-780].

[00120] RESULTS:

[00121] Normal values of muscle force generation in a C57BL/6 mice has a mean single twitch force of 60 ± 15 grams and a mean tetanus force of 240 ± 30 grams in a previous study with injection of botulinum toxin A. In this pilot preclinical study, comparable mean single twitch force of 54 ± 2 grams and mean tetanus force of 241 ± 20 grams were found.

44

[00122] When muscle force generation of topical D10 with carrier was evaluated, it showed a small response resulting in approximately 56% decrease in single twitch and 37% decrease in tetanus response in animal treated with single-time administration of topical "Revanche D10 solution" with carrier versus the controls on the recordings. Table 3 shows the summary of mean muscle force generation and percentage of decrease for single twitch and tetanus.

Table 3. Summary of muscle force generation. Mean values and % of decrease for treatment group versus control are presented.

Treatment	Carrier	Muscle Force Generation	Mean Results (g)	Mean % decrease
D10	Kn21T	single twitch	20	56%
		tetanus	132	37%
Control	N/A	single twitch	45*	0%
		tetanus	210*	0%

*lower limit

[00123] CONCLUSION:

[00124] This study serves to demonstrate that topical application of 10% D10 per mouse limb can effectively decrease motor force generation and shows evidence of therapeutic benefits.

45

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A composition comprising an oligopeptide of from 6 to about 20 amino acids, said oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, the composition further comprising a positively charged carrier having attached positively charged branching groups independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, and fragments of HIV-TAT or of Antennapedia PTD or mixtures thereof, in which the subscript $n1$ is an integer of from 0 to about 20, and the subscript $n2$ is independently an odd integer of from about 5 to about 25.
2. A composition according to claim 1 wherein SEQ ID NO: 1 comprises the C-terminal end of the oligopeptide.
3. A composition according to claim 2 wherein the N-terminal end of the oligopeptide comprises from 3 to about 14 neutral amino acids.
4. A composition according to claim 3 wherein the N-terminal end of the oligopeptide comprises 4 aspartate molecules.
5. A composition according to claim 1 wherein SEQ ID NO: 1 comprises the N-terminal end of the oligopeptide.
6. A composition according to claim 5 wherein the C-terminal end of the oligopeptide comprises from 3 to about 14 neutral amino acids.
7. A composition according to claim 6 wherein the C-terminal end of the oligopeptide comprises 4 aspartate molecules.
8. A composition according to claim 1 wherein the oligopeptide is derivatized.
9. A composition according to claim 8 wherein the oligopeptide is derivatized with a molecule selected from the group consisting of an acetyl group, a palmitoyl group.
10. A composition according to claim 1 wherein the oligopeptide is recombinately produced.
11. A composition according to claim 1 wherein the composition is a cream, lotion, ointment, gel or liquid.
12. A composition according to claim 11 wherein the composition further comprises a buffer.
13. A composition according to claim 1 wherein the composition is a controlled release composition.

14. A composition according to claim 1 wherein the composition further comprises saline.

15. A composition according to claim 14 wherein the composition further comprises a buffer.

16. A composition according to claim 1 in which the positively charged carrier comprises a second oligopeptide having positively charged branching groups independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$ in which the subscript $n1$ is an integer of from about 0 to about 20 and the subscript $n2$ is independently an odd integer of from about 5 to about 25.

17. A composition according to claim 16 in which the subscript $n1$ is an integer of from 0 to about 8.

18. A composition according to claim 16 in which the subscript $n1$ is an integer of from about 2 to about 5.

19. A composition according to claim 16 in which the subscript $n2$ is an odd integer of from about 7 to about 17.

20. A composition according to claim 16 in which the subscript $n2$ is an odd integer from about 7 to about 13.

21. A composition according to claim 16 in which the carrier comprises a second oligopeptide having attached positively charged branching groups selected from HIV-TAT and fragments thereof.

22. A composition according to claim 21 in which the branching groups are positively charged HIV-TAT fragments that have the formula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$, or $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$, wherein the subscripts p and q are each independently an integer of from 0 to 20.

23. A composition according to claim 1 in which the positively charged branching groups comprise at least about 0.05 % by weight of the total carrier weight.

47

24. A composition according to claim 1 in which the positively charged branching groups comprise from about 0.5% to about 45% by weight of the total carrier weight.

25. A composition according to claim 1 in which the positively charged branching groups comprise from about 0.1 % to about 30% by weight of the total carrier weight.

26. A composition according to claim 1 in which the backbone comprises a positively charged oligopeptide.

27. A composition method according to claim 26 in which the backbone comprises a positively charged polylysine.

28. A composition according to claim 27 in which the polylysine has a molecular weight of from about 10,000 to 1,500,000.

29. A composition according to claim 27 in which the polylysine has a molecular weight of from about 25,000 to about 1,200,000.

30. A composition according to claim 27 in which the polylysine has a molecular weight of from about 100,000 to about 1,000,000.

31. A composition according to claim 1 in which the backbone comprises a positively charged nonpeptidyl carrier.

32. A composition according to claim 31 in which the backbone comprises a positively charged polyalkyleneimine.

33. A composition according to claim 32 in which the polyalkyleneimine is a polyethyleneimine.

34. A composition according to claim 33 in which the polyethyleneimine has a molecular weight of from about 10,000 to about 2,500,000.

35. A composition according to claim 33 in which the polyethyleneimine has a molecular weight of from about 100,000 to about 1,800,000.

36. A composition according to claim 33 in which the polyethyleneimine has a molecular weight of from about 500,000 to about 1,400,000.

37. A method for reducing symptoms associated with a medical condition selected from the list consisting of dystonia, muscle spasms, autonomic nerve disorders, cerebrel palsy, Parkinson's disease, tremors, epilepsy, inner ear disorders, muscles disorders, nerve entrapment disorders, hyperhidrosis, acne, mucous, secretions, psoriasis, diabetes related cutaneous disorders, wound healing, mammary gland disorders, hair growth, urologic disorders, neuropsychiatric disorders, cancer and hypercalcemia comprising administering a therapeutically effective amount of the composition of claim 1.

38. A method according to claim 37 further comprising administering the composition to a region of the body selected from the group consisting of scalp, face, neck, shoulders, arms, axilla, hands, palms of the hands, back, legs, feet and soles of the feet.

39. A method according to claim 38 in which the medical condition subjective or clinical hyperhidrosis.

40. A method according to claim 39 in which the composition is administered to the axilla.

41. A method according to claim 39 in which the composition is administered to the face.

42. A method according to claim 39 in which the composition is administered to the forehead.

43. A method according to claim 39 in which the composition is administered to the palms of the hand.

44. A method according to claim 39 in which the composition is administered to the soles of the feet.

45. A compound comprising an oligopeptide of from 7 to about 20 amino acids, said oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1.

46. The compound according to claim 45 wherein the oligopeptide is from 8 to about 20 amino acids.

49

47. The compound according to claim 45 wherein the oligopeptide is from 9 to about 20 amino acids.

48. The compound according to claim 45 wherein the oligopeptide is from 10 to about 20 amino acids.

49. A method for reducing symptoms associated with a medical condition selected from the list consisting of dystonia, muscle spasms, autonomic nerve disorders, cerebrel palsy, Parkinson's disease, tremors, epilepsy, inner ear disorders, muscles disorders, nerve entrapment disorders, hyperhidrosis, acne, mucous, secretions, psoriasis, diabetes related cutaneous disorders, wound healing, mammary gland disorders, hair growth, urologic disorders, neuropsychiatric disorders, cancer and hypercalcemia comprising administering a therapeutically effective amount of the compound of claim 45.

50. A method according to claim 49 further comprising administering the compound to a region of the body selected from the group consisting of scalp, face, neck, shoulders, arms, axilla, hands, palms of the hands, back, legs, feet and soles of the feet.

51. A method according to claim 50 in which the medical condition subjective or clinical hyperhidrosis.

52. A method according to claim 51 in which the compound is administered to the axilla.

53. A method according to claim 51 in which the compound is administered to the face.

54. A method according to claim 51 in which the compound is administered to the forehead.

55. A method according to claim 51 in which the compound is administered to the palms of the hand.

56. A method according to claim 51 in which the compound is administered to the soles of the feet.

57. A kit for topically administering to a subject an effective amount of the composition comprising an oligopeptide of from 6 to about 20 amino acids, said oligopeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1, the kit comprising said composition

50

and a positively charged carrier having attached positively charged branching groups independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, and fragments of HIV-TAT or of Antennapedia PTD or mixtures thereof, in which the subscript $n1$ is an integer of from 0 to about 20, and the subscript $n2$ is independently an odd integer of from about 5 to about 25 compound of claim 45,.

58. A kit according to claim 57 further comprising a custom applicator.

59. A kit according to claim 58 in which the custom applicator is designed for use by a health care professional.

60. A kit according to claim 58 in which the custom applicator is designed for self-administration by a subject.

61. A kit according to claim 57 comprising a pre-formulated composition comprising the compound and the carrier.

62. A kit according to claim 57 in which the compound and the carrier are separately formulated for combining prior to administration.

63. A kit according to claim 57 in which the compound is contained in a device for administering the compound to a subject via the skin.

64. A kit according to claim 63 in which the device is a skin patch.

65. A kit according to claim 57 wherein the carrier further comprises a polymeric backbone having attached positively charged branching groups, wherein the association between the carrier and the compound is non-covalent.

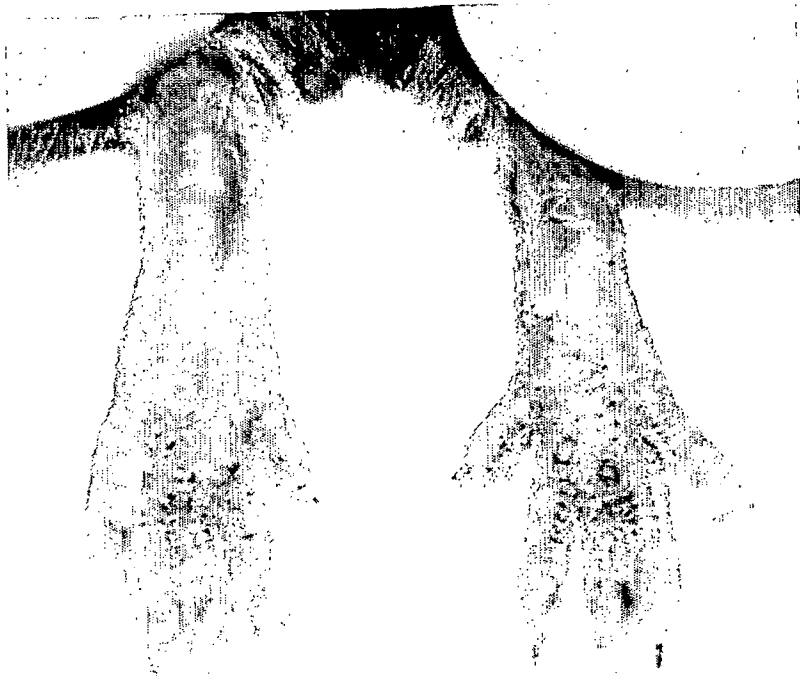
66. A kit according to claim 65 wherein the attached positively charged branching groups are independently selected from $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT and fragments thereof, and Antennapedia PTD or mixtures thereof, in which the subscript $n1$ is an integer of from 0 to about 20, and the subscript $n2$ is independently an odd integer of from about 5 to about 25.

67. A kit according to claim 66 in which the compound is contained in a device for administering the oligopeptide to a subject via the skin.

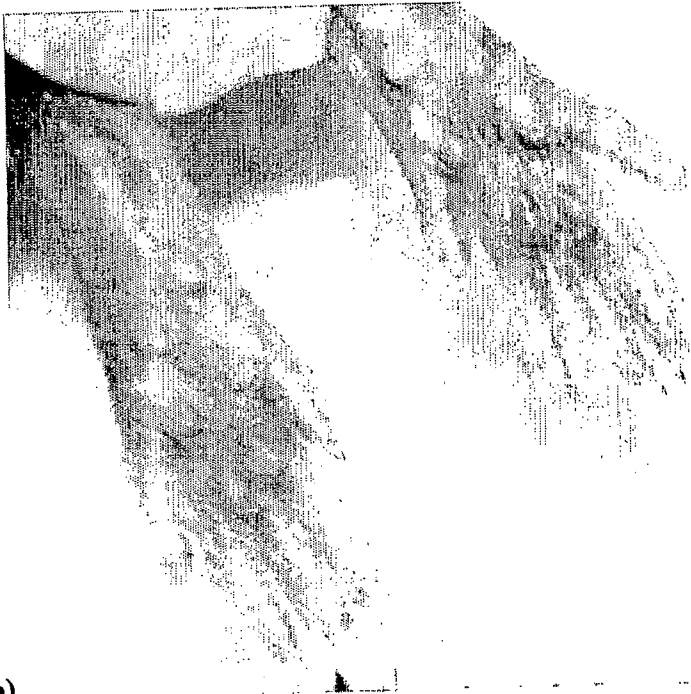
51

68. A kit according to claim 67 in which the device is a skin patch.

1/2
Figure 1



a)

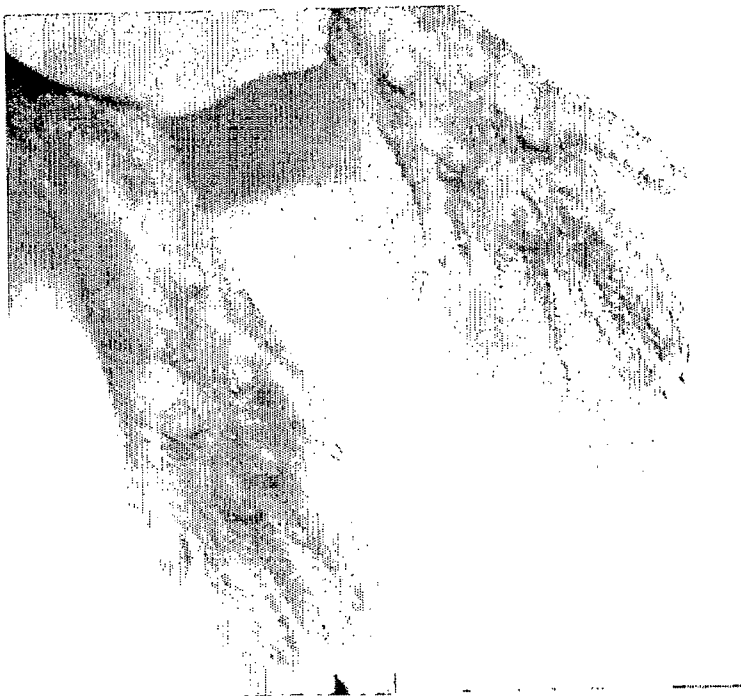


b)

2/2
Figure 1 (cont.)



c)



d)

WO 2006/094193

PCT/US2006/007600

SEQUENCE LISTING

<110> Revance Therapeutics, Inc.
 <120> Compositions and Methods for Topical Application and Transdermal Delivery of an Oligopeptide
 <130> 4649-4015PC
 <150> US 60/658,741
 <151> 2005-03-03
 <160> 3
 <170> PatentIn version 3.2
 <210> 1
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Artificial peptide which mimics botulinum toxin
 <400> 1

Glu Glu Met Gln Arg Arg
 1 5

<210> 2
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Peptide with negatively charged tail
 <400> 2

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

<210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Peptide with negatively charged tail
 <400> 3

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

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA APLICACIÓN TÓPICA Y SUMINISTRO
TRANSDÉRMICO DE UN OLIGOPÉPTIDO

5 **[0001]** Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional U.S. Ser. No. 60/658,741 presentada en marzo 3, 2005, incorporada aquí como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

10

[0002] La invención se relaciona con la aplicación transdérmica de oligopéptidos para reducir la transmisión sináptica en tejidos de un animal.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

[0003] Esta invención se relaciona con nuevas composiciones que comprenden un oligopéptido, más específicamente con tales composiciones que posibilitan el transporte o suministro de un oligopéptido a través de la piel o el epitelio (también denominado como "suministro transdérmico"), y que por lo tanto se puede utilizar
20 como aplicaciones tópicas para suministrar un oligopéptido a un sujeto, para varios propósitos terapéuticos, estéticos y/o cosméticos, como se describen aquí.

[0004] Las toxinas botulínicas (también conocidas como toxinas botulínicas o neurotoxinas de botulinum) son neurotoxinas producidas por las bacterias gram
25 positivas *Clostridium botulinum*. Ellas actúan para producir parálisis de los músculos al evitar la transmisión sináptica o liberar acetilcolina a través de las uniones neuromusculares, y se cree que actúan de otras maneras también. Su

acción bloquea esencialmente las señales que normalmente originarían espasmos o contracciones musculares, dando como resultado parálisis.

[0005] Allan B. Scott utilizó primero la toxina A del botulinum (BTX-A) en monos en 1973. Scott demostró parálisis muscular ocular reversible que duraba 3 meses (Lamanna, *Science*, 130:763-772 (1959). Pronto posteriormente, el BTX-A se reportó por ser un tratamiento exitoso en humanos para estrabismo, blefaroespasma, y tortícolis espasmódica (Baron et al., In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Eds), *Bailey & Scotts Diagnostic Microbiology*, St. Louis, MO: Mosby Year Book, 504-523 (1994); Carruthers y Carruthers, *Adv Dermatol*, 12:324-348 (1997); Markowitz, In: Strickland GT (Eds) *Hunters Tropical Medicine*, 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 441-444 (1991)). En 1986, Jean y Alastair Carruthers, un equipo de esposo y esposa que consistían de un cirujano oculoplástico y una dermatóloga, iniciaron la evolución del uso cosmético de BTX-A para tratamiento de arrugas asociadas con el movimiento en el área de glabella (Schantz y Scott, In Lewis GE (Ed) *Biomedical Aspects of Botulinum*, New York: Academic Press, 143-150 (1981)). El uso de los Carruthers del BTX-A para el tratamiento de arrugas condujo a su publicación seminal de esta aproximación en 1992 (Schantz y Scott, In Lewis GE (Ed) *Biomedical Aspects of Botulinum*, New York: Academic Press, 143-150 (1992)). Hacia 1994, el mismo equipo reportó experiencias con otras arrugas asociadas a movimientos en la cara (Scott, *Ophthalmol*, 87:1044-1049 (1980)). Esto a su vez condujo al nacimiento de la era del tratamiento cosmético con BTX-A.

[0006] La piel protege los órganos del cuerpo de las amenazas del ambiente externo y actúa como un termostato para mantener la temperatura del cuerpo. Esto consiste de varias diferentes capas, cada una con funciones especializadas.

Las capas principales incluyen la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es una capa estratificante de las células epiteliales que se sobrepone a la dermis, que consiste de tejido conectivo. Tanto la epidermis como la dermis son además soportadas por la hipodermis, una capa interna de tejido adiposo.

5

[0007] La epidermis, la capa más superior de la piel, es solamente de 0.1 a 1.5 milímetros de grosor (Inlander, Skin, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). Esta consiste de queratinocitos y está dividida en varias capas basadas en su estado de diferenciación. La epidermis se puede además clasificar en el estrato corneo y la epidermis viable, que consiste de células melphigian granulares y basales. El estrato corneo 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 soportar agua de la queratina. Cuando la capa cornea pierden su suavidad y flexibilidad éstas se vuelven ásperas y quebradizas, dando como resultado una piel seca.

10
15

[0008] La dermis, que descansa exactamente por encima de la epidermis, es de 1.5 a 4 milímetros de gruesa. Ésta es la más gruesa de las tres capas de la piel. Además, la dermis es también hogar de la mayoría de las estructuras de la piel, que incluyen las glándulas sudoríparas y grasas (que secretan sustancias a través de aberturas en la piel denominadas poros, o comedos), los folículos pilosos, las terminaciones nerviosas, y los vasos sanguíneos y linfáticos (Inlander, Skin, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). Sin embargo, los componentes principales de la dermis son el colágeno y la elastina.

20
25

[0009] La hipodermis es la capa más profunda de la piel. Ésta actúa tanto como un aislante para la conservación del calor del cuerpo y como un absorbedor de

choques para protección de los órganos (Inlander, Skin, New York, NY: *People's Medical Society*, 1-7 (1998)). Además, la hipodermis también almacena grasa para reservas de energía. El pH de la piel está normalmente entre 5 y 6. Esta acidez es debido a la presencia de aminoácidos amfotéricos, 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 sobre la mayoría de las regiones de la piel. La capacidad amortiguadora de la piel es debida en parte a estas secreciones almacenadas en la capa cornea de la piel.

10 **[0010]** Una de las funciones principales de la piel es suministrar una barrera al transporte de agua y a las sustancias potencialmente dañinas a la homeóstasis normal. El cuerpo rápidamente se deshidrataría sin una piel dura, semi-permeable. La piel ayuda a evitar la entrada de sustancias dañinas al cuerpo. Aunque la mayoría de las sustancias no pueden penetrar la barrera, se ha desarrollado un
15 número de estrategias para incrementar selectivamente la permeabilidad de la piel con éxito variable.

[0011] La toxina botulínica tipo A se dice que es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. Al mismo tiempo, los efectos paralizantes en los
20 músculos de la toxina botulínica se han utilizado para efectos terapéuticos. La administración controlada de la toxina botulínica se ha utilizado para suministrar parálisis muscular para tratar condiciones, por ejemplo, trastornos neuromusculares, caracterizados por músculos del esqueleto hiperactivos. Se han tratado condiciones con la toxina botulínica que incluyen espasmo hemifacial,
25 tortícolis espasmódica de ataque en adultos, hendidura anal, blefaroespasma, parálisis cerebral, distonia cervical, dolores de cabeza en migraña, estrabismo, desorden articular temporomandibular, y varios tipos de calambres y espasmos

musculares. Más recientemente los efectos paralizantes en el músculo de la toxina botulínica han tomado ventaja en aplicaciones faciales terapéutica y cosmética tales como el tratamiento de arrugas, líneas del seño, y otros resultados de espasmos o contracciones de los músculos faciales.

5

[0012] En todos los tratamientos habitualmente utilizada, la toxina botulínica se administra mediante una inyección cuidadosamente controlada y monitoreada, creando grandes pozos de toxina en el sitio de tratamiento. Unas pocas escasas referencias al tratamiento tópico están presentes en la literatura. Por ejemplo, aseveraciones de que la toxina botulínica se puede aplicar tópicamente se hacen en la Patente U.S. 6,063,768 de Eric R. First, pero no se da ninguna información de cómo se puede lograr esto. En otra patente en la cual First es mencionado como inventor, la patente U.S. 6,087,327 (de Pearce y First), se hace mención de que la toxina botulínica se puede administrar tópicamente mediante solubilización en un estabilizador de gelatina que contiene un amortiguador de fosfato normal y que se administra tópicamente en la cavidad nasal de un perro. La patente cita una publicación por Shaari et al., (*Otolaryngol. Head Neck Surg.* **112**; 566, 1995) en la cual se condujo tal experimento. La solicitud de patente alemana publicada 198 52 981 describe las composiciones tópicas que contienen la toxina botulínica y dimetil sulfóxido para el tratamiento de hiperhidrosis. Se incluye un ejemplo en el cual un único paciente fue tratado.

[0013] La patente US 5,670, 484 (Binder) describe el uso de la toxina botulínica en el tratamiento de trastornos proliferativos de célula cutánea (por ejemplo, soriasis y dermatitis) utilizando neurotoxinas, que incluyen la toxina botulínica. La patente asevera que las composiciones se pueden aplicar tópicamente, pero no se da ningún ejemplo de las formulaciones adecuadas, y en los ejemplos de prueba

25

la toxina botulínica se administró mediante inyección. La solicitud U.S. publicada 2003/0113349 (Coleman III) representan que las formulaciones tópicas que tienen toxina botulínica se pueden utilizar para tratar condiciones glandulares hiperactivas en la piel. Sin embargo, la descripción se relaciona con las condiciones en las glándulas cutáneas y no discute las aplicaciones transdérmicas. Además, como la mayoría de las publicaciones discutidas aquí, ésta no contiene ejemplos de trabajo. Finalmente, la solicitud U.S. publicada 2004/0009180 (Donovan) describe el uso de la toxina botulínica en tratamientos tópicos para un número de condiciones, algunas de las cuales aparentemente involucran el suministro transdérmico, por ejemplo, la aplicación tópica para relajar músculos. La publicación establece que el suministro transdérmico se logra al utilizar un agente de mejoramiento. Los agentes que se dice que son adecuados para este propósito incluyen varios alcoholes, incluyendo polialcoholes, aminas, amidas, transferomas y liposomas. Los ejemplos son todos escritos en tiempo presente, indicando que algunos o todos pueden ser conceptuales en lugar de empíricos.

[0014] Una aproximación para resolver los problemas asociados con la terapia con toxina botulínica es el uso de fragmentos de la toxina u otros agentes que interfieran con el complejo SNARE. El complejo SNARE es un montaje de tres proteínas que juegan un papel central en la exocitosis neuronal, el proceso donde las vesículas neurotransmisoras cargadas se fusionan con la membrana de la célula de la neurona y expelen sus contenidos. (Gutiérrez. L.M. et. al. *FEBS Lett.* 372, 39-43 (1995); Gutierrez, L.M., et al. *J. Biol. Chem.* 272, 2634-2639 (1997); Ferrer-Montiel, A.V., et. al. *FEBS Lett.* 435, 84-88 (1998)).

[0015] Este trabajo ha resultado en la identificación de oligopéptidos efectivos de 20 o más aminoácidos. Sin embargo, estos agentes como las toxinas mismas de botulinum también se encontraron que tenían una capacidad extremadamente pobre para penetrar la piel. Más recientemente, 6 péptidos de amino ácido con la
5 secuencia ácido glutámico-ácido glutámico-metionina-glutamina-arginina- arginina (EEMQRR) ha mostrado retener alguna actividad en un modelo. (C. Blanes-Mira, et. al. *International Journal of Cosmetic Science*, 2002, 24, 303-301).

[0016] Este hexapéptido, cuando se deriva para mejorar la penetración en la
10 piel y se emplea a concentraciones muy altas tales como 10% logra la reducción de arrugas en ciertos casos (acetil hexapéptido o ARGIRELINE®). Sin embargo, la penetración transdérmica de este péptido aún cuando se deriva con palmitato o acilado como ARGIRELINE® permanece tan bajo que la eficacia en la reducción de arrugas requiere altas concentraciones de compuestos costosos – la mayoría
15 de los cuales no atraviesan la piel. Las ventajas de seguridad con relación a las toxinas completas de botulinum son probables pero no se han establecido todavía en estas solicitudes dadas con la alta carga necesitada por la penetración baja de la piel. De esta manera, las limitaciones de las toxinas botulínicas en términos de ruta de administración se preservan grandemente con estos agentes.

20

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

[0017] Es evidente que existen por lo menos dos problemas asociados con el uso terapéutico de la toxina botulínica. El primero es la toxicidad inherente de la
25 toxina botulínica que resulta en el requisito de una supervisión médica cercana de su uso. La segunda es la gran dificultad de conseguir que la toxina botulínica penetre la piel con el fin de que ésta alcance el sitio donde se necesita que ejerza

sus efectos biológicos. La presente invención maneja ambos de estos problemas al suministrar un oligopéptido que tenga una actividad biológica similar a la toxina botulínica pero como mucho menor nivel de toxicidad y un peso molecular inferior para mejorar su penetración de la piel.

5

[0018] En un aspecto, esta invención se relaciona con composiciones que comprenden un oligopéptido y opcionalmente un portador que comprenda una “estructura” positivamente cargada que tenga ramificaciones positivamente cargadas o grupos de “eficiencia”, como se describieron aquí. Más preferiblemente el portador positivamente cargado es un polipéptido positivamente cargado de

10 cadena larga o un polímero no peptídico positivamente cargado, por ejemplo, una polialquilenoinmina. La invención se relaciona además con métodos para producir un efecto biológico de reducir la transmisión sináptica en un tejido al aplicar tópicamente una cantidad efectiva de tal composición, preferiblemente a la piel, de

15 un sujeto o paciente que necesite de tal tratamiento.

[0019] Esta invención también suministra kits para preparar o formular una composición que comprende el oligopéptido y opcionalmente un portador, así como también tales ítems adicionales que sean necesarios para producir una

20 formulación utilizable, o una premezcla que pueda a su vez ser utilizada para producir tal formulación. Alternativamente el kit comprende medios para administrar separadamente, pero en conjunto, el oligopéptido y un portador a un sujeto.

25 **[0020]** Esta invención también suministra una composición que comprende un primer oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho primer oligopéptido comprende la secuencia de amino ácido de la SEQ ID NO: 1, la

composición comprende además un portador que comprende un segundo oligopéptido que tiene grupos de ramificación positivamente cargados unidos independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}$ $-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de desde aproximadamente 5 a aproximadamente 25.

[0021] Esta invención también suministra un método para reducir los síntomas

asociados con una condición médica seleccionada de una lista que consiste de distonía, espasmos musculares, trastornos neuronales autonómicos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos auditivos internos, trastornos musculares, trastornos por compresión nerviosa, hiperhidrosis, acné, moco, secreciones, soriasis, trastornos cutáneos relacionados con diabetes, curación de heridas, trastornos de glándula mamaria, crecimiento velloso, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hipercalcemia que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición que comprende un primer oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho primer oligopéptido comprende la secuencia de amino ácido de la SEQ ID NO: 1, la composición comprende además un portador que comprende un segundo oligopéptido que tiene grupos de ramificación positivamente cargados unidos independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}$ $-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de desde aproximadamente 5 a aproximadamente 25.

[0022] Esta invención también suministra un compuesto que comprende un oligopéptido de desde 7 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende la secuencia de amino ácido de la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades el oligopéptido puede comprender de 8, 9 o 10 a aproximadamente 20 aminoácidos.

[0023] Esta invención también suministra un método para reducir los síntomas asociados con una condición médica seleccionada de la lista que consiste de distonia, espasmos musculares, trastornos neuronales autonómicos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos auditivos internos, trastornos musculares, trastornos por compresión nerviosa, hiperhidrosis, acné, moco, secreciones, soriasis, trastornos cutáneos relacionados con diabetes, curación de heridas, trastornos de glándula mamaria, crecimiento velloso, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hipercalcemia que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que comprende un oligopéptido de 7 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende la secuencia de amino ácido de la SEQ ID NO: 1.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0024] La **Figura 1** es una serie de fotografías que describen la producción de sudor de pata de ratón visualizada mediante teñido con yodo-almidón (positivos azul-negro) 7 días después de la aplicación tópica del oligopéptido EEMQRR (pata izquierda) o la toxina botulínica (pata derecha) sin portador (a y c) o el oligopéptido EEMQRR (pata izquierda) o la toxina botulínica (pata derecha) con KNR (b y d) en dos animales diferentes.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0025] Esta invención provee composiciones y métodos para suministrar, particularmente suministro transdérmico, de un oligopéptido mediante la aplicación
5 tópica de una formulación apropiada.

[0026] El oligopéptido comprende de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos y comprende la secuencia de amino ácido EEMQRR (SEQ ID NO: 1). En la medida en que el oligopéptido va a ser suministrado transdérmicamente, se prefiere que el
10 oligopéptido comprenda tan pocos aminoácidos más allá de 6 como sea posible, con un tamaño máximo de aproximadamente 20 aminoácidos. En algunas modalidades el oligopéptido comprende desde 7, 8, 9 o 10 a aproximadamente 20 aminoácidos y comprende la secuencia de amino ácido EEMQRR (SEQ ID NO: 1). Los aminoácidos pueden estar en la forma D o L. Para mejorar el suministro
15 transdérmico, este oligopéptido se puede modificar opcionalmente mediante la adición de grupos cargados que incluyen pero no están limitados a un grupo acetilo, un grupo amida, un grupo fosfato, o ácidos grasos que incluyen pero no están limitados a un grupo palmitoilo o similar a tales modificaciones. En algunas modalidades, el oligopéptido contiene la secuencia de 3-14 aminoácidos neutros o
20 no polares inmediatamente adyacentes a la SEQ ID NO: 1 con el fin de suministrar un carácter anfipático al oligopéptido, mejorando su capacidad para penetrar la piel. Estas modificaciones del oligopéptido pueden estar en el extremo C-terminal o N-terminal del oligopéptido o en ambos extremos. Las modificaciones también se pueden combinar sobre un oligopéptido, como un ejemplo no limitante el
25 oligopéptido se podría acetilar al extremo N-terminal y contener aminoácidos neutros en el extremo C-terminal o el inverso. Los oligopéptidos con modificaciones diferentes también se podrían combinar en algunas modalidades.

[0027] Para las modalidades donde el oligopéptido se va a utilizar junto con un portador positivamente cargado, el oligopéptido puede contener las secuencias de amino ácido adyacentes a la SEQ ID NO: 1 que mejoren la interacción no covalente entre el oligopéptido y el portador positivamente cargado. Por ejemplo
5 las secuencias de aminoácidos negativamente cargados, interactuarían fuertemente con el portador positivamente cargado. Dos modalidades no limitantes de tal oligopéptido son los decapeptidos DDDDEEMQRR (SEQ ID NO: 2) y EEMQRRDDDD (SEQ ID NO: 3). En algunas modalidades, las mezclas de diferentes oligopéptidos se puede utilizar, por ejemplo tanto en los decapeptidos
10 de la SEQ ID NO: 2 como de la SEQ ID NO: 3 se podrían utilizar en combinación.

[0028] La secuencia de amino ácido SEQ ID NO: 1 del oligopéptido interfiere con el funcionamiento del complejo SNARE de manera similar a la toxina botulínica dando como resultado la inhibición de la liberación de acetilcolina y la
15 disminución resultante de la transmisión sináptica. La SEQ ID NO: 1 ha mostrado tener efectos biológicos similares a la toxina botulínica (C. Blanes-Mira, *et. al. International Journal of Cosmetic Science*, 2002, 24, 303-310).

[0029] Dada la capacidad de la SEQ ID NO: 1 para reducir la transmisión
20 sináptica, existe un número de condiciones médicas que podrían ser tratadas con este oligopéptido. Estas incluyen pero no están limitadas a condiciones donde las contracciones o espasmos musculares crónicos pueden originar dolor o discapacidad. Tales condiciones incluyen pero no están limitadas a migraña u otros dolores de cabeza, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, epilepsia,
25 temblores, distonias, espasmos musculares, trastornos neuronales autonómicos, estrabismo y mioclonía palatina. Sin querer estar limitados por la teoría, la administración del oligopéptido de la presente invención bloquearía o reduciría los

impulsos nerviosos que alcanzan los músculos afectados mejorando de esta manera o aliviando la condición. La presente invención no pretende mejorar la apariencia cosmética al reducir o eliminar las líneas finas o arrugas de la cara.

5 **[0030]** El oligopéptido de la presente invención también se podría utilizar para tratar una variedad de condiciones glandulares. Muchos tejidos glandulares se controlan por los impulsos nerviosos autonómicos y el oligopéptido de la presente invención se podría utilizar para bloquear estos impulsos nerviosos y reducir de esta manera la secreción de estos tejidos. Las condiciones médicas específicas
10 que beneficiarían este tratamiento incluyen pero no están limitadas a hiperhidrosis, acné, dermatitis seborreica, trastornos de la glándula mamaria y exceso de secreción de moco.

[0031] Aunque el mecanismo no es claro, los compuestos neurotóxicos con
15 actividad en el complejo SNARE similares a aquel del oligopéptido de la presente invención se ha encontrado que tiene actividad en ciertos trastornos proliferativos de la piel tales como soriasis, manifestaciones cutáneas de diabetes y curación de heridas. El tratamiento con el oligopéptido de la presente invención se espera que reduzca o mejore los síntomas de los trastornos proliferativos de la piel.

20

[0032] De acuerdo con la presente invención, una molécula portadora positivamente cargadas que tenga los grupos de eficiencia, como se describe aquí, se ha encontrado adecuada como un sistema de transporte para un oligopéptido, que le posibilita al oligopéptido ser administrado transdérmicamente
25 a los músculos y/o otras estructuras asociadas con la piel. El transporte ocurre sin modificación covalente del oligopéptido.

[0033] Por “positivamente cargado” se significa que el portador tenga una carga positiva bajo al menos algunas condiciones de solución-fase, que incluyen por lo menos algunas condiciones fisiológicamente compatibles. Más específicamente, “positivamente cargado” como se utiliza aquí, significa que el grupo en cuestión
5 contiene funcionalidades que se cargan bajo todas las condiciones de pH, por ejemplo, una amina cuaternaria, o contiene una funcionalidad que puede adquirir carga positiva bajo ciertas condiciones de solución-fase, tal como cambios de pH en el caso de aminas primarias. Más preferiblemente, “positivamente cargado” como se utiliza aquí se refiere a aquellos grupos que tienen un comportamiento de
10 asociarse con aniones sobre condiciones fisiológicamente compatibles. Los polímeros con una multiplicidad de porciones positivamente cargadas no necesitan ser homopolímeros, como será evidente para un experto en la técnica. Otros ejemplos de porciones positivamente cargadas son bien conocidos en la técnica anterior y se pueden emplear fácilmente, como será evidente para aquellos
15 expertos en la técnica.

[0034] En general, el portador positivamente cargado (también denominado como una “estructura positivamente cargada”) es típicamente una cadena lineal de átomos, con grupos en la cadena que llevan una carga positiva a un pH fisiológico,
20 o con grupos que llevan una carga positiva unidos a las cadenas laterales que se extienden desde la estructura. Preferiblemente, la estructura positivamente cargada en si misma no tendrá una actividad enzimática definida o biológica terapéutica. La estructura lineal es una estructura de hidrocarburo la cual es, en algunas modalidades, interrumpida por los heteroátomos seleccionados del
25 nitrógeno, oxígeno, azufre, silicio y fósforo. La mayoría de los átomos de la cadena de la estructura son usualmente carbono. Adicionalmente, la estructura será a menudo un polímero de unidades repetitivas (por ejemplo, aminoácidos,

poli(etilenoxi), poli(propilenoamina), polialquilenoimina, y similares) pero puede ser un heteropolímero. En un grupo de modalidades, la estructura positivamente cargada es una polipropilenoamina en donde el número de átomos de nitrógeno de la amina están presentes como grupos amonio (tetra-sustituidos) que llevan una carga positiva. En otra modalidad, la estructura positivamente cargada es un polímero no peptídico, el cual puede ser un hetero u homo polímero tal como una polialquilenoimina, por ejemplo, una polietilenoimina o polipropilenoimina, que tenga un peso molecular desde aproximadamente 10,000 a aproximadamente 2,500,000, preferiblemente desde aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,800,000, y más preferiblemente desde aproximadamente 500,000 a aproximadamente 1,400,000. En otro grupo de modalidades, la estructura tiene adherida una pluralidad de porciones de cadena lateral que incluyen grupos positivamente cargados (por ejemplo, grupos amonio, grupos piridinio, grupos fosfonio, grupos sulfonio, grupos guanidinio, o grupos amidinio). Las porciones de cadena lateral en este grupo de modalidades se pueden colocar en espaciamientos a lo largo de la estructura que sean consistentes en las separaciones o variables. Adicionalmente, la longitud de las cadenas laterales puede ser similar o no similar. Por ejemplo, en un grupo de modalidades, las cadenas laterales pueden ser cadenas de hidrocarburo lineales o ramificadas que tengan de uno a veinte átomos de carbono y que terminen en el extremo distante (alejados de la estructura) en uno de los grupos positivamente cargados anotados anteriormente. En todos los aspectos de la presente invención, la asociación entre el portador y el oligopéptido es mediante interacción no covalente cuyos ejemplos no limitantes incluyen interacciones iónicas, uniones de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, o combinaciones de éstos.

[0035] En un grupo de modalidades, la estructura positivamente cargada es un polipéptido que tiene unos grupos de cadena lateral positivamente cargados múltiples (por ejemplo, lisina, arginina, ornitina, homoarginina, y similares). Preferiblemente, el polipéptido tiene un peso molecular de desde
5 aproximadamente 10,000 a aproximadamente 1,500,000, más preferiblemente desde aproximadamente 25,000 a aproximadamente 1,200,000, más preferiblemente desde aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,000,000. Un experto en la técnica apreciará que cuando se utilizan aminoácidos en esta porción de la invención, las cadenas laterales pueden tener la forma de D o L
10 (configuración R o S) al centro de la unión. Alternativamente, la estructura puede ser análoga de un polipéptido tal como un peptoide. Ver, 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 resumen, un peptoide es una poliglicina en la cual la cadena lateral
15 está unida a los átomos de nitrógeno de la estructura en lugar de los átomos de carbono α . Como anteriormente, una porción de las cadenas laterales típicamente terminará en un grupo positivamente cargado para suministrar un componente de estructura cargado positivamente. La síntesis de los peptoides se describe en, por ejemplo, la Patente U.S. No. 5,877,278, que se incorpora aquí como referencia en
20 su totalidad. Como se utiliza el término aquí, estructuras positivamente cargadas que tienen una construcción de estructura peptoide se consideran "no péptido" en razón a que ellos no están compuestos de aminoácidos que tengan cadenas laterales de ocurrencia natural en los sitios de carbono α .

25 **[0036]** Una variedad de otras estructuras se pueden utilizar empleando, por ejemplo, mímicos estéricos o electrónicos de polipéptidos en donde los enlaces amida del péptido se reemplazan con subrogados tales como enlaces éster,

tioamidas (-CSNH-), tioamida inversa (-NHCS-), aminometileno (-NHCH₂-), o los grupos metilenoamino inverso (-CH₂NH-), grupos cetometileno (-COCH₂-), fosfinato (-PO₂RCH₂), fosfonamidato y fosfonamidato éster (-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-), metilenosulfonamido (-CHRSO₂NH-), sulfonamido inversa (-NHSO₂-), y estructuras con malonato y/o subunidades gem-diamino-alquilo, por ejemplo, como se revisó por Fletcher *et al.* ((1998) *Chem. Rev.* 98:763) y se detalló por las referencias citadas aquí. Muchas de las sustituciones anteriores resultan en estructuras de polímero aproximadamente isostéricas con relación a las estructuras formadas de aminoácidos α.

[0037] En cada una de las estructuras suministradas anteriormente, los grupos de cadenas lateral se pueden colocar al final para llevar un grupo cargado positivamente. Por ejemplo, las estructuras enlazadas a sulfonamida (-SO₂NH- y -NHSO₂-) pueden tener grupos de cadena lateral unidos a los átomos de nitrógeno. De manera similar, el enlace de hidroxietileno (-CH(OH)CH₂-) pueden llevar un grupo de cadena lateral unido al sustituyente hidroxilo. Un experto en la técnica puede ser fácilmente adaptado a otras químicas de enlace para suministrar grupos de cadena lateral positivamente cargados utilizando métodos sintéticos estándar.

[0038] En una modalidad, la estructura positivamente cargada es un polipéptido que tiene grupos de ramificación (también denominados como grupos de eficiencia). Como se utiliza aquí, el grupo de eficiencia o el grupo de ramificación es cualquier agente que tenga el efecto de promover la translocación de la estructura positivamente cargada a través de un tejido o una membrana celular. Ejemplos no limitantes de grupos de ramificación o de eficiencia incluyen -(gly)_{n1} -

(arg)_{n2}, HIV-TAT, o fragmentos de éstos, o el dominio de transducción de proteína de Antennapedia, o un fragmento de éste, en el cual el subíndice n1 es un entero de 0 a 20, en algunas modalidades 0 a 8, en otras modalidades 2 a 5, y el subíndice n2 es independientemente un entero aleatorio de desde
5 aproximadamente 5 a aproximadamente 25, en algunas modalidades aproximadamente 7 a aproximadamente 17, en otras modalidades aproximadamente 7 a aproximadamente 13. Modalidades adicionales son aquellas en las cuales el fragmento HIV-TAT tiene la fórmula

(gly)_p – RGRDDRRQRRR–(gly)_q, (gly)_p –YGRKKRRQRRR–(gly)_q o

10 (gly)_p–RKKRRQRRR–(gly)_q en donde los subíndices p y q son cada uno independientemente un entero de 0 a 20 y el fragmento está unido a la estructura por vía del terminal C o el terminal N del fragmento. Los fragmentos HIV-TAT preferidos son aquellos en los cuales los subíndices p y q son cada uno independientemente enteros de 0 a 8, más preferiblemente 2 a 5. En otra
15 modalidad, la cadena lateral positivamente cargada o el grupo de ramificación es el dominio de transducción de proteína de Antennapedia (Antp) (PTD), o un fragmento de esta que retiene actividad. El portador positivamente cargado también puede incluir grupos de ramificación positivamente cargados de cadena lateral en una cantidad de por lo menos aproximadamente 0.05%, como un
20 porcentaje del peso total del portador, desde aproximadamente 0.05 a aproximadamente 45 % en peso, y en algunas modalidades desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 30 % en peso. Para los grupos de ramificación positivamente cargados que tienen la fórmula –(gly)_{n1}–(arg)_{n2}, la cantidad va de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 25%.

25

[0039] En otra modalidad, la porción de la estructura es una polilisina y los grupos de ramificación positivamente cargados están unidos a los grupos amino

de cadena lateral de lisina. La polilisina puede tener un peso molecular de desde aproximadamente 10,000 a aproximadamente 1,500,000, en algunas modalidades desde aproximadamente 25,000 a aproximadamente 1,200,000, y en otras modalidades desde aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,000,000.

- 5 Ésta puede ser cualquiera polilisina comercialmente disponible (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA) tal como, por ejemplo, polilisina que tiene MW > 70,000, polilisina que tiene MW de 70,000 a 150,000, polilisina que tiene MW 150,000 a 300,000 y polilisina que tiene MW > 300,000. La selección de una polilisina apropiada dependerá de los componentes restantes de la composición y
- 10 serán suficientes para suministrar una carga positiva neta total a la composición y suministrar una longitud que es de una a cuatro veces la longitud combinada de los componentes negativamente cargados. Los grupos de ramificación cargados positivamente adecuados o los grupos de eficiencia incluyen, por ejemplo, -gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg-arg (-Gly₃Arg₇) o HIV-TAT. En otra modalidad la
- 15 estructura positivamente cargada es una polialquilenoimina de cadena larga tal como polietilenoimina, por ejemplo, una que tiene un peso molecular de aproximadamente 1,000,000.

- [0040]** Las estructuras positivamente cargadas o las moléculas portadoras que
- 20 comprenden los polipéptidos o las polialquilenoiminas, que tienen los grupos de ramificación descritos anteriormente, son compuestos novedosos y forman un aspecto de esta invención.

- [0041]** En una modalidad de la invención, solamente un portador positivamente
- 25 cargado que tiene grupos de ramificación positivamente cargados son necesarios para el suministro transdérmico de la toxina botulínica. En ciertas modalidades, el portador positivamente cargado es un polipéptido (por ejemplo, lisina, arginina,

74

ornitina, homoarginina, y similares) que tienen grupos de cadena lateral positivamente cargados múltiples, como se describió anteriormente. El polipéptido tiene un peso molecular de por lo menos aproximadamente 10,000. En otra modalidad, el portador positivamente cargado es un polímero no peptídico tal como una polialquilenoimina que tiene grupos de cadena lateral positivamente cargados múltiples, que tienen un peso molecular de por lo menos aproximadamente 100,000. Tales polialquilenoiminas incluyen polietileno y polipropilenoiminas. En cualquier caso, para uso del agente necesario solo para suministrar transdérmicamente la molécula portadora positivamente cargada incluyen grupos de ramificación o de eficiencia positivamente cargados, que comprenden $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de 0 a 20 en algunas modalidades 0 a 8, aún en otras modalidades 2 a 5, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de desde aproximadamente 5 a aproximadamente 25, en algunas modalidades desde aproximadamente 7 a aproximadamente 17, y otras modalidades desde aproximadamente 7 a aproximadamente 13, el HIV-TAT o los fragmentos de este, o la Antennapedia PTD o fragmento de ésta. Los grupos de cadena lateral o ramificados tienen la fórmula general $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$ como se describió anteriormente. Otras modalidades son aquellas en las cuales los grupos de ramificación o de eficiencia son los fragmentos HIV-TAT que tienen la fórmula $(\text{gly})_p\text{-RGRDDRRQRRR-(gly)}_q$, $(\text{gly})_p\text{-YGRKKRRQRRR-(gly)}_q$, o $(\text{gly})_p\text{-RKKRRQRRR-(gly)}_q$, en donde los subíndices p y q son cada uno independientemente un entero desde 0 a 20 y el fragmento está unido a la molécula portadora por vía del terminal C o el terminal N del fragmento. Los grupos de ramificación lateral pueden tener la forma D o L (configuración R o S) al centro de la unión. Los fragmentos HIV-TAT adecuados son aquellos en los cuales los subíndices p y q son cada uno independientemente enteros de 0 a 8, en algunas modalidades 2 a 5. Otras modalidades son aquellas

en las cuales los grupos de ramificación son los grupos de Antennapedia PTD o los fragmentos de éstos que retienen la actividad del grupo. Estos son conocidos en la técnica, por ejemplo, de Console et al., *J. Biol. Chem.* 278:35109 (2003). El portador positivamente cargado incluye grupos de ramificación positivamente cargados de cadena lateral en una cantidad de por lo menos aproximadamente 0.05%, como un porcentaje del peso total del portador, desde aproximadamente 0.05 a aproximadamente 45 % en peso, y otras modalidades desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 30 % en peso. Para los grupos de ramificación positivamente cargados que tengan la fórmula $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, la cantidad va desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 25%.

[0042] En otra modalidad, el portador es una polilisina con grupos de ramificación positivamente cargados unidos a los grupos amino de cadena lateral de lisina. La polilisina utilizada en particularmente esta modalidad puede ser cualquiera polilisina comercialmente disponible (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA, por ejemplo) tal como, por ejemplo, polilisina que tiene MW > 70,000, polilisina que tiene MW de 70,000 a 150,000, polilisina que tiene MW 150,000 a 300,000 y polilisina que tiene MW > 300,000. Sin embargo, una polilisina adecuada tiene un MW de por lo menos aproximadamente 10,000. Los grupos de ramificación adecuados cargados positivamente o los grupos de eficiencia incluyen, por ejemplo, $-\text{gly-gly-gly-arg-arg-arg-arg-arg-arg}$ ($-\text{Gly}_3\text{Arg}_7$), HIV-TAT o fragmentos de ésta, y Antennapedia PTD o fragmentos de ésta.

[0043] En otras modalidades de esta invención, el portador es una estructura de polilisina o polietilenoimina (PEI) relativamente corta (que puede ser lineal o ramificada) y que tiene grupos de ramificación positivamente cargados. Tales

portadores son útiles para minimizar la agregación no controlada de las estructuras y la toxina botulínica en una composición terapéutica, que origina que la eficiencia del transporte disminuya dramáticamente. Cuando el portador es una polilisina lineal relativamente corta o estructura PEI, la estructura tendrá un peso molecular de menos de 75,000, en algunas modalidades menos de 30,000, y en otras modalidades, menos de 25,000. Cuando el portador es una polilisina ramificada relativamente corta o estructura PEI, sin embargo, la estructura tendrá un peso molecular de menos de 60,000, en algunas modalidades menos de 55,000 y en otras modalidades menos de 50,000. Si, sin embargo, los agentes de partición como se describen aquí están incluidos en la composición, el peso molecular de la polilisina ramificada y las estructuras de PEI pueden ser de hasta 75,000, mientras el peso molecular de la polilisina lineal y las estructuras de PEI pueden ser hasta de 150,000.

15 **[0044]** Las composiciones de esta invención están en la forma de productos a ser aplicados a la piel o epitelio de sujetos o pacientes, es decir, humanos u otros mamíferos necesitados del tratamiento particular. El término “necesitado” pretende incluir tanto las necesidades farmacéuticas como las necesidades relacionadas con la salud, por ejemplo, tratar hiperhidrosis, acné u otras condiciones que involucren el exceso de producción de secreciones o sudor. En general las composiciones se preparan al mezclar el oligopéptido con un portador, y usualmente con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales. En su forma más simple ellos pueden contener un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable acuoso simple, tal como solución salina amortiguada. Sin embargo, las composiciones pueden contener otros ingredientes típicos en composiciones farmacéuticas o cosméticas tópicas, esto es, un portador, vehículo o medio, dermatológica o farmacéuticamente

77

aceptable, es decir, un portador, vehículo o medio que sea compatible con los tejidos a los cuales ellos serán aplicados. El término "dermatológica o farmacéuticamente aceptable", como se utiliza aquí, significa que las composiciones o los componentes de éstos así descritos son adecuados para uso en contacto con estos tejidos o para uso en pacientes en general sin toxicidad indebida, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica, y similares. Según sea apropiado, las composiciones de la invención pueden comprender cualquier ingrediente convencionalmente utilizado en los campos bajo consideración, y particularmente en cosméticos y dermatología. Las composiciones también pueden incluir una cantidad de anión pequeña, preferiblemente un anión polivalente, por ejemplo, fosfato, aspartato, o citrato.

[0045] En términos de su forma, las composiciones de esta invención pueden incluir soluciones, emulsiones (incluyendo microemulsiones), suspensiones, cremas, lociones, geles, polvos, u otras composiciones sólidas o líquidas típicas utilizadas para la aplicación en la piel y otros tejidos donde se puedan utilizar las composiciones. Tales composiciones pueden contener, además del oligopéptido y el portador, otros ingredientes típicamente utilizados en tales productos, tales como antimicrobianos, agentes humectantes y de hidratación, agentes de penetración, preservativos, emulsificadores, aceites naturales o sintéticos, solventes, tensoactivos, detergentes, agentes gelificantes, emolientes, antioxidantes, fragancias, llenadores, espesantes, ceras, absorbentes de olor, materiales de tinte, agentes colorantes, polvos, agentes de control de viscosidad y agua, y opcionalmente incluye anestésicos, activos anti-prurito, extractos botánicos, agentes de acondicionamiento, agentes de oscurecimiento o aclaramiento, brillo, humectantes, mica, minerales, polifenoles, siliconas o derivados de éstas, bloqueadores de sol, vitaminas, y fitomedicinas.

[0046] Las composiciones de acuerdo con esta invención pueden estar en la forma de composiciones de liberación controlada o de liberación sostenida, en donde el oligopéptido y el portador opcional se encapsulan o se contienen de otra manera dentro de un material tales como aquellos que son liberados sobre la piel de una manera controlada durante el tiempo. El oligopéptido y el portador opcional pueden estar contenidos dentro de matices, liposomas, vesículas, microcápsulas, microesferas y similares, o dentro de un material particulado sólido, todos los cuales se seleccionan y/o construyen para suministrar la liberación del oligopéptido durante el tiempo. El oligopéptido y el portador opcional se pueden encapsular juntos (por ejemplo, en la misma cápsula) o separadamente (en cápsulas separadas).

[0047] En modalidades particulares, las composiciones incluyen agentes gelificantes y/o agentes modificadores de la viscosidad. Estos agentes se agregan generalmente para incrementar la viscosidad de la composición, con el fin de hacer la aplicación de la composición más fácil y más precisa. Adicionalmente, estos agentes ayudan a evitar que la solución de oligopéptido/portador acuosa se seque, lo que tiende a originar una disminución en la actividad del oligopéptido. Los agentes adecuados son aquellos que no están cargados y no interfieren con la actividad del oligopéptido o la eficiencia de los complejos de portador de oligopéptido en piel cruzada. Los agentes gelificantes pueden ser ciertos agentes gelificantes basados en celulosa, tal como por ejemplo hidroxipropilcelulosa (HPC). En algunas modalidades, el complejo de oligopéptido/portador se formula en una composición que tiene 2-4% de HPC. De manera alternativa, la viscosidad de una solución que contiene un complejo de oligopéptido/portador se puede alterar al agregar el polietilenglicol (PEG). En otras modalidades, la solución de

79

oligopéptido/portador se combina con agentes viscosos pre-mezclados, tales como el humidificador Cetaphil®.

[0048] Las composiciones de esta invención pueden incluir opcionalmente
5 agentes de partición. Como se utiliza aquí, un “agente de partición” es cualquier sustancia o aditivo que tenga la propiedad de evitar o minimizar la agregación no querida o no controlada del oligopéptido con los portadores de esta invención. Los agentes de partición pueden ser útiles, por ejemplo, cuando una solución de oligopéptido concentrada se debe emplear debido a restricciones de volumen. En
10 estos casos, el agente de partición mantiene el oligopéptido dispersado, evitando de esta manera la agregación del oligopéptido que ocurriría de otra manera sin el agente de partición. En general, un agente de partición es (1) no irritante, (2) no destruye el oligopéptido, (3) no le confiere ningún incremento en la permeabilidad, (4) logra tamaños de partícula confiables y estables, (5) es no cargado, y (6) no
15 interfiere con los complejos del oligopéptido y el portador transdérmico. Un ejemplo de un agente de partición adecuado es etanol (EtOH). En algunas modalidades, el EtOH es de menos del 20% de la composición, y en otras modalidades, menos de 5% de la composición.

20 **[0049]** El oligopéptido se puede suministrar a estructuras glandulares dentro de la piel, en una cantidad efectiva para producir una salida glandular reducida, u otros efectos deseados. El suministro local del oligopéptido de esta manera podría lograr reducciones de dosis, reducir la toxicidad y permitir una optimización de dosis más precisa para los efectos deseados con relación a las composiciones
25 inyectables o implantables. En el caso de hiperhidrosis que afecta la palma de la mano, el oligopéptido se puede aplicar en conjunto con un guante de tal forma que la absorción del oligopéptido se maximiza.

[0050] Las composiciones de la invención se aplican con el fin de administrar una cantidad efectiva del oligopéptido. El término "cantidad efectiva" como se utiliza aquí significa una cantidad de un oligopéptido como se definió anteriormente que sea suficiente para producir la reducción deseada en la transmisión sináptica pero que sea implícitamente una cantidad segura, es decir, una que sea suficientemente baja para evitar efectos colaterales serios. Los efectos deseados incluyen pero no están limitados a relajación de los músculos, reducción de temblores y una reducción en la cantidad de las secreciones glandulares producidas. Las composiciones de la invención pueden contener una cantidad efectiva apropiada del oligopéptido para la aplicación en un tratamiento de dosis simple, o pueden ser más concentradas, en dilución en el lugar de la administración o para uso en aplicaciones múltiples. A través del uso de los portadores positivamente cargados de esta invención, el oligopéptido se puede administrar transdérmicamente a un sujeto para tratar condiciones tales como hiperhidrosis o acné. El oligopéptido se administra tópicamente para el suministro transdérmico a los músculos o a otras estructuras asociadas a la piel. Como ejemplos no limitantes, la administración se puede hacer, por ejemplo, a las piernas, hombros, espalda (incluyendo espalda baja) axila, palmas, pies, cuello, entre pierna, dorso de las manos o pies, codos, brazos superiores, rodillas, piernas superiores, nalgas, torso, pelvis, o cualquier otra parte del cuerpo donde se desee la administración del oligopéptido.

[0051] Las composiciones se administran mediante o bajo la dirección de un médico u otro profesional del cuidado de la salud. Ellos se pueden administrar en un tratamiento simple o en una serie de tratamientos periódicos durante el tiempo. Para el suministro transdérmico del oligopéptido para los propósitos anteriormente mencionados, una composición como se describió anteriormente se aplica

tópicamente a la piel en un sitio o sitios donde se desee el efecto. En modalidades donde la solución del oligopéptido acuosa se aplica directamente a la piel, es preferible cubrir el área tratada (por ejemplo, con un humidificador Cetaphil®) u ocluir el área tratada con una barrera (por ejemplo, Telfa), con el fin de evitar que la solución se seque, lo cual conduciría a la disminución en la actividad de oligopéptido. En algunas modalidades la cantidad de oligopéptido aplicado se debe aplicar con cuidado, a una tasa de aplicación y frecuencia de aplicación que producirá el resultado deseado sin producir ningunos resultados adversos o indeseados. De acuerdo con esto, por ejemplo, las composiciones tópicas de la invención se deben aplicar a una tasa desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 800 µg, preferiblemente desde aproximadamente 1.0 a aproximadamente 50 µg de oligopéptido por cm² de superficie de la piel. Mayores dosis dentro de estos rangos se podrían emplear en conjunto con materiales de liberación controlada, por ejemplo, o que se les permita un tiempo de hinchamiento más corto sobre la piel antes de la remoción.

[0052] La preparación adecuada de la superficie de la piel antes de la aplicación de la composición de oligopéptido es importante para mantener la eficacia de la solución. Por ejemplo, la introducción de tensoactivos sobre la superficie de la piel para el propósito de limpiar los aceites superficiales sobre la piel antes de la aplicación es sorprendentemente contraproduktiva, en razón a que los tensoactivos parecen destruir la actividad de la toxina botulínica. Esto ocurre aún si la piel es posteriormente lavada con agua varias veces antes de la aplicación de la solución de oligopéptido. Aún tensoactivos extremadamente suaves, tales como aquellos encontrados en los limpiadores de bebe, parecen originar este fenómeno. De acuerdo con esto, en los métodos de administrar las composiciones de esta invención, la piel es pre-limpiada utilizando agua sola.

Lavar con solamente agua también parece mejorar el transporte transdérmico de la toxina botulínica moderadamente.

[0053] Adicionalmente, la piel se puede pelar para reducir la capa de estrato corneo antes de la aplicación del complejo de oligopéptido. En principio, el proceso de pelar la piel debe conducir a mejorar la eficiencia del transporte transdérmico del oligopéptido. Sin embargo, el método utilizado para pelar la piel es importante. Por ejemplo, la reducción mediada por acetona de la capa de estrato corneo en humanos o animales parece reducir la actividad del oligopéptido aplicado posteriormente. En contraste, el pelado de cinta (es decir, aplicar una cinta sobre la superficie de la piel y luego remover la cinta) parece permitir la penetración más profunda del oligopéptido y la reducción de la dosis. Se presume que la abrasión de la superficie de la piel (por ejemplo, por vía del uso de almohadillas abrasivas) originaría un efecto similar al del pelado de cinta.

[0054] Esta invención también comprende dispositivos para transmisión transdérmica de un oligopéptido que contiene una composición que a su vez comprende un portador que tiene una estructura positivamente cargada con unos grupos de ramificación unidos como se definió aquí, y un oligopéptido. Tales dispositivos pueden ser tan simples en construcción como un parche de piel, o pueden ser un dispositivo más complicado que incluye medios para suministrar y monitorear el suministro de la composición, y opcionalmente medios para monitorear la condición del sujeto en uno o más aspectos, incluyendo monitorear la reacción del sujeto a las sustancias que están siendo suministradas.

[0055] Las composiciones, en general ambas, y en tales dispositivos, pueden ser pre-formuladas o pre-instaladas en el dispositivo como tal, o se pueden

preparar posteriormente, por ejemplo utilizando un kit que contenga los dos ingredientes (portador oligopéptido y opcional) para combinar en o antes del tiempo de la aplicación. La cantidad de la molécula portadora o la proporción de ésta al oligopéptido dependerán de cual portador se escoja para uso en la
5 composición en cuestión. La cantidad apropiada o la proporción de la molécula portadora en un caso dado se puede determinar fácilmente, por ejemplo, al conducir uno o más excipientes tal como aquellos descritos adelante.

[0056] En general, la invención también comprende un método para administrar
10 oligopéptido a un sujeto o paciente necesitado de ello, que comprende administrar tópicamente una cantidad efectiva del oligopéptido opcionalmente en conjunto con un portador que comprende una estructura positivamente cargada con grupos de ramificación positivamente cargados unidos, como se describe aquí. Por “en conjunto con” se significa que los dos componentes (oligopéptido y portador) se
15 administran en un procedimiento de combinación, que puede involucrar combinarlos en una composición, la cual es luego administrada al sujeto, o administrándolos separadamente, pero de manera tal que ellos actúen juntos para suministrar el suministro de requisito de una cantidad efectiva de la proteína terapéutica. Por ejemplo, una composición que contiene el portador se puede
20 primero aplicar a la piel del sujeto, seguido al aplicar un parche de piel u otro dispositivo que contenga el oligopéptido. El oligopéptido se puede incorporar en forma seca en un parche de piel u en otro dispositivo de suministro y un portador positivamente cargado se puede aplicar a la superficie de la piel antes de la aplicación del parche de tal forma que los dos actúen juntos, dando como
25 resultado el suministro transdérmico deseado. En ese sentido, así, las dos sustancias (portador y oligopéptido) actúan en combinación o quizás interactúan para formar una composición o combinación in situ. De acuerdo con esto, la

invención también comprende un kit que incluye tanto un dispositivo para suministrar oligopéptido por vía de la piel como un líquido, gel, crema o similar que contenga el portador o la estructura, y que sea adecuado para aplicar a la piel o el epitelio del sujeto. Los kits para administrar la composición de las invenciones, 5 bajo dirección del profesional al cuidado de la salud o por el paciente o sujeto, pueden también incluir un aplicador habitual adecuado para ese propósito.

[0057] Las composiciones, kits y métodos de esta invención permiten el suministro de un oligopéptido más puro con actividad específica superior y 10 farmacocinéticos potencialmente mejorados. Además, el portador puede actuar como un estabilizador, reduciendo la necesidad de proteínas accesorias extrañas (por ejemplo, sero albúmina humana que varía desde 400-600 mg o sero albúmina recombinante que varía de 250-500 mg) y/o estabilizadores de polisacárido, y pueden lograr reducciones benéficas en respuestas inmunes al oligopéptido. 15 Además, las composiciones son adecuadas para uso en ambientes fisiológicos con pH que varía desde aproximadamente 4.5 a aproximadamente 6.3, y pueden así tener tal pH. Las composiciones de acuerdo con esta invención se pueden almacenar a temperatura ambiente o bajo condiciones de refrigeración.

20 **[0058]** Los siguientes son ejemplos no limitativos representativos de las implementaciones de la invención. Ellos demuestran el suministro de un oligopéptido funcional a través de la piel sin requerir la modificación covalente de oligopéptido, la capacidad de oligopéptido para reducir la producción de sudor y la capacidad de oligopéptido para reducir la tensión de las contracciones 25 musculares.

Ejemplo 1. Inhibición de Sudor mediante BOTOX® y el oligopéptido EEMQRR
en un Modelo de Patas Traseras de Ratón

[0059] Métodos:

5

[0060] Una solución de pilocarpina y anestésico de roedor se prepararon 24 horas antes del tratamiento de los animales. La solución de pilocarpina se hizo a una concentración de 1 mg/ml en 0.9% de NaCl en un tubo de centrifuga de 15-ml. La solución se sometió a un sistema de vórtice para mezclar bien durante 2
10 minutos y luego esterilizar y filtrar a través del dispositivo de filtro desechable PURADISC 25 TF en una vía estéril. La solución de pilocarpina fue luego cubierta con lámina. El cóctel anestésico para roedor se preparó al combinar 3.75 ml de 100 mg/ml de Ketamina, 3.00 ml de 20 mg/ml de Xilazina, y 23.25 ml de solución salina y se sometió a vórtice bien hasta mezcla.

15

[0061] Una solución de yodo al 2% se preparó en 70% de etanol en un tubo de centrifuga de 50-ml al hacer vórtice hasta mezclarlo bien luego de sonicación durante 15 minutos y luego hacer vórtice de nuevo. El tubo fue luego cubierto con parapelícula.

20

[0062] La estructura de lisina-asparagina-arginina (KNR) y la estructura de lisina-asparagina-treonina (KNT) se prepararon como una solución de 1 mg/ml de H₂O desionizada. BOTOX® (toxina botulínica tipo A, Allergan Inc., Irving CA) se reconstituyó en 1.0 ml de 0.9% de cloruro de sodio a una concentración de 100
25 unidades/ml. El oligopéptido EEMQRR se preparó en H₂O desionizada a una concentración de 1 mg/ml.

[0063] Hubo 6 grupos experimentales en el estudio:

BO: nulo + BOTOX®

BP: KNR + BOTOX®

5 BQ: KNT + BOTOX®

BR: nulo + Oligopéptido EEMQRR

BS: KNR + Oligopéptido EEMQRR

BT: KNT + Oligopéptido EEMQRR

10 **[0064]** Las soluciones madre para el tratamiento de cada uno de los grupos se prepararon como sigue:

BO: 70 µl BOTOX® y 70 µl PBS.

BP: 70 µl BOTOX®, 35 µl de estructura KNR y 35 µl PBS.

15 BQ: 70 µl BOTOX®, 35 µl de estructura KNT y 35 µl PBS.

BR: 70 µl de oligopéptido EEMQRR y 70 µl PBS.

BS: 70 µl de oligopéptido EEMQRR, 35 µl de estructura KNR y 35 µl PBS.

20 BT: 70 µl de oligopéptido EEMQRR, 35 µl de estructura KNT y 35 µl PBS.

[0065] Grupos: 6 patas por grupo, excepto BQ y BT que tienen 5 patas por grupo.

25 **[0066]** Procedimiento de estudio:

[0067] 1. Los animales fueron anestesiados con 0.07 ml de cóctel anestésico inyectado intraperitonealmente y suplementado con isoflurano según fuera necesario.

5 **[0068]** 2. Un total de 20µl de cada solución de tratamiento se aplicó tópicamente a la pata trasera asignada. La punta de la pipeta se utilizó para restregar la solución de tratamiento en las patas traseras y recubrir la parte inferior de las patas traseras completamente. Las patas traseras derechas de los animales recibieron los tratamientos con Botox y las patas traseras izquierdas de los
10 animales recibieron los tratamientos de oligopéptido EEMQRR.

[0069] 3. Para secar la solución de tratamiento, los animales fueron colocados bajo una lámpara de calor durante dos minutos y luego la pata secada al aire durante 5 minutos.

15

[0070] 4. Las etapas 2-3 fueron repetidas hasta que toda la solución de tratamiento se había aplicado y absorbido a las patas traseras de los animales. Típicamente esto se logró con dos aplicaciones de 10 µl.

20 **[0071]** 5. Después de que la solución de tratamiento se había completado, aproximadamente 50 µl de crema Cetaphil® se aplicó a la pata trasera.

[0072] 6. Los signos vitales de los animales fueron monitoreados hasta
25 que ellos se recuperaron del anestésico.

[0073] Después de una semana, la producción de sudor se evaluó mediante el uso de la prueba de yoduro de almidón. La prueba de yoduro de almidón se llevó a cabo por medio del siguiente procedimiento.

5 **[0074]** 1. Los animales fueron anestesiados con 0.07 ml de cóctel de anestésico inyectado intraperitonealmente suplementado con isoflurano según fuera necesario. Si era necesaria una dosis de refuerzo, se les daba 0.03 ml del cóctel de anestésico.

10 **[0075]** 3. Después de 10 minutos cuando los animales estaban completamente anestesiados y tenían signos vitales estables, ambas patas traseras fueron pintadas con 2% de solución de yodo en etanol.

[0076] 4. Para secar las patas, los animales se colocaron bajo una
15 lámpara de calor durante dos minutos y luego las patas se secaron al aire durante 5 minutos.

[0077] 5. Las patas recubiertas con yodo fueron luego fotografiadas.

20 **[0078]** 6. Para inducir la secreción de sudor, los animales fueron inyectados con 0.10 ml de 1 mg/ml de pilocarpina HCl en 0.9% de cloruro de sodio intraperitonealmente. Esta inyección se hizo aproximadamente 30 minutos después de la inyección del cóctel de anestésico.

25 **[0079]** 7. Las patas traseras fueron entonces completamente recubiertas con polvo de almidón que fue restregada en el alimento con dedos que portaban guantes libres de polvo. El exceso de almidón se removió con una

brocha de pintura pequeña. El almidón fue entonces aplicado de manera suelta con una almohadilla de terciopelo compacta. Esta etapa se repitió luego dejando un residuo de polvo ligero sobre las patas traseras. Los guantes se cambiaron para cada grupo de tratamiento.

5

[0080] 8. Se observaron los ratones para orina y otras secreciones. No se dejó entrar en contacto la orina con las patas traseras de los animales. Se mantuvieron los animales sobre una superficie seca.

10 **[0081]** 9. Se tomaron fotografías de las patas traseras (para registrar las manchas positivas azul-negro) a los 10, 20 y 60 minutos después de la inyección de pilocarpina.

[0082] 10. Los signos vitales se monitorearon y se esperó hasta
15 recuperación.

[0083] Observaciones y Resultados: Las manchas positivas azul-negro fueron típicamente mejor visualizadas a los 50-60 minutos después de la inyección de pilocarpina. La prueba de almidón-yodo mostró que los grupos de tratamiento
20 tenían menos manchas positivas azul-negro que el control para ambos tratamientos como se describió en las fotografías representativas anexas. El oligopéptido EEMQRR más un transportador funciona marcadamente mejor que el oligopéptido EEMQRR solo. El oligopéptido EEMQRR solo es marginalmente mejor que el Botox solo. Así de manera sorprendente (1) un oligopéptido puede
25 interferir con una condición secretoria cuando se aplica tópicamente, (2) este proceso esencialmente requiere un mejorador de transporte transdérmico para efectos terapéuticos, y (3) estos efectos pueden aproximarse a aquellos de la

toxina botulínica intacta nativa con un mejorador de transporte transdérmico adecuado en este modelo.

Ejemplo 2: Aplicación tópica del oligopéptido EEMQRR para tratar

5 **hiperhidrosis axilar en un paciente humano.**

[0084] Métodos:

10 **[0085]** Los participantes en el estudio tuvieron hiperhidrosis subjetiva pre-existente de la axila antes de entrar en el estudio. El sudor de la axila mediante medición gravimétrica excedió 50 mg/5 minutos en ambos brazos. Los sujetos eran de 18 años o mayores, saludables, y sin tratamiento concurrente con anticolinérgico o aminoglicósido o bloqueador del canal de calcio (60 días de tiempo de retiro lavando).

15

[0086] Medición gravimétrica:

[0087] Aclimatación y preparación de área para dosis:

20 **[0088]** El paciente se aclimató durante 15 minutos a temperatura ambiente de 72 ~ 77 °F en la posición de descanso. El paciente se quita la camisa exponiendo ambas axilas. El área de la dosis que cubría 1 cm más allá de la piel que lleva el vello en cada axila se mapeó. El área de dosis se lavó con una almohadilla de gasa estéril pre-humectada de un tubo cónico de 50 ml con 5 pasadas largas
25 desde la parte superior a la parte inferior en la misma dirección utilizando un lado de la gasa. Esta etapa de lavado se repitió tres veces más. La axila se secó con un movimiento de almohadilla firme con gasa estéril seca desde la parte superior a

la inferior de la axila luego se secó adicionalmente al colocar el papel de filtro bajo arrúgale pliegue axilar y se le permitió al papel de filtro esperar en el sitio de prueba durante 5 minutos. El paciente se sentó con sus brazos contra su cuerpo en posición de descanso. El paciente estuvo descansando durante 1 minuto sin
5 manipulación de la axila antes de la primera evaluación gravimétrica.

[0089] La medición de a producción de sudor (medición gravimétrica):

[0090] El paciente sostuvo las manos juntas atrás de la cabeza para exponer
10 completamente la axila mientras estaba reclinado en un ángulo a 45 grados. El papel de filtro pre-pesado se removió desde el tubo cónico y se colocó bajo la axila del paciente con la punta del filtro alineada con el centro de la línea de la arruga de la axila. El paciente relajó sus brazos al lado del cuerpo y se sentó con ambos brazos mantenidos estrechamente contra su tronco. El reloj inició cuando el papel
15 de filtro estaba colocado de manera segura bajo ambas axilas. Las dos axilas fueron medidas simultáneamente. Después de 5 minutos, los papeles de filtro fueron removidos de la axila y colocados cada uno en los mismos tubos cónicos respectivos y fueron atornilladas tapas herméticamente para evitar la evaporación del sudor del tubo. La producción de sudor se repitió dos veces más a intervalos
20 de 1 minuto.

[0091] Prueba de almidón/yodo:

[0092] El paciente mantuvo las manos juntas atrás de la cabeza para exponer
25 completamente la axila. Se aplicó una solución de yodo al área de la axila con una almohadilla de gasa estéril y luego se secó al aire completamente. El área cubierta por yodo fue almohadillada con una capa delgada de almidón utilizando bolas de

algodón. El paciente se sentó con ambos brazos mantenidos estrechamente contra su tronco. Después de 5 minutos, el paciente elevó los brazos y mantuvo las manos juntas atrás de la cabeza para exponer completamente la axila. La línea base y las fotografías de post almidón-yodo de la axila izquierda y derecha fueron
5 tomadas. Las axilas se limpiaron primero con 70% de EtOH y luego con agua DI estéril.

[0093] Formulación de tratamiento y aplicación:

10 **[0094]** Formulaciones:

[0095] Primer Tratamiento:

[0096] Brazo izquierdo: 600 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y 1% de
15 EtOH) se agregaron a 600 µl de oligopéptido EEMQRR (10% en solución salina, más 1% de EtOH), mezclado mediante inversión; la mezcla se sentó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se agregaron 600 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) y se mezcló completamente. Se transfirió la solución homogénea en una jeringa de 3 ml.

20

[0097] Brazo derecho: 600 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y 1% de EtOH) se agregaron a 600 µl de solución salina (con 1% de EtOH), mezclado mediante inversión; la mezcla se sentó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se agregaron 600 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) a la mezcla y se mezclaron
25 completamente. Se transfirió la solución homogénea en una jeringa de 3 ml.

[0098] Segundo Tratamiento:

[0099] Brazo izquierdo: 500 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y EtOH al 5%) se agregó a 500 µl de treta-aspartato-oligopéptido EEMQRR (10% en solución salina y EtOH al 5%), mezclado mediante inversión; la mezcla se sentó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se agregaron 500 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) y se mezcló completamente. Se transfirió la solución homogénea a una jeringa de 3 ml.

[00100] Brazo derecho: 500 µl de KN-T (1 mg/ml en solución salina y EtOH al 5%) se agregaron a 500 µl de solución salina (con EtOH al 5%), mezclado mediante inversión; la mezcla se sentó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se agregaron 500 µl de HPC al 4% (1% de EtOH) a la mezcla y se mezclaron completamente. Se transfirió la solución homogénea a una jeringa de 3 ml.

Tabla 1. Resumen de la Formulación (Brazo izquierdo solamente)

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

[00101] Aplicación de la droga:

[00102] Aunque portando guantes estériles, la droga se esparció con una jeringa homogéneamente alrededor del sitio de dosis y se dio masaje con los dedos durante 1 minuto. El paciente puso sus brazos hacia abajo a lo largo del lado del

94

cuerpo y se incubó durante 1 hora. Al final de la incubación, el sitio de dosis se enjuagó con gasa estéril.

[00103] RESULTADOS:

5

Tabla 2. Resumen del Estudio
(Medición gravimétrica (miligramos/ 5 minutos))

ID	Línea Base	2 semanas post tratamiento	1 ^{er} Tratamiento	Aleatorización
Izquierdo	371.0 +/- 35.8 (435.0)	35.6 +/- 12.3 (60.0)	oligo/KNT/ HPC/1% EtOH	Oligopéptido EEMQRR
Derecho	291.7 +/- 26.4 (320.5)	20.1 +/- 7.3 (32.4)	Solución salina/KNT/HPC/ 1% EtOH	Control
Proporción (Izquierdo/derecho)	1.3	1.8		

ID	Línea Base 2 ^{do} tratamiento	3 semanas/ 1 semana post RT	4 semanas/ 2 semana post RT	2 ^{er} Tratamiento	Aleatorización
Izquierdo- 2	35.6 +/- 12.3 (60.0)	53.8 +/- 3.5 (60.0)	54.2 +/- 2.9 (58.7)	Tetra-Asp- oligo/KNT/HPC/ 1%EtOH	Oligopéptido EEMQRR
Derecho-2	20.1 +/- 7.3 (32.4)	47.1 +/- 6.5 (54.0)	44.6 +/- 3.1 (50.8)	Solución salina/KNT/ HPC/1% EtOH	Control
Proporción (Izquierdo/ derecho)	1.8	1.1	1.2		

95

Ejemplo 3: Aplicación tópica portador Revance y D10, complejo de oligopéptido interrumpido por SNARE, sobre generación de fuerza muscular en un modelo de ratón.

5 **[00104]** MATERIALES Y MÉTODOS:

[00105] D10 (acetil hexapéptido modificado, Terapéuticos Revance, Mountain View, CA)

10 **[00106]** Péptidos de polilisina (portadores): Kn21T

Grupos de prueba:

	Portador Kn21T	Sin Portador
10% D10	x	
Control		x

[00107] Diseño del estudio:

15 **[00108]** Se utilizaron Ratones CD1 machos (Charles River, Wilmington, MA) que pesan 27-33 g. Los ratones fueron guardados en grupos de 5 y se les permitió acceso ad libitum a alimento y agua antes del tratamiento. Los animales fueron anestesiados utilizando 1.5% de isoflurano mezclado con oxígeno y permanecieron anestesiados durante la duración del estudio. Un sitio de dosis

20 para cada miembro trasero del ratón fue cuidadosamente afeitado con un cortador recargable inalámbrico Andis Edjer II (Andis, Sturtevant, WI). El sitio de dosificación se preparó con un lavado con acetona o con un lavado con agua DI. El sitio de dosificación se secó completamente antes de la aplicación del tratamiento. Los normales no tratados, así como también aquellos tratados con

25 formulaciones base (sin toxina) se aplicaron tópicamente a un volumen

equivalente servido como controles. La fuerza de contracción muscular se midió a las 2-3.5 horas post tratamiento tópico.

[00109] Preparación D10 (acetil hexapéptido modificado):

5

[00110] 1. Se hizo una solución madre de 1.0 mg/ml del portador Kn21T con NaCl al 0.9% y EtOH al 5% en un tubo de microcentrífuga y se mezcló al hacer vórtices.

10 **[00111]** 2. Se hizo una solución D10 al 10% en un tubo de centrífuga y se mezcló al hacer vórtices.

[00112] 3. Se tomaron 100 µl del portador de la etapa 1 y se le agregaron a 100 µl de 10% de D10 de la etapa 2 en un tubo de microcentrífuga y la mezcla
15 se sentó a temperatura ambiente durante 5 minutos con el tubo permaneciendo parado para formar complejos, y luego se invirtió suavemente de nuevo antes de dosificación.

[00113] 4. Se removieron 200 µl de mezcla de la etapa 3 con una pipeta
20 y se aplicaron a la pata trasera.

[00114] Aplicación tópica:

[00115] 1. Se anestesió el ratón con 1.5% de isoflurano mezclado con
25 oxígeno.

[00116] 2. Se aplicó lentamente la mezcla de portador/toxina al utilizar una pipeta para esparcir a la pata trasera del ratón (afeitada), se masajeó la mezcla sobre la pata trasera derecha mientras que se portaban guantes de nitrilo, se incubó durante 30 minutos mientras el ratón estaba bajo anestesia, y luego al animal se le permitió recuperarse para observar la movilidad de la pata (DAS). El animal se colocó bajo anestesia de nuevo hasta que la prueba de generación de fuerza muscular tuvo lugar a las 2 a 3.5 horas post tratamiento.

[00117] a. No hubo una exposición a la lámpara de calor directa de los miembros traseros después de la aplicación tópica durante 30 minutos de alargue de tiempo.

[00118] Generación de fuerza por contracción muscular:

[00119] El miembro se inmovilizó al asegurarlo a una tabla de madera utilizando alambres K a través del fémur y la tibia para evitar el movimiento. El gastrocnemius se dejó in situ. Una sutura de alambre se ató alrededor del extremo distante del tendón de Aquiles. El tendón fue entonces transfectado distante a la sutura, y la sutura se unió a un transductor de fuerza (modelo FT03, Grass, West Warwick, RI), que a su vez se conectó a un amplificador transductor de fuerza (modelo 13-G4615-50, Gould, Cleveland, OH). El nervio siático del lado tratado con D10 se estimuló directamente (simulador SD9, Grass, West Warwick, RI) con un voltaje creciente hasta que se obtuvo una fuerza con tirón simple isométrica máxima. La frecuencia de simulación se incrementó entonces hasta que se generó una fuerza tetánica máxima. El tirón se generó mediante estimulación de una unidad motora, y se generó tétano al aplicar la suma de todas las unidades motoras mediante estimulación supermáxima. Se repitió el mismo procedimiento

sobre los miembros de control. Las respuestas se grabaron con una oscilación de registro calibrada (RS 3800, Gould, Cleveland, OH) ligada al transductor de fuerza.

[Ma J, Elsaidi GA, Smith TL, et al. Time course of recovery of juvenile skeletal muscle after botulinum toxin A injection. Am. J. Phys. Med. Rehabil. 2004; 83(10):774-780].

[00120] RESULTADOS:

[00121] Los valores normales de la generación de la fuerza muscular en unos ratones C57BL/6 tuvo una fuerza de halado simple media de 60 ± 15 gramos y una fuerza tetánica medio de 240 ± 30 gramos en un estudio previo con inyección de toxina botulínica A. En este estudio preclínico piloto, se encontraron la fuerza de halado simple media comparable de 54 ± 2 gramos y la fuerza tetánica media de 241 ± 20 gramos.

[00122] Cuando la generación de la fuerza muscular del D10 tópico con el portador se evaluó, ésta mostró una respuesta pequeña que resulta en aproximadamente 56% de disminución en un halado simple y 37% de disminución en respuesta tetánica en animal tratado con una administración de tiempo simple de "Solución D10 Revance" tópica con portador versus los controles sobre los registros. La Tabla 3 muestra el resumen de la generación de fuerza muscular media y el porcentaje de disminución para el halado simple y la fuerza tetánica.

Tabla 3. Resumen de la generación de la fuerza muscular. Se presentan los valores medios y % de disminución para los grupos de tratamiento versus el control.

99

Tratamiento	Portador	Generación de Fuerza Muscular	Resultados Medios (g)	Disminución Media %
D10	Kn21T	Halado simple	20	56%
		tetánica	132	37%
Control	N/A	Halado simple	45*	0%
		tetánica	210*	0%

* limite inferior

[00123] CONCLUSIÓN:

- 5 [00124] Este estudio sirve para demostrar que la aplicación tópica de D10 al 10% por miembro de ratón puede efectivamente disminuir la generación de fuerza motora y muestra evidencia de beneficios terapéuticos.

REIVINDICACIONES:

1. Una composición que comprende un oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende una
5 secuencia de amino ácido de la SEQ ID NO: 1, la composición
comprende además un portador positivamente cargado que tiene grupos
de ramificación positivamente cargados adheridos independientemente
seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}-$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y
fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en
10 el cual el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el
subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de
aproximadamente 5 a aproximadamente 25.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la SEQ ID
15 NO: 1 comprende el extremo C-terminal del oligopéptido.
3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 2 en donde el extremo
N-terminal del oligopéptido comprende de 3 a aproximadamente 14
aminoácidos neutros.
20
4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 3 en donde el extremo
N-terminal del oligopéptido comprende 4 moléculas de aspartato.
5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la SEQ ID
25 NO: 1 comprende el extremo N-terminal del oligopéptido.

6. Una composición de acuerdo con la reivindicación 5 en donde el extremo C-terminal del oligopéptido comprende de 3 a aproximadamente 14 aminoácidos neutros.

5 7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 6 en donde el extremo C-terminal del oligopéptido comprende 4 moléculas de aspartato.

8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el oligopéptido es derivado.

10

9. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8 en donde el oligopéptido es derivado con una molécula seleccionada del grupo que consiste de un grupo acetilo, un grupo palmitoilo.

15 10. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el oligopéptido es recombinantemente producido.

11. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la composición es una crema, loción, ungüento, gel o líquido.

20

12. Una composición de acuerdo con la reivindicación 11 en donde la composición comprende además un amortiguador.

25 13. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la composición es una composición de liberación controlada.

14. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la composición comprende además solución salina.

15. Una composición de acuerdo con la reivindicación 14 en donde la composición comprende además un amortiguador.

16. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual el portador positivamente cargado comprende un segundo oligopéptido que tiene grupos de ramificación positivamente cargados independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$ en el cual el subíndice $n1$ es un entero de aproximadamente 0 a aproximadamente 20 y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de aproximadamente 5 a aproximadamente 25.

17. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 en la cual el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 8.

18. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 en la cual el subíndice $n1$ es un entero desde aproximadamente 2 a aproximadamente 5.

19. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 en la cual el subíndice $n2$ es un entero aleatorio desde aproximadamente 7 a aproximadamente 17.

20. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 en la cual el subíndice n_2 es un entero aleatorio de aproximadamente 7 a aproximadamente 13.

5 21. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 en la cual el portador comprende un segundo oligopéptido que tiene grupos de ramificación positivamente cargados adheridos seleccionados de HIV-TAT y fragmentos de éstos.

10 22. Una composición de acuerdo con la reivindicación 21 en la cual los grupos de ramificación son fragmentos HIV-TAT positivamente cargados que tienen la fórmula

$(\text{gly})_p - \text{RGRDDRRQRRR} - (\text{gly})_q$, $(\text{gly})_p - \text{YGRKKRRQRRR} - (\text{gly})_q$ o

$(\text{gly})_p - \text{RKKRRQRRR} - (\text{gly})_q$, en donde los subíndices p y q son cada uno

15 independientemente un entero de 0 a 20.

23. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual los grupos de ramificación positivamente cargados comprenden por lo menos aproximadamente 0.05% en peso del peso total del portador.

20

24. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual los grupos de ramificación positivamente cargados comprenden desde aproximadamente 0.5% a aproximadamente 45% en peso del peso total del portador.

25

25. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual los grupos de ramificación positivamente cargados comprenden desde

aproximadamente 0.1% a aproximadamente 30% en peso del peso total del portador.

- 5 26. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual la estructura comprende un oligopéptido positivamente cargado.
27. Un método de composición de acuerdo con la reivindicación 26 en el cual la estructura comprende una polilisina positivamente cargada.
- 10 28. Una composición de acuerdo con la reivindicación 27 en la cual la polilisina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 10,000 a 1.500,000.
29. Una composición de acuerdo con la reivindicación 27 en la cual la polilisina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 25,000 a aproximadamente 1,200,000.
- 15 30. Una composición de acuerdo con la reivindicación 27 en la cual la polilisina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,000,000.
- 20 31. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la cual la estructura comprende un portador no peptídico positivamente cargado.
- 25 32. Una composición de acuerdo con la reivindicación 31 en la cual la estructura comprende una polialquilenoimina positivamente cargada.

105

33. Una composición de acuerdo con la reivindicación 32 en la cual la polialquilenoimina es una polietilenoimina.

34. Una composición de acuerdo con la reivindicación 33 en la cual la polietilenoimina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 10,000 a aproximadamente 2,500,000.

35. Una composición de acuerdo con la reivindicación 33 en la cual la polietilenoimina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 100,000 a aproximadamente 1,800,000.

36. Una composición de acuerdo con la reivindicación 33 en la cual la polietilenoimina tiene un peso molecular de desde aproximadamente 500,000 a aproximadamente 1,400,000.

37. Un método para reducir los síntomas asociados con una condición médica seleccionada de la lista que consiste de distonia, espasmos musculares, trastornos neuronales autonómicos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos del oído interno, trastornos musculares, trastornos por presión de nervio, hiperhidrosis, acné, moco, secreciones, soriasis, trastornos cutáneos relacionados con diabetes, curación de heridas, trastornos de la glándula mamaria, crecimiento piloso, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hiperclacemia que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de la reivindicación 1.

38. Un método de acuerdo con la reivindicación 37 que comprende además administrar la composición a una región del cuerpo seleccionada del grupo que consiste de cuero cabelludo, cara, cuello, hombros, brazos, axila, manos, palmas de las manos, espalda, piernas, pies y suelas de los pies.

39. Un método de acuerdo con la reivindicación 38 en el cual la condición médica es hiperhidrosis subjetiva o clínica.

40. Un método de acuerdo con la reivindicación 39 en la cual la composición se administra a la axila.

41. Un método de acuerdo con la reivindicación 39 en la cual la composición se administra a la cara.

42. Un método de acuerdo con la reivindicación 39 en la cual la composición se administra a la frente.

43. Un método de acuerdo con la reivindicación 39 en la cual la composición se administra a las palmas de las manos.

44. Un método de acuerdo con la reivindicación 39 en la cual la composición se administra a las suelas de los pies.

45. Un compuesto que comprende un oligopéptido de 7 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende la secuencia de aminoácido de la SEQ ID NO: 1.

46. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 45 en donde el oligopéptido va de 8 a aproximadamente 20 aminoácidos.

5 47. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 45 en donde el oligopéptido va de 9 a aproximadamente 20 aminoácidos.

48. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 45 en donde el oligopéptido va de 10 a aproximadamente 20 aminoácidos.

10 49. Un método para reducir los síntomas asociados con una condición médica seleccionada de la lista que consiste de distonia, espasmos musculares, trastornos neuronales autonómicos, parálisis cerebral, enfermedad de Parkinson, temblores, epilepsia, trastornos del oído interno, trastornos musculares, trastornos por presión de nervio,
15 hiperhidrosis, acné, moco, secreciones, soriasis, trastornos cutáneos relacionados con diabetes, curación de heridas, trastornos de la glándula mamaria, crecimiento piloso, trastornos urológicos, trastornos neuropsiquiátricos, cáncer e hiperclacemia que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la
20 reivindicación 45.

50. Un método de acuerdo con la reivindicación 49 que comprende además administrar el compuesto a una región del cuerpo seleccionada del grupo que consiste de cuero cabelludo, cara, cuello, hombros, brazos,
25 axila, manos, palmas de las manos, espalda, piernas, pies y suelas de los pies.

51. Un método de acuerdo con la reivindicación 50 en el cual la condición médica es hiperhidrosis subjetiva o clínica.

52. Un método de acuerdo con la reivindicación 51 en el cual el compuesto se administra a la axila.

53. Un método de acuerdo con la reivindicación 51 en el cual el compuesto se administra a la cara.

54. Un método de acuerdo con la reivindicación 51 en el cual el compuesto se administra a la frente.

55. Un método de acuerdo con la reivindicación 51 en el cual el compuesto se administra a las palmas de las manos.

56. Un método de acuerdo con la reivindicación 51 en el cual el compuesto se administra a las suelas de los pies.

57. Un kit para administrar tópicamente a un sujeto una cantidad efectiva de la composición que comprende un oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende la secuencia de aminoácido de la SEQ ID NO: 1, el kit comprende dicha composición y un portador positivamente cargado que tiene unos grupos de ramificación positivamente cargados adheridos independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$

es independientemente un entero aleatorio de desde aproximadamente 5 a aproximadamente 25 del compuesto de la reivindicación 45.

5 58. Un kit de acuerdo con la reivindicación 57 que comprende además un aplicador de costumbre.

10 59. Un kit de acuerdo con la reivindicación 58 en el cual el aplicador de costumbre está diseñado para uso por un profesional del cuidado de la salud.

60. Un kit de acuerdo con la reivindicación 58 en el cual el aplicador de costumbre está diseñado para auto-administración a un sujeto.

15 61. Un kit de acuerdo con la reivindicación 57 que comprende una composición pre-formulada que comprende el compuesto y el portador.

20 62. Un kit de acuerdo con la reivindicación 57 en el cual el compuesto y el portador se formulan separadamente para combinar antes de la administración.

63. Un kit de acuerdo con la reivindicación 57 en el cual el compuesto está contenido en un dispositivo para administrar el compuesto a un sujeto por vía de la piel.

25 64. Un kit de acuerdo con la reivindicación 63 en el cual el dispositivo es un parche de piel.

65. Un kit de acuerdo con la reivindicación 57 en donde el portador comprende además una estructura polimérica que tiene grupos de ramificación positivamente cargados adheridos, en donde la asociación entre el portador y el compuesto es no covalente.

5

66. Un kit de acuerdo con la reivindicación 65 en donde los grupos de ramificación positivamente cargados adheridos son independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, y fragmentos de éstos, y Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en los cuales el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de desde aproximadamente 5 a aproximadamente 25.

10

67. Un kit de acuerdo con la reivindicación 66 en el cual el compuesto está contenido en un dispositivo para administrar el oligopéptido a un sujeto por vía de la piel.

15

68. Un kit de acuerdo con la reivindicación 67 en el cual el dispositivo es un parche de piel.

20

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA APLICACIÓN TÓPICA Y SUMINISTRO
TRANSDÉRMICO DE UN OLIGOPÉPTIDO

Resumen:

5

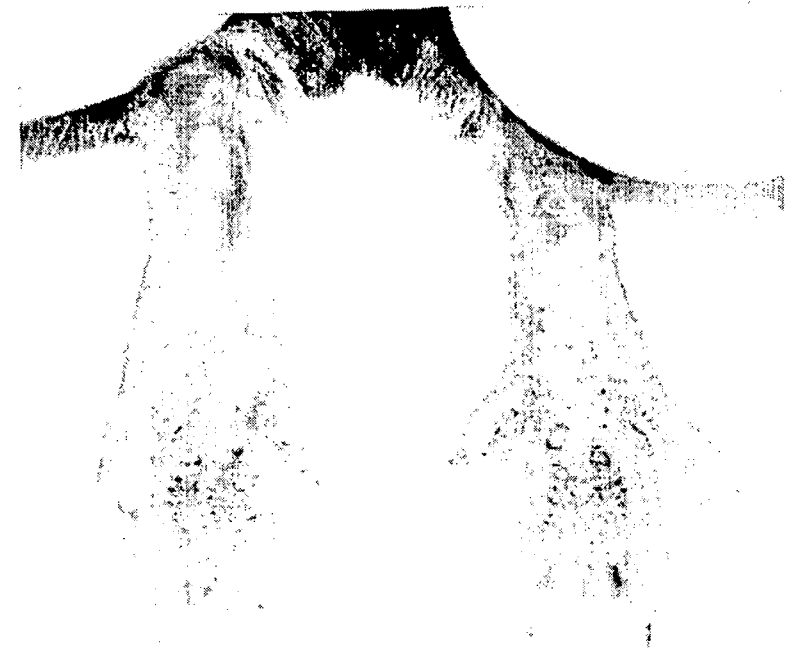
La invención se relaciona con una aplicación transdérmica de oligopéptidos para reducir la transmisión sináptica en tejidos de un animal. En un aspecto, esta invención se relaciona con composiciones que comprenden un oligopéptido y opcionalmente un portador que comprende una "estructura central" positivamente cargada que tiene ramificaciones positivamente cargadas o grupos de "eficiencia", como se describieron aquí. Más preferiblemente el portador positivamente cargado es un polipéptido cargado positivamente de cadena larga o un polímero no peptídico cargado positivamente, por ejemplo, una polialquileñoimina. La invención se relaciona además con métodos para producir un efecto biológico de reducir la transmisión sináptica en un tejido al aplicar tópicamente una cantidad efectiva de tal composición, preferiblemente a la piel, de un sujeto o paciente que necesite tal tratamiento. Esta invención también suministra kits para preparar o formular una composición que comprende el oligopéptido y opcionalmente un portador, así como también tales ítems adicionales que se necesitan para producir una formulación utilizable, o una premezcla que puede a su vez ser utilizada para producir tal formulación.

10

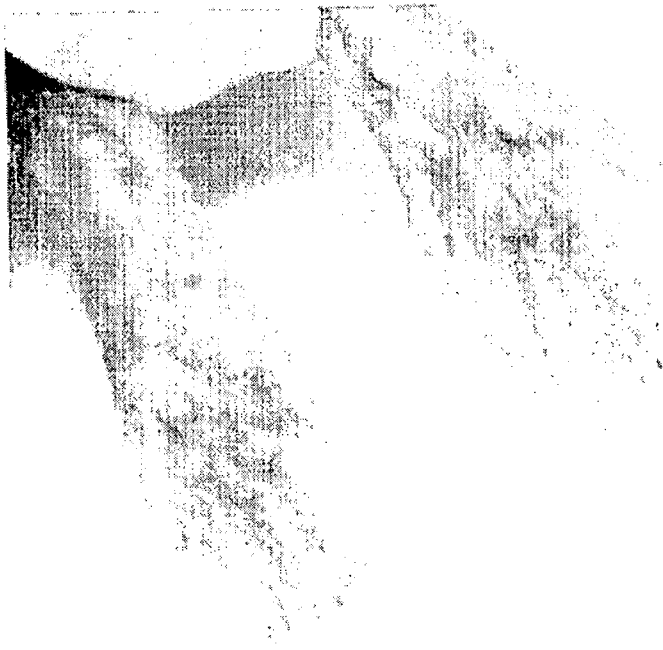
15

20

FIGURA 1



a)

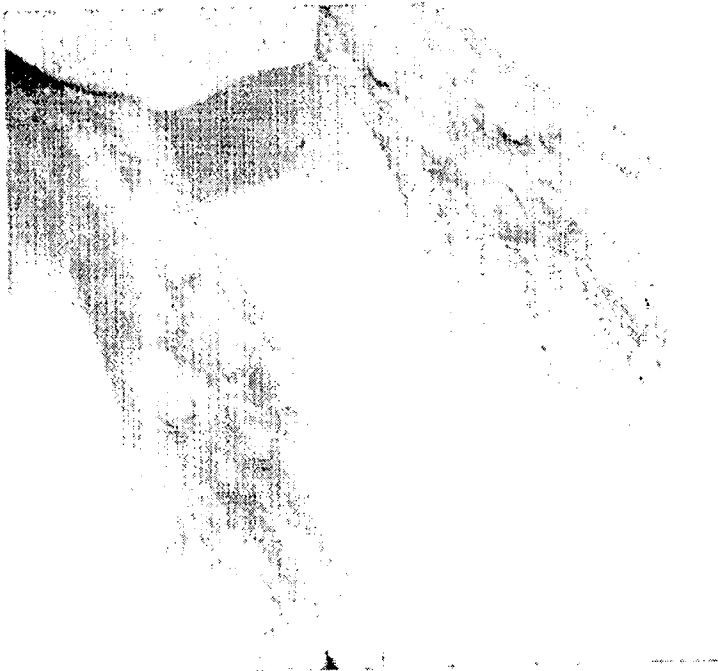


b)

FIGURA 2



c)



d)

114

LISTADO DE SECUENCIA

<110> Revance Therapeutics, Inc.

<120> Composiciones y Métodos para Suministro Transdérmico y
Aplicación Tópica de un Oligopéptido

<130> 4649-4015PC

<150> US 60/658,741

<151> 2005-03-03

<160> 3

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido artificial que imita la toxina botulínica

<400> 1

Glu Glu Met Gln Arg Arg

1

5

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido con cola cargada negativamente

<400> 2

Asp Asp Asp Asp Glu Glu Met Gln Arg Arg

1

5

10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido con cola cargada negativamente

<400> 3

Glu Glu Met Gln Arg Arg Asp Asp Asp Asp

1

5

10

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 4649-4015PC	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2006/007600	International filing date (day/month/year) 03/03/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 03/03/2005
Applicant REVANCE THERAPEUTICS, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 7 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1a

- ☒ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2006/007600

116

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

☒

a sequence listing

☐

table(s) related to the sequence listing

b. format of material

☒

on paper

☒

in electronic form

c. time of filing/furnishing

☒

contained in the international application as filed

☒

filed together with the international application in electronic form

☐

furnished subsequently to this Authority for the purpose of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2006/007600

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K7/00 A61K38/00

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)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BLANES-MIRA CLARA ET AL: "Identification of SNARE complex modulators that inhibit exocytosis from an alpha-helix-constrained combinatorial library." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 375, no. 1, 1 October 2003 (2003-10-01), pages 159-166, XP002402317 ISSN: 0264-6021	1-3,8, 12,21, 22,45-48
Y	see p. 164, left col., first para. ----- -/--	1-68

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

☒ See patent family annex.

* 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 document 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.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 October 2006

Date of mailing of the international search report

15/11/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.

Authorized officer

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2006/007600

118

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BLANES-MIRA CLARA ET AL: "Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis." JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY, vol. 88, no. 1, January 2004 (2004-01), pages 124-135, XP002402318 ISSN: 0022-3042	45-48
Y	see the whole document	1-68
A	----- EP 1 180 524 A1 (LIPOTEC SA [ES]) 20 February 2002 (2002-02-20) see the whole document	
A	----- US 2004/147443 A1 (RENAULT BEATRICE [FR]) 29 July 2004 (2004-07-29)	
A	----- BLANES-MIRA C ET AL: "A SYNTHETIC HEXAPEPTIDE (ARGIRELINE) WITH ANTIWRINKLE ACTIVITY" INTERNATIONAL JOURNAL OF COSMETIC SCIENCE, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 24, no. 5, 2002, pages 303-310, XP009045291 ISSN: 0142-5463 -----	

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 37-44 and 49-56 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: -

When taking into account that Claim 1 is not novel, the complete search for all possible alternatives which result from the fact that several claims directly relate to claim 1 was not possible. Thus, the search had to be limited to the embodiments found in the examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2006/007600

120

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 37-44 and 49-56 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2006/007600

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1180524	A1	20-02-2002	AT 338062 T 15-09-2006
			AU 2672900 A 10-11-2000
			BR 0011152 A 19-02-2002
			CA 2370289 A1 02-11-2000
			WO 0064932 A1 02-11-2000
			ES 2160485 A1 01-11-2001
			JP 2002542777 T 17-12-2002
			US 7015192 B1 21-03-2006
US 2004147443	A1	29-07-2004	NONE

121

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT

(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl:	C07K 007/000
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s)	REVANCE THERAPEUTICS, INC.
(30) Prioridad	(31) Prioridad 60/658,741	(32) Fecha 03/03/2005	(33) País US
		(72) Inventor(es)	MICHAEL D. DAKE JACOB M. WAUGH
		(74) Apoderado:	EMILIO FERRERO
(85)	Fecha limite inicio fase nacional:		03/10/2007
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		
	Fecha de presentación de la solicitud:		03/03/2006
	No. de solicitud PCT/US2006/007600		
(87)	Publicación internacional		
	Fecha:		08/09/2006
	N° publicación:		WO 2006/094193 A3
(54) Título: COMPOSICIONES Y METODOS PARA APLICACION TOPICA Y SUMINISTRO TRANSDERMICO DE UN OLIGOPEPTIDO.			

1. Una composición que comprende un oligopéptido de 6 a aproximadamente 20 aminoácidos, dicho oligopéptido comprende una secuencia de aminoácido de la SEQ ID NO: 1, la composición comprende además un portador positivamente cargado que tiene grupos de ramificación positivamente cargados adheridos independientemente seleccionados de $-(\text{gly})_{n1}$, $-(\text{arg})_{n2}$, HIV-TAT, Antennapedia PTD, y fragmentos de HIV-TAT o de Antennapedia PTD o mezclas de éstos, en el cual el subíndice $n1$ es un entero de 0 a aproximadamente 20, y el subíndice $n2$ es independientemente un entero aleatorio de aproximadamente 5 a aproximadamente 25.

2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la SEQ ID NO: 1 comprende el extremo C-terminal del oligopéptido.

3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 2 en donde el extremo N-terminal del oligopéptido comprende de 3 a aproximadamente 14 aminoácidos neutros.

4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 3 en donde el extremo N-terminal del oligopéptido comprende 4 moléculas de aspartato.

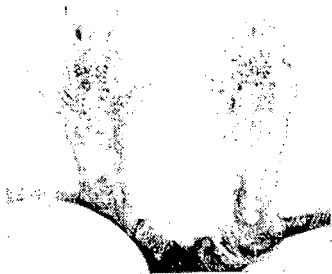
5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la SEQ ID NO: 1 comprende el extremo N-terminal del oligopéptido.

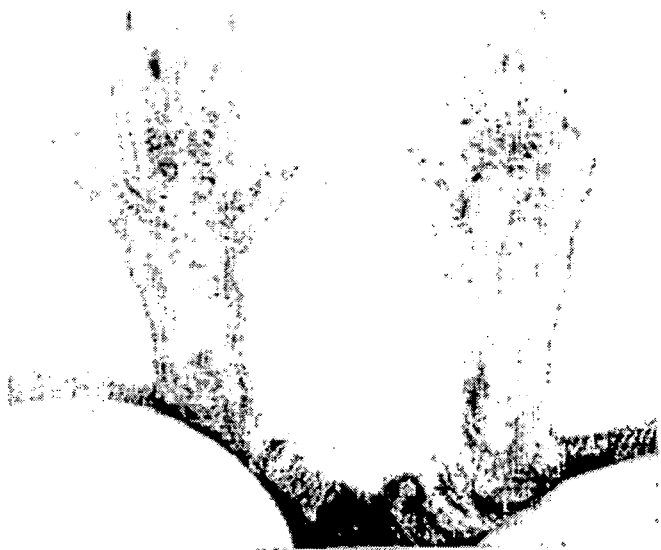
6. Una composición de acuerdo con la reivindicación 5 en donde el extremo C-terminal del oligopéptido comprende de 3 a aproximadamente 14 aminoácidos neutros.

7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 6 en donde el extremo C-terminal del oligopéptido comprende 4 moléculas de aspartato.

8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde el oligopéptido es derivado.







124.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 74,952
FECHA : SEPTIEMBRE 17 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-103543-00000-0000

Fecha: 2007-10-03 16:56:37 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 124

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	63769923	17/09/2007	38,934,000.00

***** CONCEPTO *****

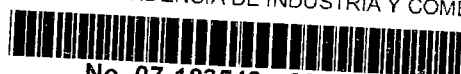
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo 15861-841-001-9



No. 07-103543-00000-0000

Fecha: 2007-10-03 16:56:37
Tra. 11 PATENTEIYI
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONAL
Folios: 124



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD

☐

- Indicación de que se solicita la concesión de 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 ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de 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 ☐

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

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

Fecha

03 OCT. 2007

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia