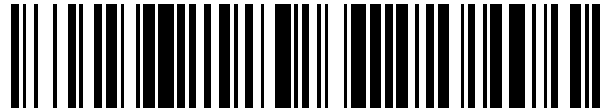


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 479 765**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2012 E 12703408 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.04.2014 EP 2536422**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de úlceras del pie diabético**

30 Prioridad:

02.02.2011 US 201161438780 P

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

24.07.2014

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA
(100.0%)
3740 McClintock Avenue
Los Angeles, CA 90089-2561 , US**

72 Inventor/es:

**RODGERS, KATHLEEN, E. y
DIZEREGA, GERE, S.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 479 765 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos para el tratamiento de úlceras del pie diabético

5 Referencia cruzada

La presente solicitud reivindica prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos N° de Serie 61/438780 presentada el 2 de febrero de 2011.

10 Antecedentes

La diabetes es común, incapacitante y mortal. En los Estados Unidos, la diabetes ha alcanzado proporciones epidémicas. De acuerdo con la Asociación Americana de la Diabetes, cerca de 24 millones de personas (el 8 % del total de la población estadounidense) tiene diabetes, y cada año se diagnostican casi dos millones de casos nuevos en personas de 20 o más años de edad. Si la tendencia actual continúa, 1 de cada 3 americanos desarrollará diabetes en algún momento de su vida, y las personas diabéticas perderán, de media, de 10 a 15 años de esperanza de vida. Hay que destacar que, hasta un 25 % de las personas diabéticas desarrollará úlcera del pie diabético, dando como resultado 3 millones de úlceras del pie diabético al año solamente en los Estados Unidos. Más de la mitad de todas las úlceras del pie se infectarán, requiriendo por tanto hospitalización, y 1 de cada 5 requerirá una amputación que acarrea un alto riesgo de mortalidad.

Sin duda, la diabetes ejerce una presión económica tremenda sobre el sistema sanitario de los Estados Unidos. Los costes totales (directos e indirectos) de la diabetes han alcanzado 174 mil millones de dólares al año, y las personas con un diagnóstico de diabetes tienen gastos médicos que superan el doble de los gastos médicos de las personas sin diabetes. Solamente los costes de hospitalización son de entre 16.000 a 20.000 dólares para un paciente con úlcera del pie diabético, y los costes directos e indirectos de una amputación varían de 20.000 a 60.000 dólares por paciente. Un estudio reciente realizado por investigadores de la Universidad de Chicago sugirió que los costes del tratamiento para la diabetes en los Estados Unidos alcanzarían los 336 mil millones de dólares para el año 2034. Se requieren enormemente modalidades de tratamiento avanzado, rentables para la diabetes y sus co-morbilidades, incluyendo úlceras del pie diabético, aunque aún escasean, de manera global. De acuerdo con la American Diabetes Association, para el año 2025 se espera que la prevalencia de la diabetes aumente hasta el 72 %, hasta 324 millones de personas en todo el mundo.

Rogers et al. describen la aceleración de la curación por medio de Nor23-Leu-A(1-17), que es un análogo de angiotensina (Rogers et al., "Acceleration of healing, reduction of fibrotic scar, and normalization of tissue architecture by an angiotensin analogue, NORLEU3-A(1-7)", PLASTIC AND RECONSTRUCTIVE SURGERY, WILLIAMS AND WILKINS CO., BALTIMORE, MD, US, vol. 111, n°. 3, 1 de marzo de 2003 (2003-03-01), páginas 1195-1206, XP008059840, ISSN: 0032-1052, DOI: 10.1097/01.PRS.0000047403.23105.66).

Rogers et al. también describen fragmentos de angiotensina-Nle3(1-7) y sus propiedades curativas en modelos dérmicos (Rogers et al., "Fragments of Nle3-angiotensin(1-7) accelerate healing in dermal models", JOURNAL OF PEPTIDE RESEARCH, BLACKWELL PUBLISHING LTD, OXFORD; GB, vol. 66, n°. SUPL. 1, 1 de diciembre de 2005 (2005-12-01), páginas 41-47, XP002643256, ISSN: 1397-002X).

Rogers et al. describen los efectos de los péptidos de angiotensina sobre la cicatrización en ratones diabéticos (Rogers et al., "Histological evaluation of the effects of angiotensin peptides on wound repair in diabetic mice", EXPERIMENTAL DERMATOLOGY, vol. 12, n°. 6, 1 de diciembre de 2003 (2003-12-01), páginas 784-790, XP55032955, ISSN: 0906-6705, DOI: 10.1111/j.0906-6705.2003.00087.x).

El estado de la técnica también proporciona un estudio de eficacia y seguridad en el tratamiento de la úlcera diabética con Nor-Leu3-A(1-7) en una formulación de gel (US-NIH, "Safety and Efficacy Study of DSC127 in Treating Subjects With Diabetic Ulcers", 14 de mayo de 2010 (2010-05-14), Extraído de internet: URL:<http://web.archive.org/web/20100514120507/http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00796744?> [extraído el 17-07-2012]).

Matuszewska et al. describen la eficacia de formulaciones tópicas del factor de crecimiento de fibroblastos ácido (aFGF) en la curación de heridas de espesor completo en un modelo de ratón diabético (Matuszewska et al., "Acidic fibroblast growth factor: Evaluation of topical formulations in a diabetic mouse wound healing model", PHARMACEUTICAL RESEARCH (NUEVA YORK), vol. 11, n°. 1, 1994, páginas 65-71, XP009161289, ISSN: 0724-8741).

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A (1-7) para el uso en el tratamiento de úlceras del pie diabético en un paciente humano, en el que el péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A (1-7), o sal del mismo, se administra en una cantidad eficaz para tratar la

úlceras del pie diabético, y en el que el péptido se administra por vía tópica en una formulación de gel que comprende del 0,5 % al 4 % de hidroxietilcelulosa (HEC) en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). La presente invención también describe el uso y métodos de un péptido para el tratamiento de úlceras del pie diabético, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle³-A(1-7), o sal del mismo, para tratar la úlcera del pie diabético. En una realización, el péptido comprende Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1) o sal del mismo. En otra realización, el péptido consiste en Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1) o sal del mismo. En diversas realizaciones, la úlcera del pie diabético se produce, al menos en parte, por neuropatía y la presión resultante; la úlcera del pie diabético comprende una o más callosidades; y la úlcera del pie diabético es una úlcera crónica. En una realización adicional, la úlcera crónica del pie no responde a ningún otro tratamiento.

En otra realización, el péptido se administra por vía tópica. En una realización adicional, el péptido se administra como una formulación tópica que forma una película continua que cubre el área completa de la úlcera diabética. En una realización adicional más, el péptido se administra en una formulación de hidrogel. En otra realización, el péptido se administra en una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En una realización adicional, el péptido se administra en una formulación de gel que tiene aproximadamente del 0,5 % a aproximadamente el 4 % de hidroxietilcelulosa (HEC) en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).

Todas las realizaciones del primer aspecto de la invención pueden combinarse a menos que el contexto indique lo contrario.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas, que comprenden:

- (a) de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 4 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg); y
- (b) un péptido que tiene al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle³-A(1-7), o sal del mismo;

en las que el péptido está presente a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).

En una realización, el péptido comprende Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1), o sal del mismo. En otra realización, el péptido consiste en Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1) o sal del mismo. En una realización adicional, la formulación farmacéutica comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En una realización adicional, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente 2 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En otra realización, la formulación comprende una formulación de hidrogel. Todas las realizaciones del segundo aspecto de la invención pueden combinarse a menos que el contexto indique lo contrario.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** es un gráfico que muestra las úlceras curadas por visita en la población Por Protocolo (PP) de pacientes que toman NorLeu³-A(1-7).

La **Figura 2** es un gráfico que muestra el porcentaje de úlceras totalmente curadas (cierre de heridas del 100 %) en la población de pacientes que toman NorLeu³-A(1-7) (denominado también "DSC 127").

La **Figura 3** es un gráfico que muestra la mediana del tiempo de curación completa de las úlceras (cierre de heridas del 100 %) en la población de pacientes que toman NorLeu³-A(1-7) (denominado también "DSC 127").

Descripción Detallada en la Invención.

En esta solicitud, a menos que se indique lo contrario, las técnicas utilizadas pueden encontrarse en cualquiera de las diversas referencias bien conocidas, tales como: Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, Vol. 185, Editado por D. Guede, 1991. Academic Press, San Diego, CA), "Guide to Protein Purification" en Methods in Enzymology (M.P. Duetshcer, ed., (1990) Academic Press, Inc.); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al. 1990. Academic Press, San Diego, CA), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 2^a Ed. (R.I. Freshney. 1987. Liss, Inc. Nueva York, NY), Gene Transfer and Expression Protocols, pp. 109-128, ed. E.J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.), y el catálogo de Ambion 1998 (Ambion, Austin, TX).

Tal como se usan en el presente documento, las formas en singular "una", "uno", "un" y "el" o "la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. "Y", tal y como se utiliza en el presente documento se usa indistintamente con "o" a menos que se indique expresamente lo contrario.

Todas las realizaciones de cualquier aspecto de la invención pueden utilizarse combinadas, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

- En un primer aspecto, la presente invención proporciona un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle³-A(1-7) para su uso en el tratamiento de úlceras del pie diabético en un paciente humano, en el que el péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle³-A(1-7) se administra en una cantidad eficaz para tratar la úlcera del pie diabético, y en el que el péptido se administra por vía tópica en una formulación de gel que comprende del 0,5 % al 4 % de hidroxietilcelulosa (HEC) en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). La presente invención también describe el uso de un péptido y métodos para el tratamiento de úlceras del pie diabético, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle³-A(1-7), o sal del mismo, para tratar la úlcera del pie diabético.
- Tal y como se demuestra en los siguientes ejemplos, los inventores han demostrado que los métodos y péptidos de la invención pueden utilizarse para tratar las úlceras del pie diabético, y proporcionan una mejora sustancial sobre otras terapias convencionales.
- Nle³-A(1-7) (o NorLeu³-A(1-7); denominado también "DSC127") es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC ID. N°: 1). En diversas realizaciones, el péptido administrado al paciente humano puede comprender o consiste en Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile (SEC. ID. N°: 2), Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His (SEC. ID. N°: 3), o más preferentemente Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1), o sales de los mismos. El péptido Nle³-A(1-7) o sales del mismo, puede sintetizarse químicamente o expresarse de forma recombinante, pudiendo realizarse cada una de estas formas utilizando métodos convencionales en la técnica.
- En una realización, el péptido, o sal del mismo, se administra a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En diversas realizaciones adicionales, el péptido, o sal del mismo, se administra a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,75 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,5%; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,25 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,1 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,075 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,05 %; y aproximadamente 0,03 %; todo ello en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
- El paciente humano puede padecer diabetes de Tipo I o diabetes de Tipo II, y tener una úlcera del pie, definida como una herida abierta en cualquier parte del pie (talón, parte central del pie y antepié).
- Tal como se utiliza en el presente documento, el "tratamiento" de una úlcera diabética incluye
- (a) limitar la progresión del tamaño, área y/o profundidad de la úlcera del pie;
 - (b) reducir el tamaño, área y/o profundidad de la úlcera del pie;
 - (c) aumentar la tasa de curación y/o reducir el tiempo hasta la curación;
 - (d) curar la úlcera del pie (epitelización sin drenaje del 100 %); e
 - (e) disminuir la frecuencia de amputación o retrasar el tiempo hasta la amputación.
- La úlcera del pie puede causar cualquier patología subyacente, incluyendo, pero sin limitación, neuropatía, traumatismo, deformidad, altas presiones plantares, formación de callosidades, edema, y enfermedad arterial periférica. En realizaciones preferidas, la úlcera del pie diabético se produce, al menos en parte, por neuropatía y presión resultante (sobrecarga de peso en la extremidad debido a la falta de sensibilidad en el pie). Como saben los expertos en la técnica, las úlceras del pie diabético en seres humanos tienden a deberse a neuropatías y a presión, que se diferencian de manera significativa, por ejemplo, de las heridas agudas murinas. En una realización preferida adicional, la úlcera del pie diabético comprende una o más callosidades.
- En una realización adicional, la úlcera del pie diabético es una úlcera crónica. Tal como se utiliza en el presente documento, una úlcera "crónica" del pie es una que ha estado presente durante al menos 7 días sin una reducción de tamaño; preferentemente, al menos 14 días; incluso más preferentemente, presente al menos 21 o 28 días sin reducción de tamaño. En una realización preferida adicional que puede combinarse con cualquiera de estas realizaciones, la úlcera crónica del pie no ha respondido (es decir, sin reducción de tamaño, área, y/o profundidad de la úlcera del pie; no hay curación de la úlcera del pie) a ningún otro tratamiento.
- El péptido, o sal del mismo, puede administrarse mediante cualquier vía apropiada, preferentemente mediante administración tópica. En una realización, los métodos de la invención pueden comprender la administración de una formulación tópica con tanta frecuencia como se considere apropiado, es decir: una vez al día, dos veces al día, etc. Los métodos también pueden comprender la administración del péptido, o sal del mismo, durante tanto tiempo como considere deseable un médico tratante, por ejemplo, hasta la curación de la úlcera. Para la administración, se prefiere que la formulación tópica forme una película continua que cubra completamente el área de la úlcera, incluyendo los márgenes. En una realización preferida, la formulación tópica se aplica con un espesor de aproximadamente 0,25 a 1,5 mm; preferentemente de 0,5 a 1,5 mm; de manera preferente aproximadamente 1 mm de espesor.
- En una realización, la administración tópica comprende la administración en una formulación seleccionada del grupo que consiste en hidrogeles, cremas, pomadas, pastas, y lociones. Las formulaciones pueden aplicarse de cualquier

manera apropiada, lo que puede incluir cualquier vendaje para heridas para el cierre en la formulación que se considera que es apropiado a juicio del paciente o de su cuidador. Los ejemplos de tales vendajes incluyen, pero sin limitación, películas semipermeables, espumas, hidrocoloides, e hisopos de alginato de calcio.

5 Los métodos también pueden comprender el desbridamiento en y alrededor de la herida en combinación con la administración del péptido y de las formulaciones del mismo. El desbridamiento de todo el tejido necrótico, calloso y fibroso se realiza para el tratamiento de las úlceras del pie diabético. El tejido enfermo se desbrida considerablemente hacia atrás, hasta que el tejido sangra para permitir la visualización completa de la extensión de la úlcera y para detectar abscesos y senos subyacentes. Puede utilizarse cualquier técnica de desbridamiento apropiada determinada por un médico tratante. A continuación, después del desbridamiento, la herida puede lavarse a fondo con solución salina estéril o con un desinfectante no tóxico.

15 En otra realización, la formulación tópica comprende aproximadamente del 0,5 % al 4 % de hidroxietilcelulosa (HEC) en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En diversas realizaciones adicionales, la formulación tópica puede comprender de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 % de HEC, o aproximadamente 2 % de HEC, en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). Estas formulaciones que comprenden matrices con bajo porcentaje de HEC (es decir, 2%) proporcionan un aumento de 10 veces en la liberación del péptido durante un periodo de 24 horas a partir de formulaciones tales como las que comprenden 10% de carboximetilcelulosa (CMC), un resultado que podría ser inesperado para los expertos en la técnica. Además, los datos muestran que las matrices de HEC son más biocompatibles que las formulaciones de HPMC y CMC ensayadas.

25 Los péptidos, o sales de los mismos, pueden administrarse junto con uno o más de (a) un lioprotector; (b) un tensioactivo; (c) un agente formador de volumen; (d) un agente ajustador de tonicidad; (e) un estabilizante; (f) un conservante y/o (g) un tampón. En algunas realizaciones, el tampón en la composición farmacéutica es un tampón Tris, un tampón de histidina, un tampón de fosfato, un tampón de citrato o un tampón de acetato. Los péptidos pueden administrarse con un lioprotector, por ejemplo, sacarosa, sorbitol o trehalosa. En ciertas realizaciones, los péptidos pueden administrarse con un conservante, por ejemplo, cloruro de benzalconio, bencetonio, clorohexidina, fenol, m-cresol, alcohol bencílico, metilparabeno, propilparabeno, clorobutanol, o-cresol, p-cresol, cloro-cresol, nitrato fenilmercúrico, timerosal, ácido benzóico y diversas mezclas de los mismos. En otras realizaciones, los péptidos pueden administrarse con un agente formador de volumen, como glicina. En otras realizaciones más, los péptidos pueden administrarse con un tensioactivo, por ejemplo polisorbato-20, polisorbato-40, polisorbato-60, polisorbato-65, polisorbato-80-; polisorbato-85, poloxámero-188, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, monooleato de sorbitán, trilaurato de sorbitán, triestearato de sorbitán, triolesterato de sorbitán, o una combinación de los mismos. Los péptidos se pueden administrar con un agente ajustador de tonicidad, por ejemplo, un compuesto que haga que la formulación sea sustancialmente isotónica o isoosmótica con la sangre humana. Los ejemplos de principios ajustadores de tonicidad incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, metionina, manitol, dextrosa, inositol, cloruro sódico, arginina y clorhidrato de arginina. En otras realizaciones, los péptidos pueden administrarse con un estabilizante, es decir, una molécula que, cuando se combina con el péptido reduce o previene sustancialmente la inestabilidad física y/o química de la proteína de interés en forma liofilizada o líquida. Los ejemplos de estabilizantes incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, inositol, cloruro sódico, metionina, metionina, arginina y clorhidrato de arginina, parabeno, y combinaciones de metil parabeno y propil parabeno.

45 En todos los aspectos y realizaciones de la invención, los ácidos apropiados que pueden formar sales con los péptidos incluyen, pero sin limitación, ácidos inorgánicos, tales como, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido perclórico, ácido nítrico, ácido tiocianico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares; y ácidos orgánicos, tales como, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido antranílico, ácido cinámico, ácido naftaleno sulfónico, ácido sulfanílico y similares. Las bases apropiadas capaces de formar sales con los péptidos incluyen, pero sin limitación, bases inorgánicas, tales como, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio y similares; y bases orgánicas, tales como, mono-, di- y tri- alquil y aril aminas (es decir, trietilamina, diisopropilamina, metilamina, dimetilamina y similares) y opcionalmente etanolaminas sustituidas (es decir, etanolamina, dietanolamina y similares).

55 Los péptidos, o sales de los mismos, también pueden derivarse para proporcionar una semivida potenciada, por ejemplo, mediante unión con polietilenglicol. Los péptidos, o sales de los mismos, pueden comprender L-aminoácidos, D-aminoácidos (que son resistentes a proteasas específicas de L-aminoácidos *in vivo*), una combinación de D- y L- aminoácidos, y diversos aminoácidos de "diseño" (es decir, β -metilaminoácidos, α -metilaminoácidos, y N α -metilaminoácidos, etc.) para transmitir propiedades especiales.

60 Los polipéptidos pueden ser el único principio activo en la composición farmacéutica, o la composición puede comprender además uno o más de otros principios activos apropiados para el tratamiento de úlceras del pie diabético, tales como antibióticos. Los métodos pueden utilizarse junto con otras terapias para la úlcera del pie, incluyendo, pero sin limitación, terapia de presión negativa sobre la herida, yesos de contacto total, andadores de yeso extraíbles, calzado de tipo sandalia, becaplermin, control de la infección y terapia con oxígeno hiperbárico.

Los métodos y péptidos pueden incluir cualquier otra de las realizaciones, como se describe en el siguiente ejemplo. Dichas realizaciones pueden usarse en cualquier combinación de los métodos y péptidos de la invención, a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

5 En un segundo aspecto, la presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas, que comprenden:

(a) de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 4 % de HEC, en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg) y

(b) un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A(1-7), o sal del mismo;

10 en las que el péptido está presente a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).

15 En el presente documento se demuestra que las formulaciones farmacéuticas son particularmente eficaces para tratar las úlceras del pie diabético, tales como úlceras crónicas del pie diabético, que no se tratan de manera eficaz usando terapias convencionales.

20 En una realización, el péptido comprende Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1), o sal del mismo. En otra realización el péptido consiste en Asp-Arg- Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1), o sal del mismo.

25 En una realización, el péptido, o sal del mismo, está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En diversas realizaciones adicionales, el péptido, o sal del mismo, está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,75 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,5 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,25 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,1 %; de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 0,075 %; de aproximadamente 0,03 %; a aproximadamente 0,05 %; y aproximadamente 0,03 %; todo ello en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).

30 En una realización adicional, la formulación farmacéutica comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3% de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). Estas formulaciones que comprenden matrices con bajo porcentaje de HEC (es decir, 2%) proporcionan un aumento de 10 veces en la liberación del péptido durante un periodo de 24 horas a partir de formulaciones tales como las que comprenden 10% de carboximetilcelulosa (CMC), un resultado que podría ser inesperado para los expertos en la técnica. Además, los datos muestran que las matrices de HEC son más biocompatibles que las formulaciones de HPMC y CMC ensayadas. En una realización aún adicional, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente 2 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg). En otra realización, la formulación comprende una formulación de hidrogel.

40 En una realización, la formulación es una formulación tópica basada en gel, seleccionada del grupo que consiste en hidrogeles, cremas, pomadas, pastas y lociones. La formulación se administra para formar una película continua que cubra todo el área de la úlcera, incluyendo los márgenes, sin que se salga. En una realización preferida, la formulación tópica se aplica con un espesor de aproximadamente 0,25 a 2 mm; preferentemente de 0,5 a 1,5 mm; de manera preferente aproximadamente 1 mm de espesor. En otra realización no limitante la formulación se aplica con un espesor de aproximadamente 0,075 ml por cm² de área de superficie.

50 En todos los aspectos y realizaciones de la invención, los ácidos apropiados que pueden formar sales con los péptidos incluyen, pero sin limitación, ácidos inorgánicos, tales como, ácido clorhídrico, ácido, bromhídrico, ácido perclórico, ácido, nítrico, ácido tiocianico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares; y ácidos orgánicos, tales como, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido antranílico, ácido cinámico, ácido naftaleno sulfónico, ácido sulfanílico y similares. Las bases apropiadas capaces de formar sales con los péptidos incluyen, pero sin limitación, bases inorgánicas, tales como, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio y similares; y bases orgánicas, tales como, mono-, di- y tri- alquil y aril aminas (es decir, trietilamina, diisopropilamina, metilamina, dimetilamina y similares) y opcionalmente etanolaminas sustituidas (es decir, etanolamina, dietanolamina y similares).

60 Las formulaciones farmacéuticas también pueden comprender (a) un lioprotector; (b) un tensioactivo; (c) un agente formador de volumen (d) un agente ajustador de tonicidad; (e) un estabilizante; (f) un conservante y/o (g) un tampón. En algunas realizaciones, el tampón en las formulaciones farmacéuticas es un tampón de Tris, un tampón de histidina, un tampón de fosfato, un tampón de citrato o un tampón de acetato. Las formulaciones farmacéuticas también pueden incluir un lioprotector; por ejemplo, sacarosa, sorbitol o trehalosa. En ciertas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas incluyen un conservante, por ejemplo, cloruro de benzalconio, bencetonio, clorohexidina, fenol, m-cresol, alcohol bencílico, metilparabeno, propilparabeno, clorobutanol, o-cresol, p-cresol, clorocresol, nitrato fenilmercúrico, timerosal, ácido benzóico y diversas mezclas de los mismos. En otras realizaciones, las formulaciones farmacéuticas incluyen un agente formador de volumen, como glicina. En otras

realizaciones más, las formulaciones farmacéuticas incluyen un tensioactivo, por ejemplo, polisorbato-20, polisorbato-40, polisorbato-60, polisorbato-65, polisorbato-80-polisorbato 85, poloxámero-188, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, monooleato de sorbitán, trilaurato de sorbitán, triestearato sorbitán, triolesterato de sorbitán, o una combinación de los mismos. Las formulaciones farmacéuticas también pueden incluir un agente ajustador de tonicidad, por ejemplo, un compuesto que haga que la formulación sea sustancialmente isotónica o isoosmótica con la sangre humana. Los ejemplos de principios ajustadores de tonicidad incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, metionina, manitol, dextrosa, inositol, cloruro sódico, arginina y clorhidrato de arginina. En otras realizaciones, las formulaciones farmacéuticas también incluyen un estabilizante, por ejemplo, una molécula que, cuando se combina con una proteína de interés, reduce o previene sustancialmente la inestabilidad física y/o química de la proteína de interés en forma liofilizada o líquida. Los ejemplos de estabilizantes incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, inositol, cloruro sódico, metionina, metionina, arginina y clorhidrato de arginina

Los péptidos, o sales de los mismos, también pueden derivarse para proporcionar una semivida potenciada, por ejemplo, mediante unión con polietilenglicol. Los péptidos, o sales de los mismos, pueden comprender L-aminocácidos, D-aminoácidos (que son resistentes a proteasas específicas de L-aminoácidos *in vivo*), una combinación de D- y L- aminoácidos, y diversos aminoácidos de “diseño” (es decir, β -metilaminoácidos, α -metilaminoácidos, y $N\alpha$ -metilaminoácidos, etc.) para transmitir propiedades especiales.

El péptido puede ser el único principio activo en la composición farmacéutica, o la composición puede comprender además uno o más de otros principios activos apropiados para el tratamiento de las úlceras del pie diabético.

Las formulaciones pueden incluir cualquiera de las realizaciones tal como se divulga en el siguiente ejemplo. Dichas realizaciones pueden utilizarse en cualquier combinación en las formulaciones de la invención, al menos que el contexto indique claramente otra cosa.

Ejemplo: *Ensayo clínico en fase 2, Aleatorio, con Grupos Paralelos, con Doble Ocultación, Controlado con Placebo, para evaluar la Seguridad y Eficacia de NorLeu³-A (1-7) en el Tratamiento de Sujetos con Úlceras Diabéticas*

El estudio se diseñó como un ensayo clínico multicéntrico, aleatorio, con grupos paralelos, con doble ocultación, controlado con placebo. Tras 14 días de mejor asistencia médica para evaluar la curación de úlceras y asegurarse de que las heridas eran crónicas, a cuatro semanas de tratamiento activo le siguieron después ocho semanas de observación y valoración. El estudio comparó los efectos de dos concentraciones de NorLeu³-A(1-7) y de placebo, midiendo tanto la eficacia clínica como la seguridad. La integridad prolongada del tejido se evaluó en todos los sujetos durante un periodo de seguimiento que duró 12 semanas después del cierre completo de la herida.

Los sujetos se distribuyeron al azar a cada uno de los tres grupos de tratamiento en una proporción de 1:1:1:

Grupo 1: Control Vehículo Placebo sin NorLeu³-A(1-7) (denominado también “DSC127”) (Hidroxietilcelulosa (HEC) al 2 %, con metilparabeno al 0,1 %, propilparabeno al 2%)
Grupo 2: NorLeu³-A(1-7) al 0,03 % en Vehículo
Grupo 3: NorLeu³-A(1-7) al 0,01 % en Vehículo

El periodo de tratamiento de cuatro semanas requirió la aplicación diaria del tratamiento en el lugar de la herida. La primera aplicación de cada semana se realizó en la clínica y para el resto de las aplicaciones de la semana el paciente se auto-administró el tratamiento.

Si la curación de la herida se producía durante los periodos de tratamiento o valoración, se realizaba una última visita de valoración y la integridad se valoraba después de 4 y 12 semanas (normalmente las semanas 16 y 24 del estudio).

Criterios de Inclusión

Para la participación en el estudio se consideraron admisibles los siguientes pacientes:

- 1) mujeres u hombres ambulatorios que en la selección fuesen mayores de 18 años
- 2) que al inicio del Periodo de exploración y después de la incorporación en el estudio, tuviesen al menos una úlcera neuropática diabética plantar de Wagner, incurable, crónica, de Grado 1 o de Grado 2 (úlceras de espesor parcial o total y que no involucran al hueso, al tendón o a la cápsula (exploración del tendón o de la cápsula), y que no tienen signos de infección o mielitis), de entre 1,0-6,0 cm² en la parte central del pie o en el antepié, incluyendo los dedos pero excluyendo el talón. La no curación se define como la presente durante un mínimo de un mes, pero no superior a diez meses con una reducción de tamaño menor del 30 % en respuesta al tratamiento (tratamiento que no es del estudio, pero incluyendo descarga) durante el Periodo de Exploración. Si presentan más de una úlcera que cumple los criterios de inclusión, la más grande se trata y se estudia de acuerdo con el protocolo. Las úlceras que no eran del estudio se trataron de acuerdo con la mejor práctica institucional, utilizando el protocolo de descarga.

3) que tuviesen un Índice Tobillo-Brazo (ITB) mayor de 0,7 para UPD neuroisquémica o mayor de 0,8 para UPD neuropática.

4) que tuviesen una Presión Tisular de Oxígeno (TcPO₂) mayor de 40 mm Hg o gran presión sistólica en el dedo mayor de 50 mm Hg para garantizar la posible curación.

5) que tuviesen diabetes de Tipo I o de Tipo II bajo control metabólico, tal como se confirma por una hemoglobina glucosilada (HbA1c) menor o igual al 12 %, y un nivel de creatinina en suero no mayor de 3 mg/dl obtenidos en los 3 meses de inclusión en el estudio.

6) Evaluación del nivel de neuropatía inicial del pie usando filamentos de Semmes-Weinstein. Se consideró que los pacientes tenían neuropatía específica de sitio suficiente para la pérdida de sensibilidad protectora (PSP) si no podían sentir un monofilamento de 5,07 aplicado al menos a 5 de los 7 sitios siguientes (28) en el pie en estudio:

o de la planta del pie a dedos y metatarsos 1, 3 y 5 (3 sitios)

o de la planta del pie a la parte media y lateral de la parte central del pie (2 sitios)

o plantar del talón (1 sitio)

o primer interespacio dorsal distal (1 sitio)

7) En el momento de iniciar la terapia del estudio las mujeres con potencial reproductor debían dar un resultado negativo en una prueba de embarazo.

8) Durante el periodo de tratamiento y de valoración de la participación en el estudio, las mujeres con potencial reproductor debían estar dispuestas a utilizar un método de control de natalidad médicamente aceptable, tal como Essure®, un anticonceptivo hormonal (píldoras orales, dispositivos implantables o parches dérmicos), un dispositivo intrauterino, ligadura de trompas o doble barrera.

9) Capacidad y disposición para entender y cumplir con los procedimientos del estudio y dar su conformidad antes de su inclusión en el estudio o iniciar los procedimientos del mismo.

Criterios de exclusión

Si un sujeto reunía alguno de los siguientes criterios quedaba excluido del estudio:

1) Tener una hipersensibilidad conocida a alguno de los componentes de la medicación del estudio.

2) Estar expuesto a alguno de los principios en investigación 30 días antes de incorporarse al estudio.

3) Mujeres embarazadas o que están amamantando.

4) Mujeres no dispuestas a utilizar ningún método de control de la natalidad médicamente aceptable, tal como Essure®, un anticonceptivo hormonal (píldoras orales, dispositivos implantables o parches dérmicos), un dispositivo intrauterino, ligadura de trompas o doble barrera, durante el periodo de tratamiento y de valoración de la participación en el estudio.

5) Enfermedad maligna activa de cualquier tipo. Un sujeto que ha tenido una enfermedad maligna en el pasado, que se ha tratado y que actualmente no tiene de la enfermedad, puede tenerse en cuenta para participar en el estudio.

6) Insuficiencia Renal Crónica (la creatinina en suero durante la exploración es mayor de 3,0 g/dl obtenida en los 3 meses de la incorporación en el estudio).

7) Disfunción Hepática Crónica constatada por niveles de transaminasa dos veces más altos de lo normal.

8) Receptores de hemodiálisis o terapia de diálisis peritoneal continua ambulatoria (TDPA).

9) Presión arterial en reposo (en el momento de la primera visita del Periodo de exploración) que supera los 160 mmHg de sistólica y/o 90 mmHg de diastólica en 3 lecturas consecutivas con una diferencia de al menos 15 minutos.

10) Radioterapia previa en el pie con la úlcera objeto del estudio.

11) Uso reciente de corticoesteroides (en las 8 últimas semanas), inmunosupresores (en las 8 últimas semanas).

12) Saber que es positivo para el VIH.

13) Sujetos cuya úlcera era principalmente de etiología isquémica tal y como se diagnostica mediante un ABI < 0,7 o una presión sistólica del dedo mayor < 40mmHg o TcPO₂ < 40 mmHg en posición supina y < 40mmHg sentado, medida en el antepié con electrodos configurados a 44 C.

14) Anemia falciforme, enfermedad de Raynaud u otra enfermedad vascular periférica.

15) Historial reciente de drogodependencia.

5 16) Sujetos que hace un mes habían recibido un agente biológico que incluía factores de crecimiento o equivalentes dérmicos (Regranex™, Apligraf™ o Dermagft™).

10 17) Sujetos con diabetes incontrolada, tal y como se define por una hemoglobina glucosilada (HbA1c) > 12 %, o un nivel de creatinina en suero mayor de 3 mg/dl obtenidos en los 3 meses de incorporación en el estudio determinado en dos ocasiones distintas con una diferencia de al menos 3 semanas.

15 18) Sujetos con una úlcera que, desde el punto de vista clínico, se determina que está infectada y que requiere principios antimicrobianos tópicos o principios que se sabe que afectan a la curación de las heridas o que, por cualquier motivo, han estado tomando antibióticos sistémicos durante más de 7 días.

19) Sujetos con UPD de Wagner de grado 3 o superior, absceso profundo o infección de la articulación o tendón, o gangrena u osteomielitis.

20 20) Un ECG con una marcada prolongación inicial del intervalo QT/QT (por ejemplo, demostración repetida del intervalo QTc > 450 milisegundos (ms))

25 En el estudio se incorporaron 80 sujetos en total; 27 se distribuyeron al azar para recibir la dosis de 0,03 % de NorLeu³-A(1-7), 25 se distribuyeron al azar para recibir placebo y 28 se distribuyeron al azar para recibir la dosis de 0,01 %. Todos los sujetos recibieron también la mejor asistencia médica de referencia, que incluyó desbridamiento, limpieza de heridas, aplicación de un vendaje oclusivo y descarga adecuada estandarizada.

Resultados

30 Resultados recientes de un estudio clínico en Fase 2 con NorLeu³-A(1-7) en pacientes con úlceras del pie diabético mostraron que la proporción de las úlceras del estudio se curaban a las 12 semanas, tal como se define por una epitelización sin drenaje del 100 %, así como en todos los criterios de valoración secundarios. En el estudio clínico multicéntrico, con doble ocultación, controlado con placebo, se distribuyó al azar a 80 sujetos para recibir una de dos dosis de NorLeu³-A(1-7) (0,03 % y 0,01 %) o control con placebo vehículo (hidroxietilcelulosa al 2 % en tampón fosfato con metilparabeno al 0,1 % y propilparabeno al 0,02 %), además de la mejor asistencia médica de referencia (que incluyó el desbridamiento). El fármaco se toleró bien y no tuvo efectos adversos significativos asociados al tratamiento con NorLeu³-A(1-7).

40 En la población con Intención de Tratar (IDT) (todos los sujetos que reciben alguna medicación del estudio y de los que se dispone de cualquiera de los datos post-iniciales): los resultados muestran que el 54 % de las heridas diabéticas tratadas con 0,03 % (dosis alta) de NorLeu³-A(1-7) consiguieron un cierre del 100 % en 12 semanas o menos, en comparación con el 33 % de los pacientes que recibieron control con placebo, y con el 30 % de los pacientes que recibieron la dosis de 0,01 % (dosis baja) de NorLeu³ A(1-7). Basándose en análisis de razón de probabilidades, los pacientes tratados con NorLeu³-A(1-7) al 0,03 % fueron 2,3 veces más susceptibles de curar sus heridas completamente en comparación con los pacientes tratados con placebo/asistencia médica de referencia.

45 En la población Por Protocolo (PP) (todos los pacientes que no habían incumplido el protocolo principal que afecta a su eficacia): los resultados muestran que el 65 % de las heridas diabéticas tratadas con la dosis de 0,03 % de NorLeu³-A(1-7) consiguieron un cierre del 100 % en 12 semanas o menos, en comparación con el 38 % de los pacientes que recibieron control con placebo, y con el 28 % de los pacientes que recibieron la dosis de 0,01 % de NorLeu³-A(1-7). Véanse las figuras 1-3. Basándose en el análisis de razón de probabilidades, los pacientes tratados con NorLeu³-A(1-7) al 0,03 % fueron 3,0 veces más susceptibles de curar sus heridas completamente en comparación con los pacientes tratados con placebo/asistencia médica de referencia.

50 En comparación con el placebo, la dosis alta de NorLeu³-A(1-7) superó bien el objetivo de medición del criterio de valoración primario de una mejora de 15 puntos porcentuales en la curación completa de heridas en las 12 semanas de duración del estudio en las poblaciones tanto IDT (aumento del 21%) como PP (aumento del 27 %).

55 El estudio no se diseñó para un significado estadístico, sin embargo hubo una mejora estadísticamente significativa (p=0,049) en la tasa de curación en la población PP tratada con dosis alta durante las 12 semanas de tratamiento en comparación con el grupo control, tal y como se midió por la profundidad de la úlcera utilizando análisis de covarianza.

60 Las tasas de curación de las heridas para los pacientes tratados con NorLeu³-A(1-7) fueron notables, mostrando el análisis IDT un aumento del 21 % y el análisis PP un aumento del 27 % sobre el grupo tratado con placebo.

65

REFERENCIAS

1. American Diabetes Association, Consensus development conference on diabetic foot wound care. *Diabetes Care* 1999; 22:1354-1360.
- 5 2. Pecoraro RE, Reiber GE, Burgess EM, Pathways to diabetic limb amputation: basis for prevention. *Diabetes Care* 1990; 13:513-521.
3. Rodgers KE, Roda N, Felix JC, Espinoza T, Maldonado S, diZerega GS. Histological evaluation of the effects of angiotensin peptides on wound repair in diabetic mice. *Experimental Dermatology* 2003; 12(6):784-790.
- 10 4. Rodgers K, Xiong S, Felix J, Roda N, Espinoza T, Maldonado S, diZerega GS. Development of angiotensin (1-7) as an agent to accelerate dermal repair. *Wound Repair Regen* 2001; 9:238-250.
5. Rodgers KE, Espinoza T, Felix J, Roda N, Maldonado S, diZerega GS. Acceleration of healing, reduction of fibrotic scar, and normalization of tissue architecture by an angiotensin analogue, Norleu3-A (1-7). *Plast Reconstr Surg* 2003; 111:1195-1206.
- 15 6. Wagner, FJ. A classification and treatment program for diabetic, neuropathic, and dysvascular foot problems. *Am Acad of Orthopaedic Surgeons. Instructional Course Lecture* 1979; 28:143-165.
7. Foster AV, Eaton C, McConville DO, Edmonds ME. Application of OpSite film: a new and effective treatment of painful diabetic neuropathy. *Diabetes Med* 1994;11(8):768-772.
8. Sheehan P, Jones P, Caselli A, Giurini JM, Veves A. Percent change in wound area of diabetic foot ulcers over a 4-week period is a robust predictor of complete healing in a 12-week prospective trial. *Diabetes Care* 2003; 26:1879-1882.
- 20 9. Rodgers, KE, Abiko M, Girgis W, St. Amand KM, Campeau JD, diZerega GS. Acceleration of dermal tissue repair by Angiotensin II. *Wound Repair Regen* 1997; 5:175-183.
10. Rodgers, KE, DeCherney AH, St. Amand KM, Dougherty WR, Felix JC, Girgis W, diZerega GS. Histologic alterations in dermal repair after thermal injury: effects of topical angiotensin II. *Burn Care and Rehabilitation* 1997; 18:381-388.
- 25 11. Okuyama N, Roda N, Guerrero A, Dougherty W, Nguyen T, diZerega GS, Rodgers KE. Effect of angiotensin II on the viability, vascularity of random flaps in a rat model. *Annals Plastic Surgery Res* 1999; 68:913-918.
12. Rodgers KE, Ellefson DD, Espinoza T, Roda N, Maldonado S, diZerega GS. Effect of NorLeu3-A (1-7) on scar formation over time after full thickness incision injury in the rat. *Wound Repair Regen* 2005; 13:309-317.
- 30 13. Santos RA, Brosnihan KB, Chappell MC, Pesquero J, Chernicky CL, Greene LJ, y Ferrario CM. Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem. *Hypertension* 1988; 11(suplemento I):I-53-I-57.
14. Santos RAS, Brosnihan KB, Jacobsen DW, Di- Corleto P, y Ferrario CM. Production of Ang-(1-7) by human vascular endothelium. *Hypertension* 1992; 19(suplemento II):II-56-II-61.
- 35 15. Santos et al. Characterization of a new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): evidence that the actions of angiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptors. *Brain Res Bull* 1994; 35:293-298.
16. Yamamoto K, Chappell MC, Brosnihan KB, Ferrario CM. In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1992; 19:692-696.
17. Chappell MC, Tallant EA, Brosnihan KB, Ferrario CM. Processing of angiotensin peptides by NG108-15 neuroblastoma X glioma hybrid cell line. *Peptides* 1990; 22:375-380.
- 40 18. Chappell MC, Jacobsen DW, Tallant EA. Characterization of angiotensin II receptor subtypes in pancreatic acinar AR42J cells. *Peptides* 1995; 16:741-747.
19. Chappell MC, Tallant EA, Brosnihan KB, Ferrario CM. Conversion of angiotensin I to angiotensin-(1-7) by thimet oligopeptidase (E.C.3.4.24.15) in vascular smooth muscle cells. *J Vasc Biol Med* 1995; 5:129-137.
- 45 20. Daemen MJAP, Lombardi DM, Bosman FT, Schwartz SM.. Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. *Circ Res* 1991; 68:450-56.
21. Dzau VE, Pratt R, Gibbons G, Schunkert H, Lorell B, Ingelfinger J. Molecular mechanism of angiotensin in the regulation of vascular and cardiac growth. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21 [Suplemento11 I]:S7.
22. Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ. Induction of platelet-derived growth factor A-chain and c-myc gene expression by Angiotensin II in culture rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989; 83:1419-24.
- 50 23. Stouffer GA, Owens GK. Angiotensin II induced mitogenesis of spontaneously hypertensive rat derived cultured smooth muscle cells is dependent on autocrine production of transforming growth factor- β . *Circ Res* 1992; 70:820-28.
24. Koibuchi Y, Lee WS, Gibbons GH, Pratt RE. Role of transforming growth factor β -1 in the cellular growth response to Angiotensin II. *Hypertension* 1993; 21:1046-50.
- 55 25. Kawahara Y, Sunako M, Tsuda T, Fukazaki H, Fukomoto Y, Takai Y. Angiotensin II induces expression of the c-fos gene through protein kinase C activation and calcium ion mobilization in cultured vascular smooth muscle cells. *BBRC* 1988; 150:52-9.
26. Mangiarua EI, Palmer VL, Lloyd LL, McCumbee WD. Platelet-derived growth factor mediates angiotensin II-induced DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Arch Physiol Biochem* 1997; 105(2):151-7.
- 60 27. Su EJ, Lombardi DM, Wiener J, Daemen MJ, Reidy MA, y Schwartz MA. Mitogenic effect of angiotensin II on the rat carotid arteries and type II or III mesenteric microvessels but not type I mesenteric microvessels is mediated by endogenous basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82:321.
28. Rodgers LC, Driver VR, Armstrong DG. Assessment of the diabetic foot. In Krasner DL, Rodeheaver GT, Sibbald RG eds. *Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals*. 4th ed. Malvern PA: HMP Communications, 2007: 549-556.
- 65 29. Bolton L, McNeess P, van Rijswijk L et al. Wound healing outcomes using standardized care. *JWOCN* 2004;

31:65-71.

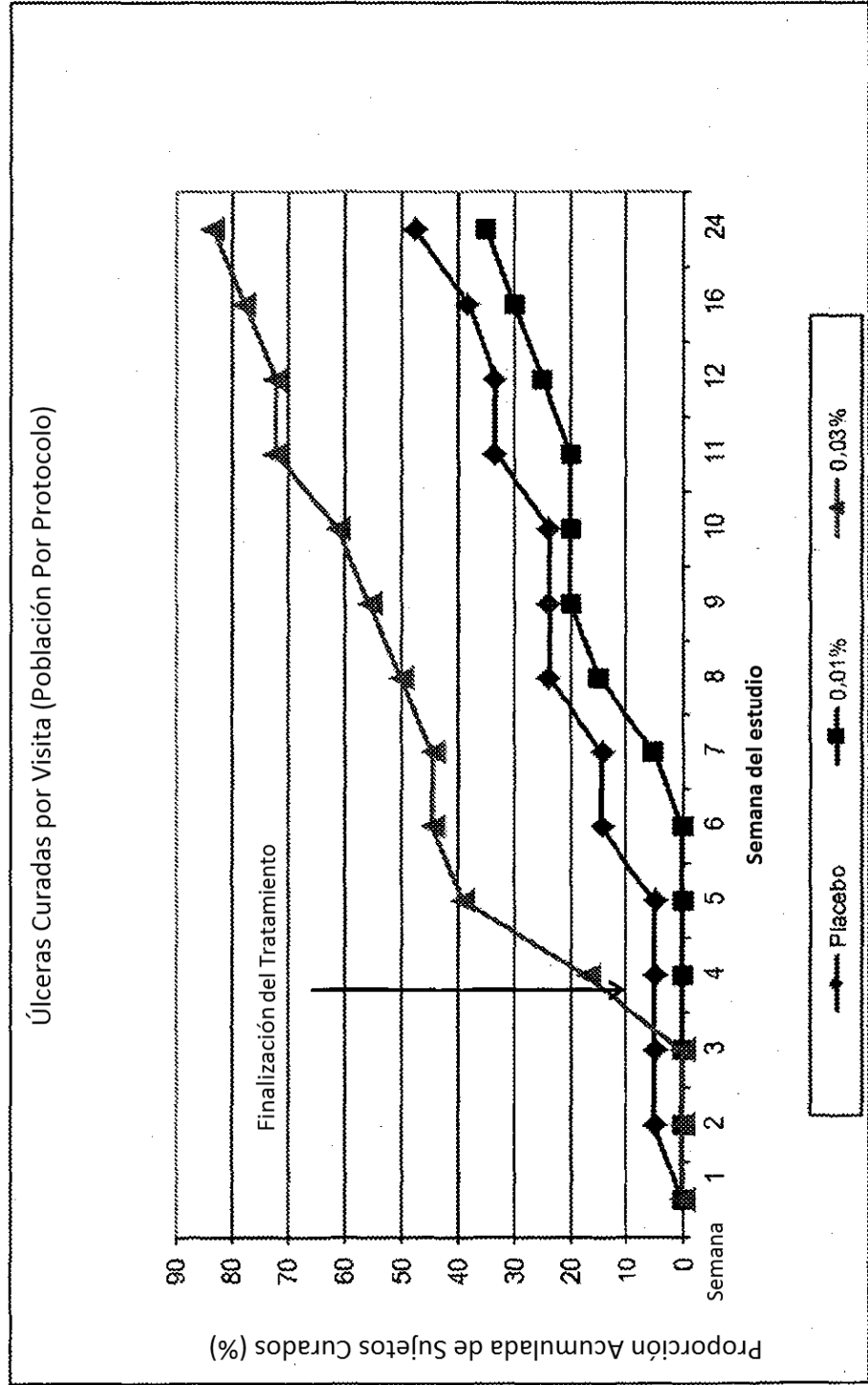
LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Universidad del sur de California Rodgers, Kathleen E. DiZerega, Gere S.
 <120> Métodos para el Tratamiento de las Úlceras del Pie Diabético
 <130> 11-1000-PCT
 10 <150> 61/438780
 <151> 02-02-2011
 15 <160>3
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 20 <211>7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 25 <223> Sintética
 <220>
 <221 > MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 30 <223> Xaa es Nle
 <400> 1
 Asp Arg Xaa Tyr Ile His Pro
 1 5
 <210>2
 35 <211>5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Sintética
 <220>
 <221 > MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 45 <223> Xaa es Nle
 <400> 2
 Asp Arg Xaa Tyr Ile
 1 5
 50 <210>3
 <211>6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Sintética
 <220>
 <221 > MISC_FEATURE <222> (3)..(3)
 60 <223> Xaa es Nle

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A(1-7) para el uso en el tratamiento de úlceras del pie diabético en un paciente humano, en donde el péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A(1-7) se administra en una cantidad eficaz para tratar la úlcera del pie diabético, y en donde el péptido se administra por vía tópica en una formulación de gel que comprende del 0,5 % al 4 % de hidroxietilcelulosa (HEC) en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
- 10 2. El péptido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido comprende Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1).
3. El péptido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido consiste en Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1).
- 15 4. El péptido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la úlcera del pie diabético está causada, al menos en parte, por neuropatía y la presión resultante.
- 20 5. El péptido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones de 1-4, en donde la úlcera del pie diabético comprende una o más callosidades.
6. El péptido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones de 1-5, en donde la úlcera del pie diabético es una úlcera crónica, y en donde preferentemente la úlcera crónica del pie no ha respondido a ningún otro tratamiento.
- 25 7. El péptido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones de 1-6, en donde el péptido se administra como una formulación tópica que forma una película continua que cubre todo el área de la úlcera diabética.
- 30 8. El péptido para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el péptido se administra en una formulación de hidrogel.
9. El péptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones de 1-8, en donde el péptido se administra a una concentración del 0,03 % al 0,1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
- 35 10. Una formulación farmacéutica, que comprende:
- (a) del 0,5 % al 4 % de HEC en una base en (ml) peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg); y
- 40 (b) un péptido de al menos 5 aminoácidos contiguos de Nle3 A (1-7);
- en la que el péptido está presente a una concentración del 0,03 % al 1 % en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
- 45 11. La formulación farmacéutica de la reivindicación 10, en la que el péptido comprende Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1).
- 12 La formulación farmacéutica de la reivindicación 10, en la que el péptido consiste en Asp-Arg-Nle-Tyr-Ile-His-Pro (SEC. ID. N°: 1).
- 50 13: La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10-12, que comprende del 1 % al 3 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
14. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10-12, que comprende el 2 % de HEC en una base en peso (mg)/volumen (ml), o en una base en peso/peso (mg).
- 55 15. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 10-14, en donde la formulación comprende una formulación de hidrogel.

Figura 1



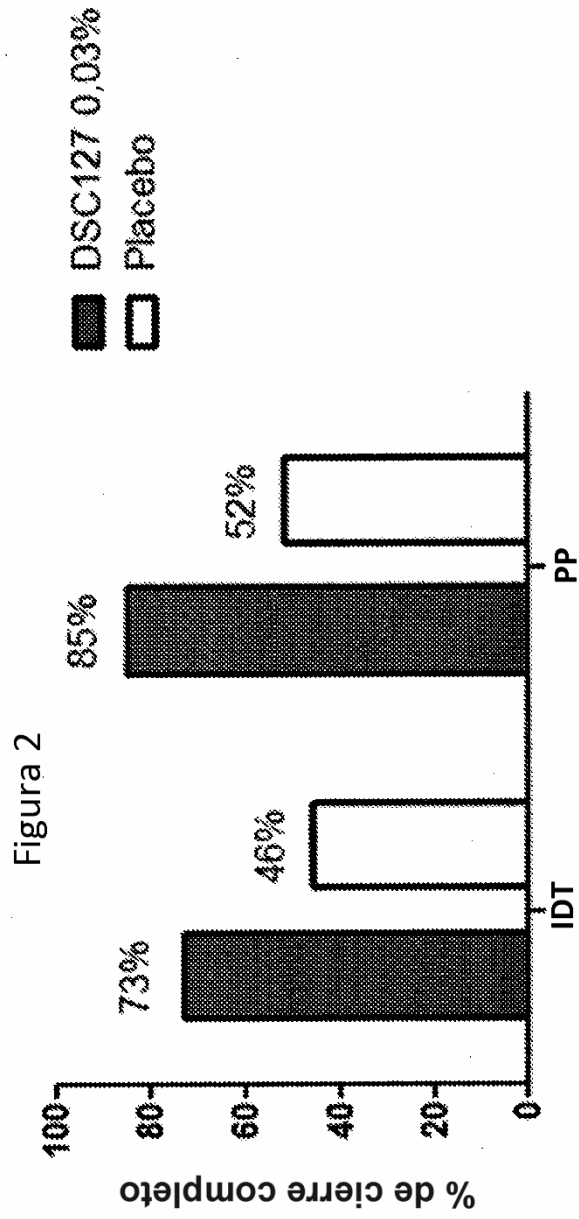


Figura 3

