



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0806230-7 A2



(22) Data do Depósito: 24/01/2008

(43) Data da Publicação Nacional: 25/05/2021

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, MÉTODO PARA TRATAR A DISFUNÇÃO ERÉTIL E MÉTODO PARA RESTAURAR A CAPACIDADE DE EREÇÃO

(51) **Int. Cl.:** A61K 38/08.

(30) **Prioridade Unionista:** 26/01/2007 US 60/897510.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG; UNIÃO QUÍMICA FARMACÊUTICA NACIONAL S.A.

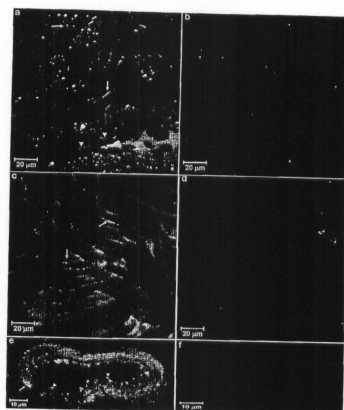
(72) **Inventor(es):** FRÉDÉRIC JEAN GEORGES FREZARD; ANDREY CHRISTIAN DA COSTA GONÇALVES; RODRIGO ARAÚJO FRAGA DA SILVA; ROBSON AUGUSTO SOUZA DOS SANTOS; RUBÉN DARIO SINISTERRA MILÁN.

(86) **Pedido PCT:** PCT BR2008000022 de 24/01/2008

(87) **Publicação PCT:** WO 2008/089532 de 31/07/2008

(85) **Data da Fase Nacional:** 27/07/2009

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, MÉTODO PARA TRATAR A DISFUNÇÃO ERÉTIL E MÉTODO PARA RESTAURAR A CAPACIDADE DE EREÇÃO A presente invenção refere-se ao uso de agonistas de receptor Ang- (1-7) e/ou Ang - (1-7) e/ou análogos de Ang (1-7) no tratamento/restauração de disfunção erétil.



**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, MÉTODO PARA TRATAR A DISFUNÇÃO
ERÉTIL E MÉTODO PARA RESTAURAR A CAPACIDADE DE EREÇÃO**

CAMPO DA INVENÇÃO

5

A presente invenção se refere ao uso de Angiotensina-(1-7),
sozinha ou em combinação com outros agentes terapêuticos no
tratamento de disfunção erétil (ED). Métodos para tratar ED
e/ou para restaurar a capacidade erétil são baseados no uso
10 de Angiotensina-(1-7) sozinha ou em combinação com outros
agentes terapêuticos também são apresentados.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

15 Impotência ou insuficiência erétil é uma desordem comum que
se acredita afetar cerca de doze por cento dos homens
adultos abaixo dos quarenta e cinco anos de idade, cerca de
vinte por cento dos homens de sessenta anos e cerca de
cinquenta e cinco por cento dos homens adultos de setenta e
20 cinco anos. Uma série de causas de insuficiência erétil, em
adição a deficiências anatômicas do pênis ou do saco
escrotal que precluem uma ereção suficiente para penetração
vaginal foram identificadas. Estas causas são de origem
psicológica e física e em qualquer indivíduo sofrendo de
25 impotência pode haver mais de uma causa de disfunção
erétil.

Disfunção erétil pode ser psicológica, resultando, por
exemplo, de ansiedade ou depressão, sem nenhuma correlação

orgânica ou somática aparente. Tal disfunção erétil, referida como "psicogênica", é responsável por cerca de quinze a vinte por cento dos casos de impotência. Em outros casos, a disfunção erétil é associada com aterosclerose de artérias levando sangue ao pênis; tal disfunção sendo
5 referida como "arteriogênica" ou "aterosclerótica". Cerca de quarenta a sessenta por cento dos casos de impotência são arteriogênicos em sua origem.

10 Em ainda outros casos há vazamento de veias no pênis, de modo que a pressão suficiente para uma ereção não pode ser ou alcançada ou mantida. Esta disfunção é referida como "vazamento venoso" ou "drenagem anormal". Esta condição é frequentemente exacerbada pela presença de algumas
15 disfunções arteriogênicas onde o suprimento de sangue ao pênis é prejudicado. Em ainda outros casos, a disfunção é associada com uma neuropatia, tal como um dano nos nervos advindo de, por exemplo, cirurgia ou machucado pélvico, no sistema nervoso, afetando o pênis. Tal disfunção é referida
20 como "neurogênica" e cerca de dez a quinze por cento dos casos de impotência são neurogênicos em sua origem.

Há também uma alta incidência de insuficiência erétil entre diabéticos, especialmente aqueles com diabetes mellitus
25 insulino-dependente. Disfunção erétil em diabéticos é frequentemente classificada como "diabetogênica", muito embora a disfunção por trás disso seja normalmente neurogênica associada à neuropatia, podendo ser arteriogênica ou neurogênica e arteriogênica. Cerca de

metades dos homens diabéticos sofre de insuficiência erétil, e cerca da metade dos casos de impotência neurogênica ocorrem em diabéticos.

- 5 Insuficiência erétil é, algumas vezes, um efeito colateral de certas drogas, tais como beta-bloqueadores que são administrados para reduzir a pressão sanguínea em pessoas sofrendo de hipertensão, ou drogas administradas para tratar depressão ou ansiedade. Consumo excessivo de álcool
10 também foi ligado à insuficiência erétil. Estas formas de insuficiência erétil podem ser consideradas como um subconjunto de insuficiência neurogênica ou psicogênica.

- 15 Numerosos métodos para tratar impotência são disponíveis. Estes tratamentos incluem tratamentos farmacológicos, cirurgia e, nos casos de disfunção psicogênica, terapia psicológica é algumas vezes efetiva.

- 20 Nos raros casos em que a insuficiência não é tratável devido a vazamento venoso, cirurgia pode ser normalmente empregada para reparar a lesão venosa e assim ou curar a insuficiência ou, se persistir a insuficiência erétil depois de reparar a lesão venosa, tornar a insuficiência tratável por métodos farmacológicos. Implantes penianos,
25 que também propiciam meios mecânicos para ereção suficiente para penetração vaginal, são amplamente utilizados para tratar impotência. Implantes têm sido utilizados recentemente, especialmente nos casos em que a intervenção farmacêutica é inefetiva, em casos que geralmente são de

impotência aterogênica severa. Entretanto, o tratamento de impotência com implantes penianos traz desvantagens sérias. Tal tratamento requer cirurgia e necessita da total destruição dos tecidos eréteis do pênis, precluindo para
5 sempre uma ereção normal.

Métodos de tratamento farmacológicos também são disponíveis. Tais métodos, entretanto, ainda não se provaram altamente satisfatórios ou sem efeitos colaterais
10 potencialmente severos.

VIAGRA® (citrato de sildenafila, Pfizer, Inc., New York, N.Y.), tomado oralmente, é até 80% efetivo (dependendo da severidade da disfunção erétil (ED) e/ou qualquer doença
15 relacionada) em pacientes para produzir uma ereção adequada para ato sexual. Ele é efetivo para um vasto leque de causas. Pacientes bem-sucedidos com VIAGRA® apresentam ereções normais e naturais. O VIAGRA® não apresenta efeito na libido (desejo sexual) de modo que não será efetivo a
20 não ser que o homem seja estimulado.

O VIAGRA® suprime a enzima fosfodiesterase de modo que o composto químico produtor de ereção monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) não é quebrado e uma ereção normal
25 ocorre. cGMP é um vasodilatador natural (dilata as artérias penianas) que relaxa o músculo liso das artérias penianas de modo que o músculo liso relaxado, em combinação com pressão sanguínea normal, faz com que as artérias penianas

se dilatam e as câmaras eréteis sejam cheias com sangue para produzir uma ereção.

Homens que não podem tomar VIAGRA® ou nos quais ele não é
5 efetivo normalmente alcançam ereção utilizando outro tratamento que produza ereções diretamente, sem estímulo sexual. Este tratamento utiliza a vaso dilatação (dilatação dos vasos) por meio de medicamentos (vasosodilatadores) que dilatam as artérias penianas para que as câmaras eréteis
10 possam se encher de sangue para produzir uma ereção. Estes medicamentos relaxam o músculo liso das artérias penianas para causar a dilatação arterial.

O vasodilatador mais comum é o ALPROSTADIL® (Caverjet,
15 Edex, Schwarz Pharma USA Holdings, Inc., Wilmington, Del.). Ele pode ser injetado na base do pênis (num dos *corpora cavernosa*) com uma agulha ou inserido na uretra na forma de pelotas por um sistema de aplicação conhecido como MUSE (Medicated Urethral Suppository for Erection). O
20 ALPROSTADIL® é efetivo em mais do que 80% dos pacientes e o sistema MUSE para cerca de 30% dos homens com disfunção erétil. Para homens em que o ALPROSTADIL® é inefetivo, uma mistura injetável de vasodilatadores (TRIMIX) é efetiva para cerca de 62% dos pacientes.

25

Homens capazes de alcançar uma ereção normal, mas que não conseguem sua manutenção devido a vazamento venoso podem ser auxiliados por um anel de constrição peniano. Este consiste de um dispositivo na forma de um anel que é

ajustado na base do pênis para conter o sangue sem vazamentos. Um anel peniano chamado Actis é disponível (Vivus Corp.).

- 5 Um novo medicamento, Uprima (apomorfina), administrado oralmente, tem sido estudado. Ele pretende focar nos mecanismos cerebrais que produzem a ereção. Este medicamento foi aprovado na Europa para o tratamento de disfunção erétil.

10

O medicamento tópico Topiglan (ALPROSTADIL®) apresentou resultados promissores, e é aplicado na cabeça do penis para produzir uma ereção diretamente, sem estimulação sexual. Um unguento facilita a forma de administração da
15 mesma forma que reduz o risco de efeitos adversos quando comparado com uma injeção ou pelota uretral.

Dois medicamentos de uso oral, vardenafila e tadalafila, da mesma forma que a sildenafil (VIAGRA®), são inibidores de
20 PDE-5 que suprimem a enzima que quebra o vasodilatador natural cGMP para facilitar e manter uma ereção.

Quando dois ou mais medicamentos são utilizados em combinação, o tratamento é chamado farmacoterapia de
25 combinação. Quando um medicamento é utilizado sozinho, o tratamento é chamado de monoterapia. Quando qualquer monoterapia falha, uma farmacoterapia de combinação pode ser efetiva.

Farmacoterapias de combinação utilizando pelo menos dois medicamentos têm sido utilizadas experimentalmente com resultados significativos. A combinação de VIAGRA® e MUSE foi avaliada (Eur. Urol. 2000; 38: 30-4 e BJU. Int. 2000; 5 86: 469-73 e Urol. 2000; 163: 198).

Outro estudo avaliou os benefícios de bloqueadores alfa orais (doxazosina oral em dose diária) em combinação ALPROSTADIL® intracavernoso (injetável) (Urol. 1998; 52: 10 739-43).

Outro estudo (Internat. J. Impot. Res. 2002; 14(1): 50-53) combinou VIAGRA® com Cardura (doxazosina) oral em dose diária.

15

Peptídeos de angiotensina (Ang) são um grupo de peptídeos reguladores no sistema renina-Angiotensina (RAS), que auxiliam na regulação da pressão sanguínea e volume extracelular no corpo. Vários peptídeos de angiotensina são conhecidos, e.g., Ang-(2-8) (Angiotensina III), Ang-(3-8) (angiotensina IV), Ang II (4-8), Ang II (5-8), Ang II (1-4), Ang-(1-9) e Ang-(1-7).

Ang-(1-7) é um heptapeptídeo biologicamente ativo de (RAS) e suas funções são frequentemente opostas àquelas atribuídas a Ang II, que é o principal componente efetor de RAS. Ang-(1-7) pode ser formado a partir de Ang II via enzima-2 de conversão de angiotensina (ACE-2) ou diretamente de Ang I pela ação de endopeptidases neutras ou 25

de prolina. O receptor para Ang-(1-7) é o receptor Mas acoplado a G- proteína (ver Santos R.A.S., et al. (2003). *PNAS, USA, 100: 8258-8263*). As atividades principais de Ang-(1-7) são vasodilatação via estimulação de óxido nítrico, prostaglandinas e potenciação das atividades de bradiquinina e antidiurese.

Outras atividades importantes de Ang-(1-7) são conhecidas, e.g., Ang-(1-7) pode estar envolvido nos mecanismos de aprendizado e memória (ver, Santos, R.A. e Campagnole-Santos, M.J. (1994) *Braz J Med Biol Res. 27(4):1033-47*; Hellner, K., et al. (2005) *Mol Cell Neurosci. 29(3):427-35*).

A Tabela 1 sumariza as atividades biológicas de Ang-(1-7) e outras angiotensinas de importância (fonte: Ferreira AJ, e Santos RAS. (2005). *Braz J Med Biol Res, 38:499-507*).

Tabela 1. Efeitos cardiovasculares mediados por receptores de angiotensina

Angiotensina	Receptor	Ações
Ang II	AT ₁	Vaso constrição e efeito pressor Aumento de inotropismo e cronotropismo Efeito arritmogênico Remodelamento e proliferação celular Trombose e inflamação
Ang II	AT ₂	Inibição de proliferação celular Apoptose Vasodilatação
Ang- (1-7)	AT ₁₋₇ (Mas) *	Vasodilatação

		Potenciação de vasodilatação BK-induzida Eleito anti-arritmogênico Melhora da função contrátil pós-isquêmica Inibição de proliferação celular
Ang-(3-8) (Ang IV)	AT ₄ (IRAP)	Vasodilatação Inibição de proliferação celular
Des-Asp1-Ang I	AT ₁	Inibição de proliferação celular Ang II-induzida

* Ações Mas-mediadas são listadas baseadas em evidências diretas ou indiretas (bloqueio por A-779). Ang = angiotensina; BK = bradiquinina; IRAP = aminopaptidase regulada por insulina

5 Os benefícios do uso de Angiotensina-(1-7) em doenças cardíacas e suas complicações foi um ponto importante com relação a este heptapeptídeo. Por exemplo, o pedido de patente U.S. 2004/171584 revela formulações compreendendo angiotensina-(1-7) e/ou losartana para o tratamento de

10 hipertensão arterial e outras doenças cardiovasculares. Adicionalmente, o pedido de patente U.S. 2005/069533 revela formulações de angiotensina-(1-7) para o tratamento de hipertensão arterial, ferimentos, queimação, eritema, tumores, alopecia, doenças do sangue, diabetes melitus,

15 mobilidade do esperma, nefropatia, desordens gastrointestinais e ginecológicas, angiogênese e angioplastia.

Sabe-se que existem pelo menos três caminhos diferentes

20 para se formar Ang-(1-7) (ver, e.g., Ferreira, A.J. e Santos, R.A.S. (2005) *Braz J Med Biol Res*, 38:499-507); Loot, A.E. (2005); "Therapeutic perspectives of

Angiotensin-(1-7) in heart failure", Dissertação de tese, University of Groningen). Ang-(1-7) pode ser formado a partir de Ang I (1-10), (i) diretamente, pela ação combinada de endopeptidase neutra e prolil-endopeptidase
5 (NEP e PEP), ou (ii) indiretamente, pela hidrólise do intermediário Ang-(1-9) pela ação da enzima de conversão de angiotensina e da peptidase neutra (ACE e NEP). Alternativamente, Ang-(1-7) pode ser formada pela hidrólise de Ang II (1-8) pela ação de prolil-carboxipeptidase,
10 prolil-endopeptidase e enzima de conversão de angiotensina 2 (PCP, PEP e ACE2).

Os distúrbios sexuais da presente invenção são conhecidos dos técnicos no assunto (ver, e.g., Diagnostic e
15 Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, (DSM-IV), American Psychiatric Association, Washington D.C., 1994; assim como o DSM-IV Guidebook, American Psychiatric Press, Inc., Washington D.C., 1995).

20 Assim, muito embora a impotência seja um problema onipresente, existem alguns métodos disponíveis que são satisfatórios para o tratamento desta desordem. Portanto, é um objeto da presente invenção prover métodos e composições para o tratamento da impotência.

25

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere ao uso de Ang-(1-7) no tratamento da disfunção erétil (ED). O Ang-(1-7) pode ser

utilizado sozinho ou em combinação com agentes terapêuticos para ED.

5 A invenção também inclui o uso de análogos de Ang-(1-7) no tratamento de ED. Análogos de Ang-(1-7) podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com agentes terapêuticos para ED.

10 A invenção também inclui o uso de agonistas do receptor de Ang-(1-7) no tratamento de ED. Agonistas do receptor de Ang-(1-7) podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com agentes terapêuticos para ED.

15 Uma primeira modalidade da presente invenção se refere a uma composição farmacêutica numa forma de dosagem apropriada, a referida composição compreendendo: (a) Ang-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou um análogo de Angiotensina-(1-7) em quantidade efetiva para diminuir os sintomas de disfunção erétil e para
20 restaurar a capacidade erétil; (b) opcionalmente um inibidor de PDE e (c) um veículo farmacêuticamente aceitável. A composição farmacêutica pode ainda conter um agente anti-hipertensivo.

25 Numa segunda modalidade, a presente invenção se refere a um método para tratar disfunção erétil em um indivíduo com necessidade de tal tratamento, o referido método compreendendo administrar ao referido indivíduo uma quantidade efetiva de Ang-(1-7) e/ou um agonista de

receptor de Ang-(1-7) e/ou um análogo de Ang-(1-7), sozinho ou em combinação com outros ingredientes ativos.

5 Numa terceira modalidade, a presente invenção se refere a um método para restaurar a capacidade erétil em um indivíduo com necessidade de tal tratamento, este método compreendendo administrar ao referido indivíduo uma quantidade efetiva de Ang-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Ang-(1-7) e/ou um análogo de Ang-(1-7), sozinho
10 ou em combinação com outros ingredientes ativos para restaurar a capacidade erétil.

Numa modalidade preferida, a invenção é um complexo de inclusão formado por Ang-(1-7) e uma ciclodextrina.

15

Objetos, aspectos e pontos fortes adicionais da presente invenção se tornarão claros a partir da descrição abaixo. Adicionalmente, as vantagens da presente invenção serão evidentes a partir das explicações a seguir, com referência
20 aos desenhos.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra a imunolocalização de of Mas nas
25 estruturas penianas de ratos e humanos. Mas se localiza em endotélio cavernoso humano **(a-b)** e de rato **(c-d)** (triângulos) e membranas de células de músculo liso (setas), endotélio arteriolar de rato e células de músculo liso **(d-e)**.

A Figura 2 ilustra graficamente o efeito *in vivo* de Ang-(1-7) na resposta erétil estimulada ganglionicamente em ratos. Ang-(1-7) **(a-b)** aumentou a elevação de CCP/MAP induzida por estimulação gangliônica que foi embotada por infusão de A-779 **(c)**. A-779 reduz a elevação de CCP/MAP induzida por estimulação mínima na qual o valor máximo CCP/MAP foi observado **(d-e)**. A elevação CCP/MAP atenuada por L-NAME induzida por estimulação elétrica não foi superada por Ang(1-7) **(f)**. Todos os resultados são expressos em termos de média $\pm$ s.e.m. Análise estatística foi feita com ANOVA seguida por teste Bonferroni post hoc. *, $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ comparado com controle, medido 10 min antes da administração da droga. Teste *t* foi aplicado nos protocolos A-779 e L-NAME. * $P < 0,05$ comparado com controle.

A Figura 3 mostra o óxido nítrico liberado no corpo cavernoso humano induzido por Ang-(1-7). Liberação de NO estimulada por Ang-(1-7) no tecido cavernoso de humanos sem **(a-b)** e com **(c-d)** disfunção erétil. **H-WED** é humano sem disfunção erétil; **H-ED**, humano com disfunção erétil.

A Figura 4 ilustra o óxido nítrico liberado no corpo cavernoso de rato induzido por Ang-(1-7). Liberação de NO induzida por Ang-(1-7) em corpo cavernoso de rato não estimulado **(a-b)**. Estimulação gangliônica submáxima de liberação NO de rato, que foi aumentada por Ang-(1-7) **(c-d)**. **ES**, estimulado eletricamente.

A Figura 5 mostra o óxido nítrico liberado em corpo cavernoso de camundongos induzido por Ang-(1-7). Liberação de NO estimulada por Ang-(1-7) em camundongos Mas WT **(a-b)** que foi abolida em camundongos Mas-*knockout* **(c-d)**. **WT**,
 5 sendo camundongos selvagens; **KO**, camundongos *knockout*.

A Figura 6 ilustra *blots* mostrando que Ang-(1-7) estimula a fosforilação de ENOS (S1177) e aumenta a atividade ENOS em células transfectadas CHO-Mas. **a**, expressão de receptor Mas
 10 AT₁ e AT₂ em células transfectadas CHO e CHO-Mas detectada por análise *western blotting* com anticorpos específicos. **b**, Aumento dependente de tempo na fosforilação ENOS. Células transfectadas CHO-Mas foram expostas a Ang-(1-7), (10^{-7} M, 5 a 30 min) na presença ou ausência de seu inibidor,
 15 fosforilação A-779 (10^{-6} M) e ENOS detectada por análise *western blotting* com anticorpos fosfo-específicos (S1177). A fosforilação foi completamente bloqueada pelo antagonista de Ang-(1-7), A-779. **c**, Liberação de NO induzida por Ang-(1-7) de maneira dose-dependente. Liberação de NO por 30
 20 min foi medida utilizando-se fluorocromo 2,3-diaminonaftaleno (DAN). * $P < 0,05$ (LV, ventrículo esquerdo).

A Figura 7 ilustra graficamente o efeito da estimulação de
 25 nervo gangliônico na CCP/MAP de camundongos Mas^{+/+} e Mas^{-/-}. **a**. Elevação de CCP/MAP induzida por estimulação gangliônica em camundongos Mas^{-/-} foi significativamente menor do que em Mas^{+/+}. **b**. Elevação de CCP/MAP induzida por uma segunda série de estimulação gangliônica feita 10 min depois foi

mais atenuada em Mas^{-/-} do que em Mas^{+/+}. Todos os resultados são expressos como média $\pm$ s.e.m. ANOVA seguido de teste Bonferroni post hoc. *, P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001 comparado com Mas^{+/+}.

5

A Figura 8 mostra tecido fibroso aumentado produzido pela deleção genética de Mas. **a.** Camundongos Mas^{-/-} tingidos com Gomori tricromo mostraram aumento no tecido fibroso quando comparados com camundongos Mas^{+/+}, indicando aumento de conteúdo de colágeno. **b.** Imagem representativa de tingimento Gomori-tricromo no corpo cavernoso de camundongos Mas^{+/+} e Mas^{-/-} (4x - imagens alto; 40x - imagens baixo). Resultados expressos como média $\pm$ s.e.m, n=4. Teste Student *t* despareado seguido de teste Mann Whitney. P < 0,05 comparado com camundongos Mas^{+/+} (AU, unidade arbitrária).

A Figura 9 ilustra o efeito *in vivo* de Ang-(1-7) em ratos normotensivos e hipertensivos DOCA-sal. Tratamento com Ang-(1-7) (15,5 pmol/Kg/min peso corporal) potencializou o aumento dependente de voltagem em CCP/MAP quando de estimulação gangliônica em ratos normotensivos **(a)**, e normaliza a função peniana em ratos hipertensivos DOCA-sal **(b-c)**. Todos os resultados são expressos como média $\pm$ s.e.m. ANOVA seguido de teste Bonferroni post hoc. *, P<0,05 comparado com controle, gravado 10 min antes da administração da droga.

25

A Figura 10 ilustra o efeito na função erétil de SHR cronicamente tratado com complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD e Atenolol. O tratamento de animais com Atenolol reduziu a elevação de CCP/MAP que foi induzida por
5 estimulação elétrica gangliônica (1,5 V, pulsos de 5 msec em frequência de 12 Hz). O complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD não alterou a elevação CCP/MAP, mas anulou o efeito atenuante induzido pelo Atenolol na função erétil.

10 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

ED é uma desordem envolvendo a incapacidade de um mamífero macho atingir ereção, ejaculação ou ambos. Um aumento em ED é frequentemente associado com idade e é geralmente causado
15 por uma doença física ou como efeito colateral de um tratamento com drogas. Os medicamentos que são majoritariamente responsáveis por ED são anti-hipertensivos (e.g., beta-bloqueadores, simpatiolíticos e diuréticos) e anti-diabéticos.

20

Acredita-se que ED e doença vascular (e.g., hipertensão) são ligadas em nível endotelial. Disfunção endotelial resulta numa inabilidade da célula de músculo liso se alinhar nas arteríolas para relaxar, prevenindo assim a
25 vasodilatação. O óxido nítrico (NO) é um vasodilatador potente e é secretado pelo endotélio, sendo sintetizado a partir de L-arginina pela enzima endotelial NO sintase (eNOS).

Ang-(1-7) promove a liberação de prostaglandinas a partir de células de músculo liso e endotelial vascular, liberação de NO, vasodilatação, inibição de crescimento celular vascular e atenuação de vaso constrição induzida por Ang II.

O sistema renina-angiotensina possui dois braços principais: um braço vasoconstritor/proliferativo no qual p principal mediador é Ang II agindo em receptores AT₁; e um
10 braço vasodilator/anti-proliferativo no qual o principal efetor é Ang-(1-7) agindo pelo receptor Mas acoplado à proteína G. Peptídeos do sistema renina-angiotensina, incluindo p vasodilatador Ang-(1-7), são amplamente liberados, incluindo-se dentro do corpo cavernoso (ver,
15 e.g., Kifer I., et al. (1997) *J Urol.* 157: 1920-1925).

Os inventores demonstraram que Ang-(1-7) pode ser utilizado para tratar ED, pois: (i) a presença de Mas no corpo cavernoso de rato e humano, (ii) o efeito da estimulação
20 Mas por Ang-(1-7) na liberação de NO no corpo cavernoso de humano, (iii) os mecanismos de sinalização ativados pela liberação de NO por Ang-(1-7); e (iv) atividade nos modelos *in vivo* de ereção peniana.

25 A maioria das causas de disfunção erétil resulta de efeitos adversos em nervos ou vasos sanguíneos para, de ou dentro do pênis. As causas de disfunção erétil incluem: aterosclerose (espessamento, estreitamento, endurecimento e menor elasticidade dos vasos sanguíneos penianos); quebra

de mensagem química para ou dentro do pênis (assim prevenindo as câmaras eréteis de serem preenchidas com sangue para produzir ereção); vazamento venoso (sangue escapando dos vasos penianos); dano nervoso e de vaso sanguíneo causado por diabetes; dano nervoso causado por doenças degenerativas tais como esclerose múltipla e doença de Parkinson; dano nervoso causado pela remoção cirúrgica da próstata, bexiga ou reto; aneurisma aórtico abdominal (nervos e vasos penianos podem ser danificados);
deficiência de B-12 (causa problemas por todo o corpo); tratamentos com radiação para câncer de próstata, bexiga ou reto; fatores psicológicos (stress, depressão, ansiedade pelo desempenho); desbalanços hormonais tais como deficiência de testosterona ou níveis anormais de prolactina; álcool; uso de tabaco; uso de drogas; doença de Peyronie (o tecido conectivo do pênis se espessa, desta maneira interferindo com a habilidade de se ter ereção); machucados nos nervos ou artérias necessárias para se ter uma ereção (fratura pélvica, de cérebro, da espinha, abdômen ou pênis); anti-hipertensivos; anti-depressivos; tranquilizantes; anti-fúngicos; anti-ácidos; drogas redutoras de colesterol; diuréticos; nitratos; Proscar (medicação para hiperplasia de próstata benigna); propecia (para reverter calvície); estrogênios; anti-androgênicos; anti-histaminas; anti-colinérgicos; drogas anti-câncer; envelhecimento, hipertensão; obesidade e hipercolesterolemia.

A presente invenção particularmente se refere ao uso de Ang-(1-7) e/ou agonistas de receptor de Ang-(1-7) e/ou análogos de Ang-(1-7) no tratamento de disfunção erétil (ED) em um paciente precisando do mesmo, em que a disfunção erétil é causada por diabetes, doença dos rins, alcoolismo crônico, esclerose múltipla, aterosclerose, doença vascular, doença neurológica ou doença psicológica. Ang-(1-7) e/ou agonistas de receptor de Ang-(1-7) e/ou análogos de Ang-(1-7) podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com outros ingredientes ativos.

Adicionalmente, a presente invenção é particularmente relacionada ao uso de Ang-(1-7) e/ou agonistas de receptor de Ang-(1-7) e/ou análogos de Ang-(1-7) no tratamento/restauração de disfunção erétil (ED) num paciente com necessidade deste, em que a disfunção erétil é causada por anti-hipertensivos, anti-histaminas, anti-depressivos, tranquilizantes, supressores de apetite ou por cirurgia ou machucado que afete a ereção peniana.

20

A presente invenção também provê uma composição farmacêutica numa forma de dosagem apropriada, a referida composição compreendendo um inibidor de PDE combinado com Ang-(1-7) e/ou agonista de receptor Ang-(1-7) e/ou análogo de Ang-(1-7) e um veículo farmacêutico. A composição pode ainda compreender um agente anti-hipertensivo.

O termo "Angiotensina-(1-7)", como aqui utilizado, é o heptapeptídeo tendo a sequência Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-

Pro. Os termos "agonista de receptor de Angiotensina-(1-7)" e "análogo de Angiotensina-(1-7)" devem ser entendidos como incluindo agonistas peptídicos ou análogos e não-peptídicos, e.g., Ala¹-Angiotensina-(1-7), AVE 0991 e
 5 aqueles revelados no pedido de patente U.S. 2005/069533, aqui incorporados por referência na sua totalidade. Também são incluídos agonistas não-peptídicos e.g., na patente U.S. 6.235.766 que é aqui incorporada por referência na sua totalidade.

10

O termo "agente anti-diabético", como aqui utilizado, deve ser entendido como incluindo, mas não é limitado a, aumentadores de secreção de insulina, e.g., um derivado de biguanida, por exemplo, metformina ou um sal
 15 farmacêuticamente aceitável do mesmo. Outros aumentadores de secreção de insulina incluem sulfoniluréias (SU), incluindo tolbutamida; clorpropamida; tolazamida; acetohexamida; 4-cloro-N-[(1-pirrolidinilamino)carbonil]-benzenossulfonamida (glicopiramida); glibenclamida
 20 (gliburida); gliclazida; 1-butil-3-metanililuréia; carbutamida; glibonurida; glipizida; gliquidona; glisoxepid; glibutiazol; glibuzol; glihexamida; glimidina; glipinamida; fenbutamida e tolilciclāmida ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

25

O termo "agente anti-hipertensivo", como aqui utilizado, deve ser entendido como incluindo, mas não limitado a, antagonistas de receptor de Angiotensina II, e.g. losartana, candersartan, irbersartan, valsartan,

olmesartan, eprosartan, telmisartan; agentes β -bloqueadores; agentes bloqueadores de canal de cálcio; inibidores de ACE, e.g. captopril, enalapril, fosinopril, delapril, benzepril e agentes diuréticos.

5

O termo "agente β -bloqueador", como aqui utilizado, deve ser entendido como incluindo, mas não limitado a, acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, esmolol, metoprolol, propanolol, timolol, pindolol, penbutolol, 10 labetalol, carvedilol. Atenolol foi utilizado como um exemplo de agente β -bloqueador utilizado na composição da invenção.

O termo "agente diurético", como aqui utilizado, deve ser 15 entendido como incluindo, mas não limitado a, clorotiazida, clortalidona, furosemida, hidroclorotiazida, manitol, metolazona, amilorida e mistura de hidroclorotiazida, triantereno e mistura de hidroclorotiazida e diuréticos que levam carga de potássio, tais como amilorida, 20 spironolactona e triantereno.

O termo "inibidor de PDE", como aqui utilizado, deve ser entendido como incluindo, mas não limitado a, inibidores de fosfodiesterase não seletivos, e.g. papaverina, e 25 inibidores de fosfodiesterase 5, tais como sildenafil, vardenafila e tadalafila ou um sal farmacêuticamente aceitável dos mesmos.

Uma "quantidade efetiva" é uma quantidade suficiente para alcançar melhora na função erétil ou alívio nos sintomas da disfunção erétil ou mesmo restaurar a capacidade erétil. Quantidades efetivas dependerão da condição especificamente sendo tratada e de sua severidade; das características individuais do paciente, incluindo idade, condição física, tamanho e peso; tratamento concomitante e do modo de administração. Estes fatores são bastante conhecidos de um técnico no assunto e podem ser estabelecidos sem experimentação desnecessária. Geralmente, doses de Ang-(1-7) ou agonista de receptor de Ang-(1-7) ou análogo de Ang-(1-7) variarão de cerca de 0,01 µg/kg peso corporal por dia a 100 µg/kg peso corporal por dia, preferivelmente de 0,1 µg/kg peso corporal por dia a 10 µg/kg peso corporal por dia. Doses múltiplas por dia, na maioria dos casos, podem ser contempladas para alcançar níveis sistêmicos apropriados de ingredientes ativos presentes na composição da presente invenção.

Os Ang-(1-7) ou agonista de receptor de Ang-(1-7) ou análogo de Ang-(1-7) aqui descritos podem ser os comercialmente disponíveis ou são derivados dos compostos comercialmente disponíveis, ou são sintetizados *de novo* pelo uso de procedimentos de rotina que são conhecidos dos técnicos no assunto da preparação de peptídeos.

As composições da presente invenção podem ser administradas por uma variedade de rotas de administração, incluindo, mas não sendo limitada a, oral, injeção intracavernosa,

aplicação tópica ou transdérmica em vários locais ou rotas parenterais. O modo particular selecionado dependerá dos ingredientes ativos presentes na composição, da severidade da disfunção erétil sendo tratada e da dose requerida para
5 eficácia terapêutica. Preferencialmente, as composições da invenção se encontram na forma de administração oral por sua conveniência para o paciente e do esquema de dosagem.

10 Numa modalidade, a presente invenção se refere a um método para tratamento de ED pela administração, a um paciente com necessidade desta, de uma quantidade de Ang-(1-7) eficaz para diminuir os sintomas de ED. O Ang-(1-7) pode ser administrado numa dose efetiva que mantenha a pressão sanguínea sistêmica em níveis maiores do que os que podem
15 causar disfunção sexual. Preferencialmente, a dose terapeuticamente eficaz é suficiente para manter a pressão intracavernosa num nível substancialmente próximo ao da pressão arterial média.

20 Numa outra modalidade, a presente invenção se refere a um método para restaurar a capacidade erétil pela administração de uma quantidade de Ang-(1-7) ou agonista de receptor de Ang-(1-7) ou análogo de Ang-(1-7) a um paciente, tanto sozinho quanto combinado com outros
25 ingredientes ativos para restaurar a capacidade erétil.

As composições contendo Ang-(1-7) podem ser preparadas por quaisquer métodos bastante conhecidos no estado da técnica. Os ensinamentos de Remington's Pharmaceutical Sciences ou

de fontes de informação semelhantes podem ser utilizados para preparar formulações apropriadas de acordo com a presente invenção.

- 5 Onde composições injetáveis são selecionadas, a formulação para administração parenteral preferencialmente compreende uma preparação aquosa estéril de Ang-(1-7) e outros ingredientes ativos. A preparação estéril pode ser, apropriadamente, uma solução injetável estéril ou suspensão
10 em solvente ou diluente não-tóxico parenteralmente aceitável que seja conhecido de um técnico no assunto da área farmacêutica.

De acordo com a invenção, composições para administração
15 oral pode se apresentar como unidades discretas tais como cápsulas, tabletes, tabletes efervescentes, tabletes mastigáveis, pílulas, pós, grânulos e géis ou formas farmacêuticas semelhantes. Outras formas de formulação oral incluem suspensões ou emulsões em veículo aquoso ou não.

20

Nas formas de dosagem sólidas, os ingredientes ativos podem ser misturados com um veículo farmacêuticamente aceitável compreendendo pelo menos um componente selecionado do grupo compreendendo diluentes, aglutinantes, desintegrantes,
25 lubrificantes, agentes corantes e agentes flavorizantes. Diluentes inertes exemplificativos são carbonato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico, fosfato de cálcio tribásico, sulfato de cálcio, celulose microcristalina, celulose em pó, dextratos, dextrinas, ciclodextrinas, excipientes de

dextrose, frutose, caolin, lactitol, lactose, manitol, sorbitol, amido, amido pré-gelatinizado, sacarose, açúcar compressível e confeitos de açúcar. Uma ou mais das seguintes substâncias podem ser utilizadas como

5 aglutinantes, e.g., metil celulose, hidroxipropil celulose, hidroxipropil metil celulose, polivinilpirrolidona, gelatina, goma arábica, etil celulose, álcool polivinílico, pululan, amido pré-gelatinizado, agar, tragacant, alginato de sódio, propileno glicol e alginato. Uma ou mais das

10 seguintes substâncias podem ser utilizadas como desintegrantes hidroxipropil celulose pouco substituída, carboximetil celulose, carboximetil celulose cálcica, carboximetil celulose sódica, croscarmelose sódica, amido, celulose cristalina, amido hidroxipropílico e amido

15 parcialmente pré-gelatinizado e croscarmelose sódica. Exemplos de lubrificantes são ácido esteárico, estearato de magnésio, estearato de cálcio, talco, óleo de rícino hydrogenado, sacarose.

20 De acordo com a presente invenção, nos casos de cápsulas, tabletes, tabletes efervescentes e pílulas, as formas de dosagem podem ainda compreender agentes de tampão. Cápsulas de gelatina mole podem ser preparadas para conter uma mistura de ingredientes ativos da invenção e óleo vegetal.

25 Cápsulas de gelatina dura podem conter grânulos dos ingredientes ativos em combinação com um veículo sólido pulverento tal como, lactose, sacarose, sorbitol, manitol, amido de batata, amido de milho, amilopectina, derivados

celulósicos de gelatina. Adicionalmente, tabletes e pílulas podem ser preparados com revestimentos entéricos.

De acordo com a presente invenção, formas de dosagem do
5 tipo de liberação controlada/retardada/modulada são particularmente preferidas e são baseadas em veículos e matrizes incluindo, mas não limitados a, polímeros biocompatíveis, matrizes poliméricas farmacologicamente aceitáveis, lipossomas, lipossomas peguados ou uma matriz
10 de ciclodextrina ou de derivado de ciclodextrina. Formas de dosagem compreendendo os ingredientes ativos encapsulados numa matriz de ciclodextrina conforme definida no pedido de patente U.S. 2005/069533, aqui incorporado por referência em sua totalidade, são particularmente preferidas. Nesta
15 modalidade, a ciclodextrina é selecionada do grupo consistindo de ciclodextrina alquilada, ciclodextrina hidroxialquilada e ciclodextrina acilada. Particularmente preferida é uma ciclodextrina hidroxialquilada sendo a mais preferida uma hidroxipropil β -ciclodextrina.
20 Adicionalmente, derivados de ciclodextrina são descritos em Szejtli, J. *Chem Rev*, (1998), 98, 1743-1753 e Szent, L e Szejtli, J., *Advance Drug Delivery Reviews*, 36 (1999) 17-28,, que são aqui incorporados por referência em sua totalidade. Exemplos de derivados de ciclodextrina incluem
25 CDs metiladas (RAMEB = β -ciclodextrina aleatoriamente metilada); CDs hidroxialquiladas (hidroxipropil- β -CD e hidroxipropil γ -ciclodextrina); CDs acetiladas (acetil- γ -ciclodextrina); CDs reativas (clorotriazinil β -CD) e CDs ramificadas (glucosil- e maltosil β -CD); acetil- γ -

ciclodextrina; acetil- β -CD, sulfobutil- β -CD, α -, β - e γ -
ciclodextrinas sulfatadas; ciclodextrinas sulfoalquiladas.

Na modalidade mais preferida, a composição da presente
5 invenção compreende um complexo de inclusão de
hidroxipropil β -ciclodextrina-Ang-(1-7) (Ang-(1-7)/HP β -CD).

A seguir a presente invenção será descrita em mais
detalhes, por meio dos Exemplos. Deve-se notar que a
10 presente invenção não é limitada pelas descrições a seguir.

EXPERIMENTAL

Animais

15 Ratos machos Wistar intactos (220-250g), camundongos machos
Swiss, camundongos machos *Mas*-KO (*Mas*^{-/-}) de *background*
genetic puro C57BL/6, e camundongos de controle WT C57BL/6
(*Mas*^{+/+}) criados no recinto para animais do Instituto de
ciências Biológicas (CEBIO, Universidade Federal de Minas
20 Gerais, Minas Gerais, Brasil) foram utilizados nos ensaios
da presente invenção. Os animais foram mantidos em salas
com temperatura controlada, com ciclos de 14/10 h
luz/escuro (luzes às 6:00 AM) com livre acesso a água e
comida. O comitê de cuidados com animais da Universidade
25 Federal de Minas Gerais, Brasil, aprovou todos os
protocolos experimentais.

Procedimento cirúrgico

Ratos normotensivos e DOCA-sal hipertensivos, camundongos Mas -/- e WT foram anestesiados com uretano intraperitoneal (140 mg/Kg). A artéria femoral esquerda dos ratos e a artéria coronariana dos camundongos foi canulada para monitoramento contínuo da pressão arterial média (MAP). O bastão peniano foi liberado de pele e fascia e o corpo cavernoso foi canulado pela inserção de uma agulha 30-gauge conectada a um transdutor de pressão, permitindo o monitoramento contínuo da pressão no corpo cavernoso (CCP) conforme descrito na literatura (ver, e.g., T. M. Mills, et al., *Biol Reprod* 59, 1413 (Dec, 1998)). O corpo cavernoso esquerdo dos ratos foi canulado com agulhas 30-gauge ligadas a seringas de 10- μ L por meio de pequenos tubos de polietileno (PE)-10 e utilizado para administração das drogas vasoativas. A cavidade abdominal foi aberta, expondo o gânglio pélvico principal direito (MPG) e eletrodos bipolares de prata foram nele posicionados.

Modelo animal

20

Ratos machos Wistar (130-150g) foram uninefrectomizados e impregnados com um implante silástico sub-cutâneo contendo DOCA (200 mg/kg) sob anestesia de tribromoetanol (e.g., F. Ammarguella, et al. *Circulation* 103, 319 (Jan 16, 2001)). Os animais foram alimentados com água contendo 1,% NaCl e 0,2% KCl por 4 semanas. Animais sem uso foram uninefrectomizados, mas não receberam o implante DOCA, e foram alimentados com água potável normal. As pressões

sanguíneas sistólicas foram medidas utilizando-se procedimentos padrão de medida na cauda.

Tecido humano

5

Fragmentos descartados de tecido de corpo cavernoso humano (HCC) foram recuperados durante implantes de próteses penianas ou cirurgias de câncer de próstata e foram colocados em solução de Krebs resfriada em gelo para
10 transporte rápido para o laboratório. Tiras de HCC de pacientes com (H-ED) e sem disfunção erétil (H-WED) foram estudadas.

Procedimentos de imunohistoquímica

15

Os animais foram mortos e seu corpo cavernoso retirado. Tiras de corpo cavernoso de rato e HCC foram colocadas em paraformaldeído 4% por 2 h. Subsequentemente, seções de tecido adjacente (10 µm) foram feitas num criostato. Depois
20 deste período, as seções foram incubadas em PBS, tween 0,2 % e BSA 5%, cada uma por 15 min, e então sequencialmente incubadas com anticorpo primário (1:500) ou solução controle [consistindo de anticorpo primário (1:500) pré-incubado por 24 horas a 4°C com 50 µg de peptídeo
25 bloqueador correspondendo ao N-terminal da proteína Mas], por 24 h, a 4°C. Depois de incubação com solução de anticorpo ou controle, as seções foram lavadas em PBS (3 vezes por 5 min) e subsequentemente incubadas com o anticorpo secundário (1:400, Alexa 594, Molecular Probes)

por 2 h em temperatura ambiente. A reação foi parada em tampão Tris (50 mM) e tecidos foram montados em diapositivos revestidos com cromo-alum, secos ao ar e recobertos com meio de montagem glicerol/Tris. Imagens
5 fluorescentes foram obtidas utilizando-se um microscópio confocal Zeiss 510 meta laser de varredura equipado com lentes objetivas de imersão em óleo (x63).

Medidas DAF NO

10

Corpos cavernosos humanos e de rato foram carregados com DAF-FM (1,0 μ M) ou DAF-FM mais Ang-(1-7) (1,0 μ M e 10,0 nM, respectivamente) durante 10 minutos em temperatura ambiente. Subsequentemente, as tiras foram lavadas em PBS
15 (3 vezes por 5 min) e congeladas durante a noite a -80°C.

20

Os ratos foram anestesiados com uretano intraperitoneal (140 mg/Kg). O bastão peniano foi liberado de pele e fascia e o corpo cavernoso direito foi canulado pela inserção de
25 uma agulha 30-gauge acoplada a seringas de 10- μ L por tubinhos de PE-10 utilizados para injeção soluções de DAF (1,0 μ M) ou DAF mais Ang-(1-7) (1,0 μ M e 15,5 pmol/Kg/min, respectivamente - 0,5 μ L/min durante 5 min.). Em algumas preparações a cavidade abdominal foi aberta, expondo o
gânglio pélvico direito principal, e eletrodos bipolares de prata foram ali posicionados. Um estímulo submáximo foi aplicado por 2 minutos enquanto a solução foi injetada nos sinus cavernosos, como descrito acima. Os animais foram

sacrificados e seu corpo cavernoso retirado e congelado a -80°C.

Seções adjacentes de tecido (20 µm) foram preparadas
5 utilizando-se um criostato. Os tecidos foram montados em
diapositivos revestidos com cromo-alum, secos ao ar e
recobertos com meio de montagem glicerol/Tris. Imagens
fluorescentes foram obtidas utilizando-se microscópio
confocal de varredura laser excitado a 488 nm com laser de
10 íons/Argônio (lentes objetivas de imersão em óleo x63).

Células

Células ovarianas de hamster chinês (CHO) foram
15 estavelmente transfectadas com cDNA *Mas* de rato levadas por
um promotor citomegalovirus e selecionadas por neomicina
como anteriormente descrito (J. B. Pesquero et al., *J Biol*
Chem 269, 26920 (Oct 28, 1994)). As células foram
cultivadas a 37°C em DEMEM/F12 (GIBCO™), suplementadas com
20 soro fetal bovino 10% em atmosfera saturada de água de 95%
O₂ e 5% CO₂.

Western Blotting

25 Células foram repousadas em meio livre de soro 12h antes da
estimulação. As células foram expostas a Ang-(1-7), (10⁻⁷M,
5 a 30 min) na presença ou ausência de seu inibidor, A-779
(10⁻⁶ M, 10 min pré-incubação). Lisatos de células inteiras
foram preparados e o *western blotting* foi conduzido como

descrito (R. M. Touyz *et al.*, *Circ Res* 90, 1205 (Jun 14, 2002)). Resumidamente, as concentrações protéicas dos lisatos celulares foram determinadas, os lisatos sendo submetidos à eletroforese em géis de dodecil-sulfato de sódio - poliacrilamida 7,5% (SDS-PAGE) e transferidos para uma membrana de nitrocelulose. Os blots foram bloqueados com leite desnatado 5% e incubados com anticorpos específicos. A fosforilação de ENOS (S1177) foi medida utilizando-se anticorpo fosfo-específico (S1177, 1:1000, 5 Cell Signaling Technology, Beverly, MA). A expressão de AT₁, AT₂ e receptor Mas foi detectada utilizando-se anticorpos específicos (AT₁, 1:500, Santa Cruz Biotechnology, AT₂ 1:500, Alpha Diagnostics, San Antonio, Tex; Mas, 1:1000). Anticorpo β -actina (1:1000, Santa Cruz 10 Biotechnology) foi utilizado para confirmar a carga equalizada. Proteínas imunorreativas foram detectadas por quimiluminescência e os blots foram analisados densitometricamente (Image-Quant software, Molecular Dynamics).

20

Liberção de NO

Células CHO, cultivadas em pratos de 6 poços foram estimuladas de maneira dose-dependente com Ang-(1-7) (10^{-8} a 25 10^{-6} M). A quantidade de nitrito por 30 min foi medida utilizando-se o método fluorocromo 2,3-diaminonaftaleno (DAN), como anteriormente descrito (D. J. Kleinhenz, X. Fan, J. Rubin, C. M. Hart, *Free Radic Biol Med* 34, 856 (Apr 1, 2003)).

Histologia

Técnica histológica foi aplicada ao corpo cavernoso de camundongos Mas^{+/+} e Mas^{-/-}. Em primeira instância, amostras frescas de tecido foram congeladas a -80°C. Seções de 20 micra foram cortadas das amostras de tecido frescas e submetidas à técnica histológica, especificamente tricromos Gomori. Dados de microscopia foram digitalmente arquivados.

10

Para análise quantitativa de conteúdo de tecido fibroso, a intensidade de tingimento em áreas diferentes do corpo cavernoso de Mas ^{+/+} e Mas ^{-/-} foi medida. Imagens destas áreas foram arquivadas em 12 bits utilizando-se uma escala de cinza de 0 a 255. Estas áreas foram comparadas e analisadas utilizando-se o software *Scion Image* (www.scioncorp.com).

15

Análise estatística

20

Todos os resultados são expressos como média $\pm$ s.e.m. Análise estatística foi conduzida com ANOVA de mão dupla seguida por pós-teste de Bonferroni. Para analisar o efeito intracavernoso de A-779 e a influência de L-NAME no efeito Ang-(1-7), testes t de Student não pareado foram utilizados. A análise estatística de conteúdo de tecido fibroso foi conduzida utilizando-se teste t de Student não pareado seguido pelo teste de Mann Whitney. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

25

Efeito de Ang-(1-7) em mudanças estimuladas por gânglio em CCP/MAP

5 Para examinar o efeito de Ang-(1-7) nas mudanças estimuladas por gânglios em CCP/MAP, o nervo foi estimulado com uma gama de voltagens (0,5, 0,75, 1,0, 1,2, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 V, com pulsos de 5 msec em frequência de 12 Hz), seguido por infusão intracavernosa de Ang-(1-7) (em dose de
10 15,5 pmol/Kg/min, 0,5 µL/min). Subsequentemente, a estimulação gangliônica foi repetida.

Para examinar o efeito de antagonismo Mas no aumento de CCP/MAP induzido por gânglio com Ang-(1-7), depois de
15 medidas iniciais de CCP e MAP, A-779 e Ang-(1-7) foram administrados simultaneamente, e a estimulação gangliônica foi repetida.

De modo a se avaliar a importância de Ang-(1-7) liberado
20 endogenamente, primeiro determinou-se o estímulo mínimo no qual o valor máximo de CCP/MAP foi alcançado. Subsequentemente (10 minutos depois), A-779 (155 pmol/Kg/min) foi infundido nos sinos cavernosos e a estimulação foi repetida.

25

Para se avaliar o efeito de Ang-(1-7) no aumento CCP/MAS estimulado ganglionicamente na presença de inibição de NOS, um estímulo sub-máximo foi determinado e aplicado a MPG. Subsequentemente, L-NAME (200 µg/Kg) foi injetado

intracavernosamente e estimulação gangliônica foi repetida. Depois disso, Ang-(1-7) foi administrado e o estímulo sub-máximo foi aplicado enquanto CCP/MAP era continuamente gravada.

5

EXEMPLO 1

Determinando a imunolocalização de Mas em estruturas penianas humana e de rato

10

Utilizando-se imunofluorescência, primeiramente localizou-se o receptor Mas Ang-(1-7) nas estruturas penianas de rato e humano. Fatias de corpo cavernoso de humano e rato foram incubadas por 24 horas com anticorpo primário policlonal de rato anti-Mas ou solução controle [anticorpo primário (1:500) pré-incubado por 24 horas a 4°C com 50 µg de peptídeo bloqueador correspondendo ao N-terminal da proteína Mas de rato e, subsequentemente, com IgG anti-rato Alexa 594-rotulado de cabra por 2 horas. A Figura 1 mostra que a Mas é localizada na membrana celular de músculo liso de humano e rato, músculo liso esponjoso de rato e células endoteliais arteriolares.

20

Utilizando-se um modelo de rato *in vivo*, o próximo passo foi o de determinar o efeito da infusão intracavernosa de Ang-(1-7) na pressão do corpo cavernoso (CCP) e na pressão arterial média (MAP). Estimulação elétrica do gânglio pélvico principal (MPG) resultou num aumento dependente de voltagem da razão CCP/MAP, consistente com estudos

25

anteriores de mecanismos de ereção peniana (e.g., K. K. Chen, et al., *J Urol* 147, 1124 (Apr, 1992); K. Chitaley, et al., *Int J Impot Res* 13 Suppl 5, S16 (Dec, 2001); e C. M. Reilly, et al. *J Androl* 18, 110 (Mar-Apr, 1997)). Como
 5 ilustrado na Figura 2 a-b, a injeção de Ang-(1-7) produziu aumento pequeno porém significativo na CCP sem alteração da linha base deaMAP (CCP/MAP média $\pm$ SEM $\rightarrow$ Antes: $0,17 \pm 0,014$, n=10; Depois de Ang-(1-7): $0,25 \pm 0,027$; $P < 0,05$, n=10). Surpreendentemente, Ang-(1-7) notadamente
 10 potencializou o aumento da razão CCP/MAP induzida por estimulação gangliônica. Este efeito foi abolido pelo antagonista de receptor Mas A-779 (ver Figura 2c), como anteriormente descrito (ver R. A. Santos et al., *Brain Res Bull* 35, 293 (1994)). Digno de nota, como ilustrado na
 15 Figura 2d-e, a infusão intracavernosa de A-779 atenuou o aumento da CCP/MAP induzido pela estimulação mínima na qual o valor máximo da CCP/MAP foi alcançado, sugerindo que Ang-(1-7) liberado endogenamente contribua para o aumento da CCP/MAP estimulado ganglionicamente.

20

EXEMPLO 2

O efeito potencializador na função erétil produzido por Ang-(1-7) é dependente de NO

25

Para determinar se o efeito potencializador na função erétil produzido por Ang-(1-7) seria dependente de NO, experimentos adicionais na presença de inibidor de NOS, éster metílico de N_w-nitro-L-arginina (L-NAME) foram feitos.

Administração de L-NAME nos sinos cavernosos esquerdos não alterou a linha de base CCP ou MAP. Por outro lado, conforme esperado (ver relatos anteriores em C. M. Reilly et al. (1997), e K. Chitaley et al., *Nat Med* 7, 119 (Jan, 5 2001)), o tratamento com L-NAME atenuou significativamente o aumento em CCP/MAP induzido por estímulo submáximo [media $\pm$ s.e.m. Contr.: $0,57 \pm 0,06$ versus L-NAME: $0,38 \pm 0,05$; $P < 0,05$, $n=6$]. A resposta erétil atenuada induzida pela inibição de NOS não foi compensada pela administração de 10 Ang-(1-7), sugerindo que o NO é um mediador importante de seu efeito potencializador neste modelo experimental. Este resultado é ilustrado na Figura 2f.

EXEMPLO 3

15

Ang-(1-7) Libera NO no Corpo Cavernoso

Para ainda demonstrar que Ang-(1-7) libera NO no corpo cavernoso, o indicador de NO diacetato de 4-amino-5 20 metilamino-2',7'-difluorofluoresceína (DAF-FM) foi utilizado (ver A. Patzak et al., *Kidney Int* 66, 1949 (Nov, 2004)). Tiras de corpo cavernoso de homem, camundongos deficientes em Mas (ver T. Walther et al., *J Biol Chem* 273, 11867 (May 8, 1998)) e animais Mas selvagens (WT) foram 25 carregados com DAF-FM ou DAF-FM combinado com solução de Ang-(1-7). No protocolo *in vivo* para ratos, foram feitas infusões das mesmas soluções nos sinos cavernosos durante 5 min com ou sem estimulação elétrica. Nos corpos cavernosos de humano com (H-ED) e sem (H-WED) disfunção erétil (ver

Figura 3 a-d), rato (ver Figura 4 a-b) e camundongo WT (ver Figura 5 a-b), Ang-(1-7) induziu liberação substancial de NO no corpo cavernoso. Como mostrado na Figura 4 c-d, estimulação elétrica de MPG com estímulo submáximo induziu liberação de NO no corpo cavernoso de rato que foi notadamente potencializada por Ang-(1-7). A liberação de NO induzida por Ang-(1-7) não ocorreu em camundongos *Mas-knockout*, como mostrados na Figura 5 c-d.

10 **EXEMPLO 4**

Acumulo de NO Induzido por Ang-(1-7) é Devida ao Efeito Direto na Produção de NO

15 Para testar se o acumulo de NO induzido por Ang-(1-7) se deve a um efeito direto na produção de NO, foi feita a determinação do efeito do heptapeptídeo na fosforilação endotelial NOS. Para estes experimentos, células CHO transfectadas com Mas (CHO-Mas) foram utilizadas para evitar a interferência de outros receptores. Como mostrado na Figura 6a, estas células não expressam receptores AT₁ ou AT₂. Ang-(1-7) fosforila ENOS na serina 1179, que foi bloqueada por A-779 (ver Figura 6b). Para confirmar a viabilidade de CHO-Mas, estas células foram incubadas com 20 Ang-(1-7), ou A-779, ou Ang-(1-7) mais A-779. Como observado na Figura 6c, Ang-(1-7) aumentou a liberação de NO por CHO-Mas, e este efeito foi bloqueado por A-779.

EXEMPLO 5

Efeitos de Ang-(1-7) em ED

A relevância *in vivo* destas determinações dos exemplos anteriores foi testada em camundongos Mas^{-/-} e ratos hipertensos DOCA-sal. Como mostrado na Figura 7 (a-b), estimulação elétrica dos camundongos Mas^{-/-} MPG induziu uma mudança em CCP que foi significativamente atenuada em comparação com a observada em camundongos Mas^{+/+}.

Considerando que disfunções eréteis nestes animais podem ser subestimadas pela existência de compostos nitroso estocados, uma segunda serie de estimulações foi efetuada depois de 10 minutos da primeira. De fato, a disfunção erétil se torna notadamente evidente com a segunda serie de estimulações (ver Figura 7b). Como mostrado na Figura 8, a deleção genética de Mas leva a um aumento notado no tecido fibroso do corpo cavernoso peniano, o que provavelmente compromete a função erétil destes animais.

De modo a testar se Ang-(1-7) poderia melhorar a ED, seu efeito foi determinado em ratos hipertensivos DOCA-sal (179 ± 4 mmHg vs. 116 ± 2 mmHg; $P < 0,01$) que apresentam severa disfunção erétil e uma atividade do sistema renina-angiotensina suprimida. Ratos hipertensivos Doca-sal mostraram função erétil reduzida em nosso protocolo experimental (2,5 V: 0,55 ± 0,10 vs. 0,30 ± 0,06; 3,0 V: 0,57 ± 0,11 vs. 0,33 ± 0,09, n=8 e 6 para Sham e DOCA, respectivamente). Administração local de Ang-(1-7) aumentou a elevação CCP/MAP induzida eletricamente em ambos os ratos

operados por Sham (ver Figura 9a) e DOCA-sal hipertensivos (ver Figura 9b), normalizando a função erétil de ratos hipertensivos mineralocorticoidianos (ver Figura 9c). Estes dados sugerem que o efeito facilitador de Ang-(1-7) pode
5 ser dissociado de sua atividade antagonista nos efeitos Ang II mediados por AT1.

O Ang-(1-7) age como um mediador de ereção peniana pela ativação de Mas e fosforilação ENOS subsequente levando à
10 liberação de NO. Na ausência de Mas a função erétil foi severamente comprometida, como demonstrado pela fibrose peniana associada ao decréscimo notado de resposta a estímulo elétrico do principal gânglio pélvico. Adicionalmente, a função erétil severamente diminuída dos
15 ratos hipertensivos DOCA-sal foi essencialmente normalizada pela administração de Ang-(1-7).

O aumento na fibrose observado pela sinalização antagonizada de Ang-1-7 (e.g., deleção de seu receptor
20 mostrada neste exemplo ou uso de um antagonista de receptor) sugere que Ang-1-7 pode ser utilizado para reduzir a formação de fibrose em tecidos, em particular tecidos penianos (e.g., corpo cavernoso). Outra modalidade desta invenção é o uso de Ang-1-7 para reduzir a formação
25 de fibrose em tecidos penianos para a prevenção ou tratamento de doenças penianas relacionadas à fibrose, por exemplo, disfunção erétil.

EXEMPLO 6

Preparação de Ang-(1-7) numa matriz de hidroxipropil β -ciclodextrina

5 O peptídeo Ang-(1-7) foi incluído numa matriz de hidroxipropil β -ciclodextrina conforme descrito no pedido de patente U.S. 2005/069533. Resumidamente, a preparação se baseia em quantidades equimolares de Ang-(1-7) e/ou um agonista de receptor Ang-(1-7) e/ou um análogo de Ang-(1-7)
10 e uma ciclodextrina, e.g. hidroxipropil β -ciclodextrina. O componente ciclodextrina é dissolvido em água pelo uso de agitação e aquecimento. Então, uma quantidade apropriada de Ang-(1-7) é adicionada à solução aquosa. Depois de dissolução, a mistura é congelada em nitrogênio líquido e
15 então liofilizada para se obter um complexo de inclusão branco sólido seco. O produto resultante é submetido à caracterização físico-química por espectroscopia no infravermelho com FT, análise térmica (TG/DTG e DSC), difração de raios-X e espectroscopia RMN de ^1H , ^{13}C e tempos
20 de relaxação T1 e a estrutura esperada do complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD foi confirmada.

EXEMPLO 7

25 **Absorção e Ensaio de Estabilidade Biológica do Complexo de Inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD**

Ensaio para a determinação da absorção e da estabilidade biológica do complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD foram

feitos em solução aquosa. Doze ratos Wistar normais preparados apropriadamente foram utilizados para conduzir os experimentos. Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais e submetidos a processo de gavagem com
5 solução salina (0,9%/50 μ l) de Ang-(1-7) (100 μ g/50 μ l) e Ang-(1-7)/HP β -CD (100 μ g/50 μ l). Quatro amostras de sangue (1 ml, cada) dos animais foram coletadas. A primeira coleta ocorreu antes do processo de gavagem e as outras três 2, 6 e 24 horas após a gavagem.

10

Os resultados demonstram uma total absorção de Ang-(1-7)/HP β -CD pelo trato gastrointestinal dos animais, com concentração máxima sanguínea cerca de 6 horas depois da administração (620 $\pm$ 194 pg/ml), e 24 horas depois da
15 gavagem os níveis de concentração sanguínea foram reduzidos ao nível de base (30 $\pm$ 0,8 pg/ml versus 25 $\pm$ 10 pg/ml (antes da gavagem)). Quando o peptídeo Ang-(1-7) foi administrado sozinho a concentração plasmática do mesmo também aumentou, mas este aumento foi cerca de 8 vezes
20 menor do que o valor de Ang-(1-7)/HP β -CD. Em resumo, o complexo de inclusão de Ang-(1-7)/HP β -CD é significativamente melhor absorvido pelo trato gastrointestinal quando comparado ao peptídeo Ang-(1-7).

25 **EXEMPLO 8**

Preparação de uma Forma de Dosagem de Ang-(1-7)/HP β -CD + Atenolol

O complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD (razão equimolar) foi preparado conforme descrito no Exemplo 6. Então o sólido liofilizado foi misturado a Atenolol em quantidade
5 determinada com base na dose diária de 10 mg/kg peso corporal. A mistura do complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD e Atenolol foi obtida com método bastante conhecido na técnica farmacêutica. A mistura resultante foi diluída em
10 veículo apropriado, e.g., aqueles citados na literatura e aqui e a mistura final comprimida como tabletes ou como recheio de cápsulas.

EXEMPLO 9

15 Avaliação do Efeito de [Complexo de Inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD + Atenolol] em ED

Oito semanas após tratamento com complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD e/ou Atenolol, a função erétil dos animais
20 (SHR, ratos espontaneamente hipertensivos) foi avaliada. Particularmente, a função erétil de animais cronicamente tratados com Atenolol foi avaliada após administração concomitante com complexo de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD. As
25 drogas foram administradas oralmente por meio de soluções contendo as mesmas, sozinhas ou em combinação. Um grupo de animais foi tratado com HP β -CD como controle.

O processo para induzir ereção e para medida de pressão intracavernosa foi feito como anteriormente descrito (ver,

T. M. Mills, R. W. Lewis, V. S. Stopper, *Biol Reprod* 59, 1413 (Dec, 1998). Inicialmente os animais (SHR) foram anestesiados com uretano intraperitoneal (140 mg/kg) e colocados em prato térmico para manter a temperatura corporal em 37°C. Uma cânula de polietileno foi introduzida na traquéia animal para manter a potência respiratória. A seguir, a artéria femoral esquerda do animal foi canulada com um tubo de polietileno (PE-50) com solução salina heparinizada (200 U/ml) para monitoramento contínuo da pressão arterial média (MAP). O catéter foi conectado a um transdutor de pressão. A ereção peniana foi obtida pela aplicação de estímulo elétrico ao principal gânglio pélvico (MPG). Para avaliar os efeitos das mudanças ganglionicamente estimuladas em CCP (pressão do corpo cavernoso)/MAP (pressão arterial média), o nervo foi estimulado com uma faixa de voltagens (0,5, 0,75, 1,0, 1,2, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 V, pulsos de 5 msec em frequência de 12 Hz). A seguir, o corpo cavernoso esquerdo do rato foi canulado com agulhas 30-gauge ligadas a um sistema computadorizado de aquisição de dados por tubinhos curtos de polietileno (PE)-10 contendo solução salina heparinizada (200 U/ml). Os resultados são apresentados como razão de CCP/MAP em função das voltagens utilizadas para estímulo de MPG de acordo com a faixa seqüencial proposta.

A Figura 10 mostra claramente que o Atenolol reduz a elevação da pressão intracavernosa que foi induzida pela estimulação no gânglio pelvico principal com voltage máxima

de 1,5V. Animais SHR cronicamente tratados com complex de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD não apresentaram seus parâmetros de pressão intracavernosa alterados. Entretanto, o complex de inclusão Ang-(1-7)/HP β -CD anularam o efeito atenuante
5 induzido pelo Atenolol na função erétil de animais cronicamente tratados com tal β -bloqueador.

A presente invenção não se limita à descrição das modalidades acima, mas pode ser alterada por um técnico no
10 assunto dentro do escopo das reivindicações. Uma modalidade baseada na combinação apropriada dos meios técnicos revelados em modalidades diferentes deve ser abrangida no escopo da presente invenção. Variações podem ser feitas e não devem ser entendidas como saindo do espírito e escopo
15 da invenção, e todas estas modificações seriam óbvias para um técnico no assunto e presumidamente incluídas no escopo das reivindicações a seguir.

As modalidades específicas e exemplos de implementação
20 revelados servem somente para ilustrar os detalhes técnicos da presente invenção, que não deve ser interpretada nos limites de tais modalidades e exemplos efetuados, mas sim aplicada em muitas variações dentro do espírito da presente invenção, contanto que tais variações não excedam o escopo
25 das reivindicações apresentadas a seguir.



REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica em forma de dosagem apropriada, caracterizada pelo fato de compreender: (a) agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou Angiotensina-(1-7) e/ou
5 um análogo de Angiotensina-(1-7) em quantidade efetiva; e (b) um veículo farmaceuticamente aceitável.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou Angiotensina-(1-7) e/ou um análogo de Angiotensina-(1-7) está presente em uma quantidade efetiva para diminuir substancialmente os sintomas de disfunção erétil.
10

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou Angiotensina-(1-7) e/ou um análogo de Angiotensina-(1-7) está presente em uma quantidade efetiva para restaurar substancialmente a capacidade de ereção.
15
20

4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição ainda compreende pelo menos um agente anti-hipertensivo ou um
25 inibidor de PDE.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que pelo menos um agente anti-hipertensivo é selecionado do grupo consistindo de

antagonistas de receptor de Angiotensina II, inibidores de ACE, agentes β -bloqueadores e agentes diuréticos.

6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o antagonista de receptor de Angiotensina II é selecionado do grupo consistindo de losartana, candersartana, irbersartana, valsartana, olmesartana, eprosartana e telmisartana.

10 7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o inibidor de ACE é selecionado do grupo consistindo de captopril, enalapril, fosinopril, delapril, benzepril.

15 8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o agente β -bloqueador é selecionado do grupo consistindo de acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, esmolol, metropolol, propanolol, timolol, pindolol, penbutolol, labetalol, carvedilol.

20

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o agente β -bloqueador é atenolol.

25 10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o agente diurético é selecionado do grupo consistindo de clorotiazida, clortalidona, furosemida, hidroclorotiazida, manitol, metolazona, amilorida e mistura de hidroclorotiazida,

triamtereno e mistura de hidroclorotiazida e diuréticos baseados em potássio tais como amilorida, spironolactona e triamtereno.

- 5 11. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agonista de receptor ou análogo de Angiotensina-(1-7) é selecionado do grupo consistindo de agonista de Angiotensina-(1-7) peptídico e não-peptídico.

10

12. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agonista peptídico ou análogo de Angiotensina-(1-7) é selecionado do grupo consistindo de D-Ala⁷-Ang-(1-7), D-Pro⁷-Ang-(1-7) e
15 AVE 0991.

13. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o análogo de Angiotensina-(1-7) é um agonista de receptor MAS.

20

14. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o veículo farmacêuticamente aceitável é selecionado do grupo consistindo de diluentes, aglutinantes, desintegrantes,
25 lubrificantes, agentes corantes e agentes flavorizantes.

15. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a forma de dosagem apropriada é selecionada do grupo consistindo de cápsulas,

tabletes, tabletes efervescentes, tabletes mastigáveis, pílulas, pós, grânulos, géis, suspensões, emulsões, formulações injetáveis ou um tipo de forma de dosagem de liberação controlada/retardada/modulada.

5

16. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato da forma de dosagem de liberação controlada/retardada/modulada ser uma combinação dos ingredientes ativos com um material de veículo ou matriz selecionado do grupo consistindo de polímeros biocompatíveis, matrizes poliméricas farmacêuticamente aceitáveis, lipossomas, lipossomas-PEG e ciclodextrina ou derivados de ciclodextrina.

10

17. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato que a ciclodextrina é selecionada do grupo consistindo de ciclodextrina alquilada, ciclodextrina hidroxialquilada e ciclodextrina acilada.

15

18. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato que a ciclodextrina hidroxialquilada é hidroxipropil β -ciclodextrina.

20

19. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de compreender: (a) um complexo de inclusão de Angiotensina-(1-7) em quantidade efetiva e (b) um veículo farmacêuticamente aceitável.

25

20. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato que o complexo de inclusão de Angiotensina-(1-7) é feito de uma ciclodextrina ou derivado de ciclodextrina e uma Angiotensina-(1-7) e/ou um agonista
5 de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou análogo de Angiotensina-(1-7).

21. Método para tratar disfunção erétil num indivíduo com necessidade deste tratamento, caracterizado pelo fato de
10 compreender a administração ao referido indivíduo de uma quantidade efetiva de uma Angiotensina-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou análogo de Angiotensina-(1-7), sozinha ou em combinação com outros ingredientes ativos, para diminuir os sintomas de disfunção
15 erétil.

22. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que a quantidade de Angiotensina-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou análogo de
20 Angiotensina-(1-7) é efetiva para manter uma pressão sanguínea sistêmica em níveis maiores do que os que podem causar disfunção sexual.

23. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado
25 pelo fato de que a Angiotensina-(1-7) é um complexo de inclusão de hidroxipropil β -ciclodextrina-Ang-(1-7).

24. Método para restaurar a capacidade de ereção em um indivíduo com necessidade de tal tratamento caracterizado



pelo fato de compreender a administração ao referido indivíduo de uma quantidade efetiva de uma Angiotensina-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou análogo de Angiotensina-(1-7),
5 sozinha ou em combinação com outros ingredientes ativos, para restaurar a capacidade erétil.

25. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que a quantidade efetiva de uma
10 Angiotensina-(1-7) e/ou um agonista de receptor de Angiotensina-(1-7) e/ou análogo de Angiotensina-(1-7) é efetiva para reverter a disfunção erétil causada por tratamento de longa duração para hipertensão com agentes anti-hipertensivos.

15

26. Método de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o agente anti-hipertensivo é um composto β -bloqueador.

20 27. Método de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que o composto β -bloqueador é atenolol.

28. Método de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que a Angiotensina-(1-7) é um complexo de
25 inclusão de hidroxipropil β -ciclodextrina-Ang-(1-7) combinado com um composto β -bloqueador.

29. Método de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o composto β -bloqueador é atenolol.

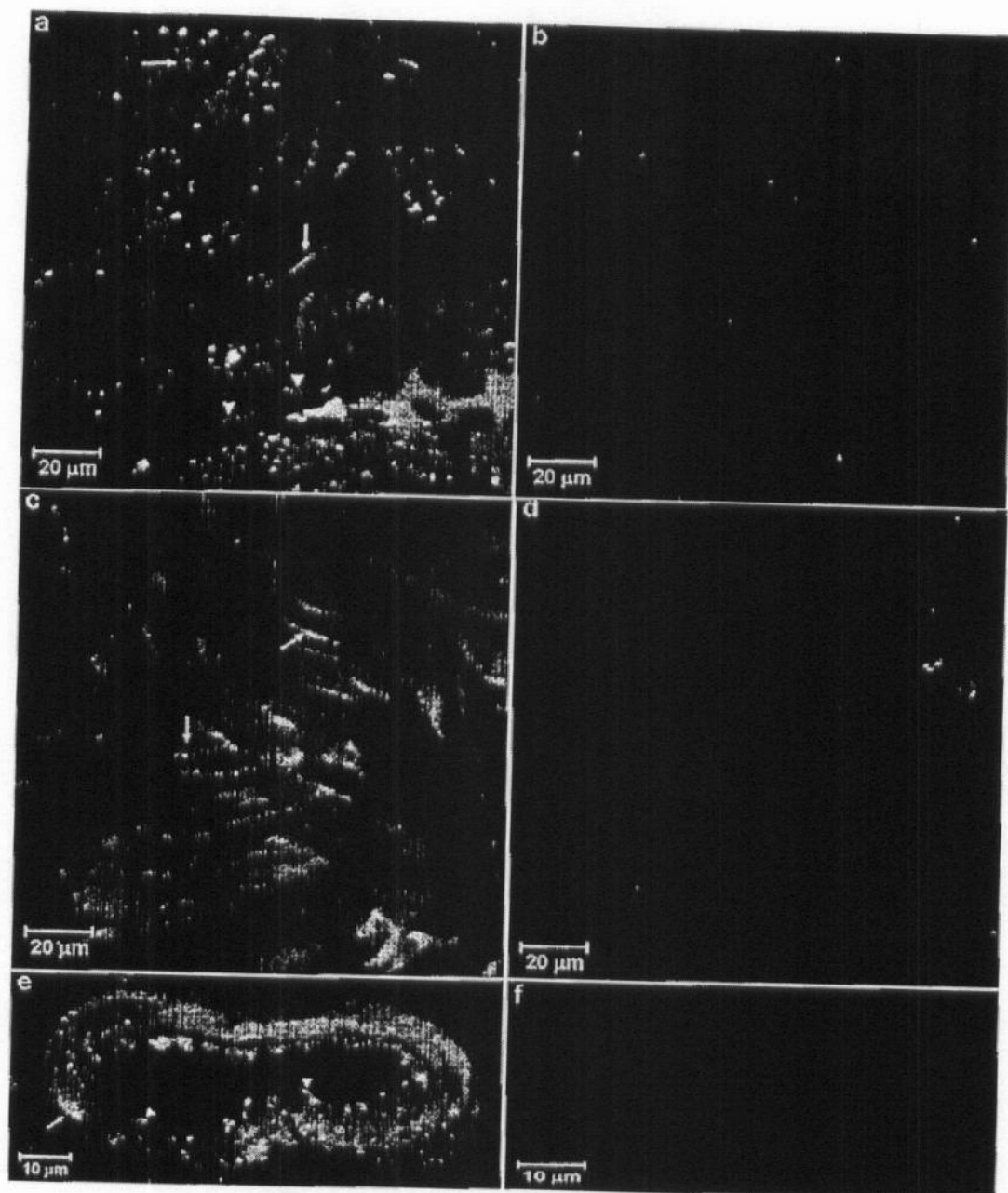


Figura 1

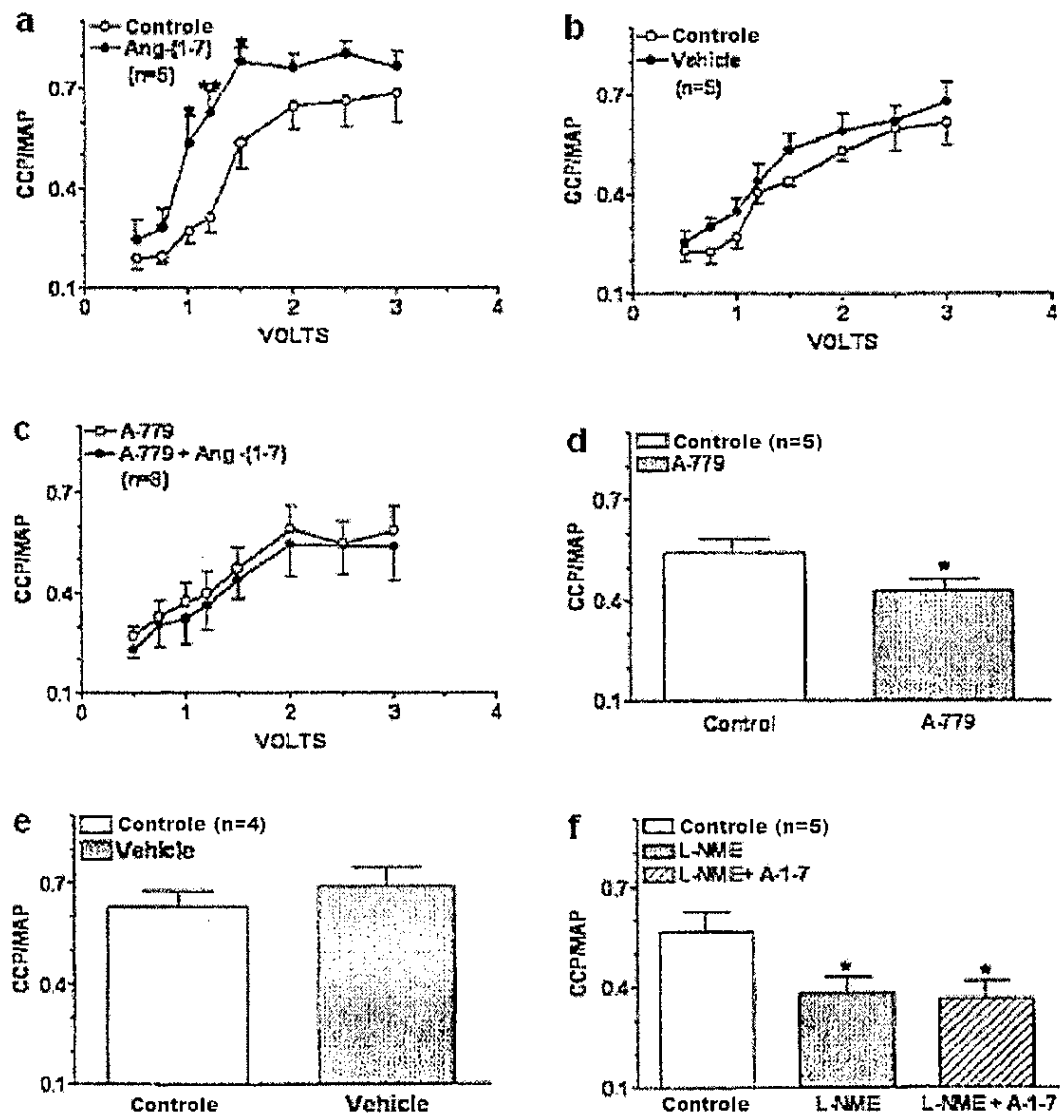


Figura 2

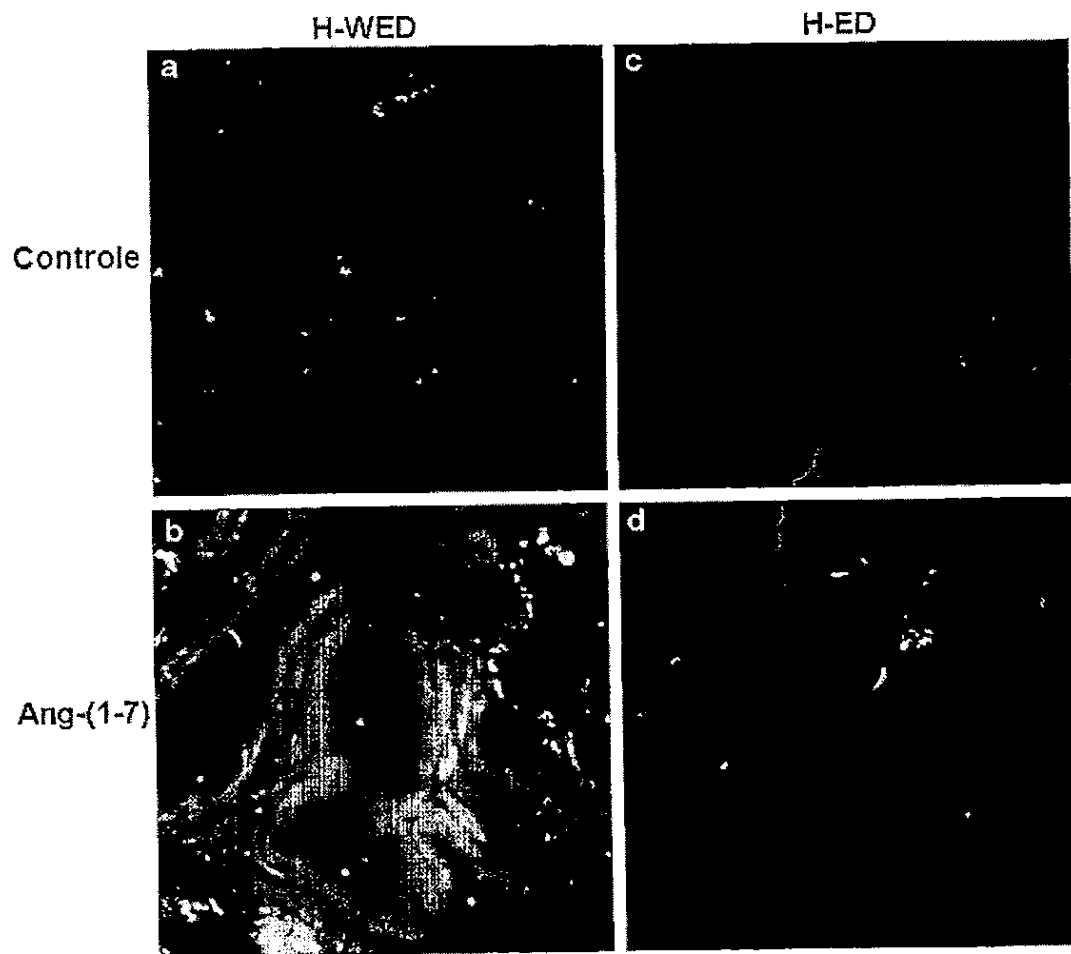


Figura 3

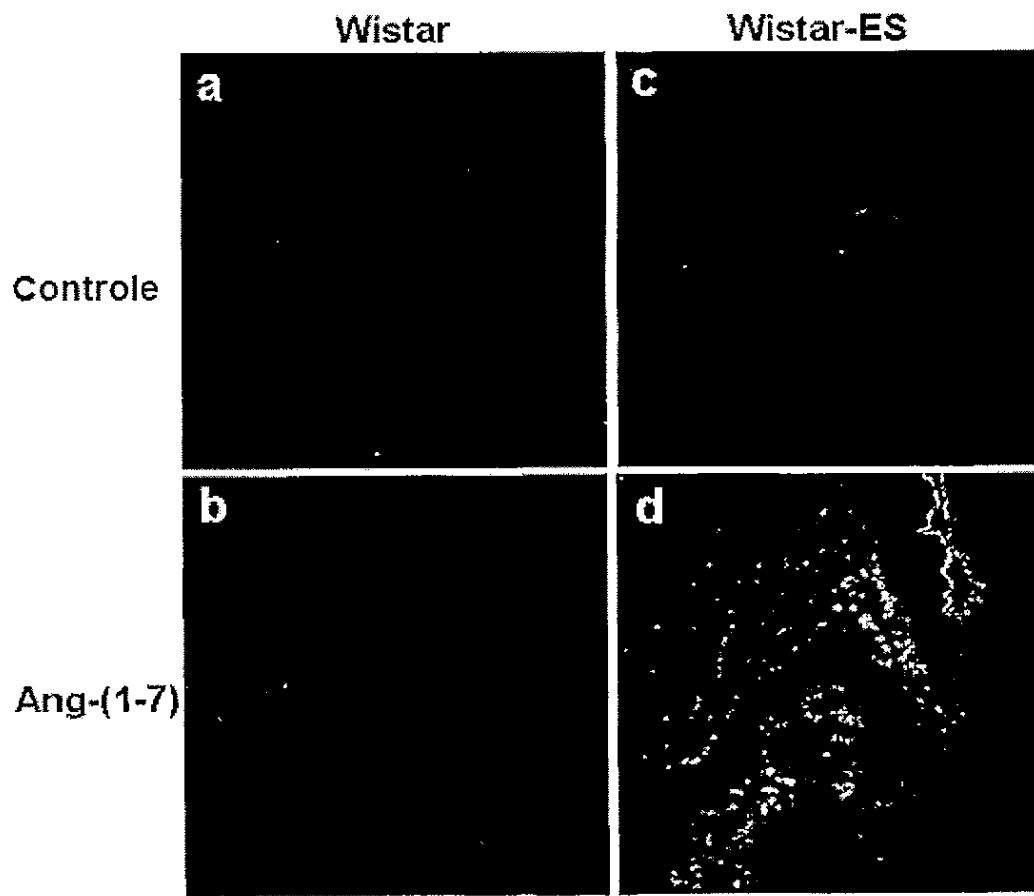


Figura 4

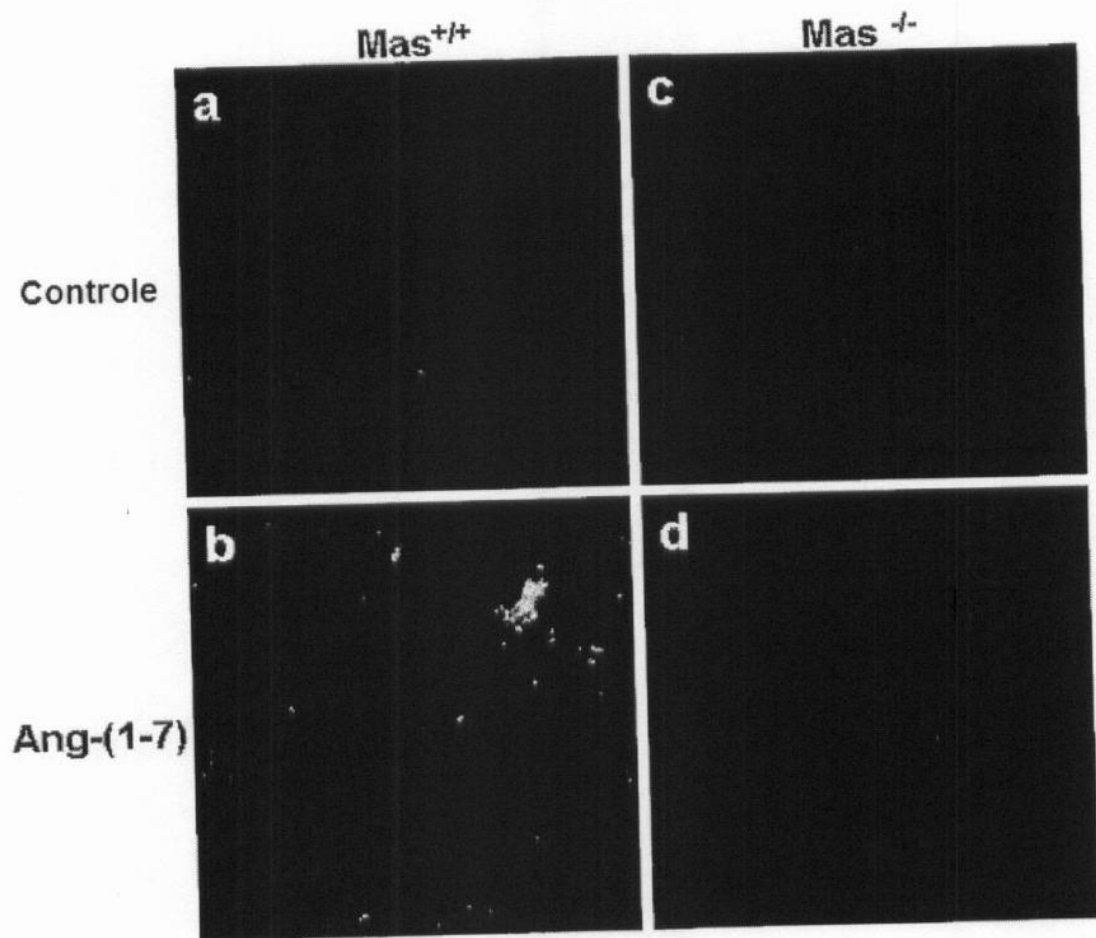


Figura 5

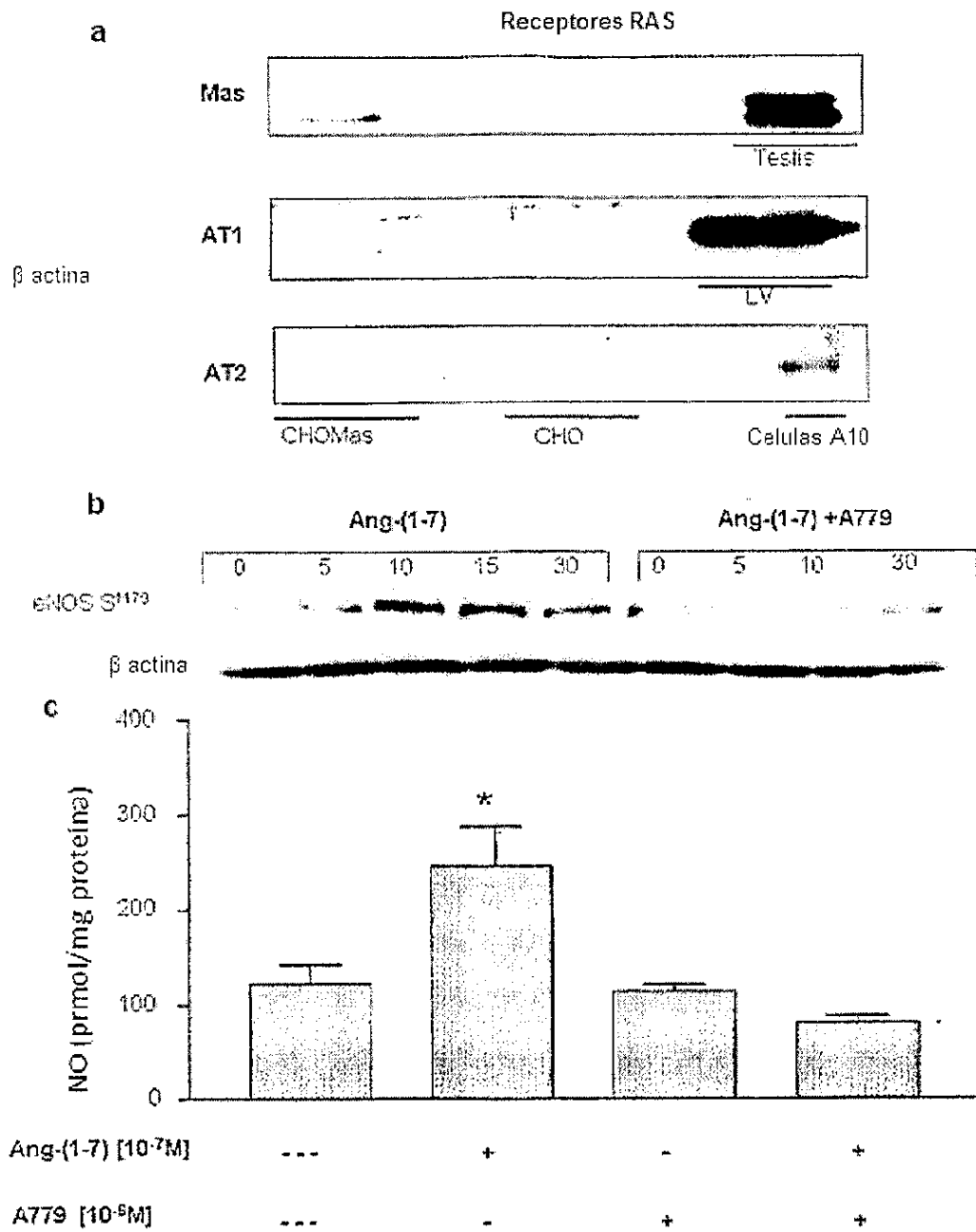


Figura 6

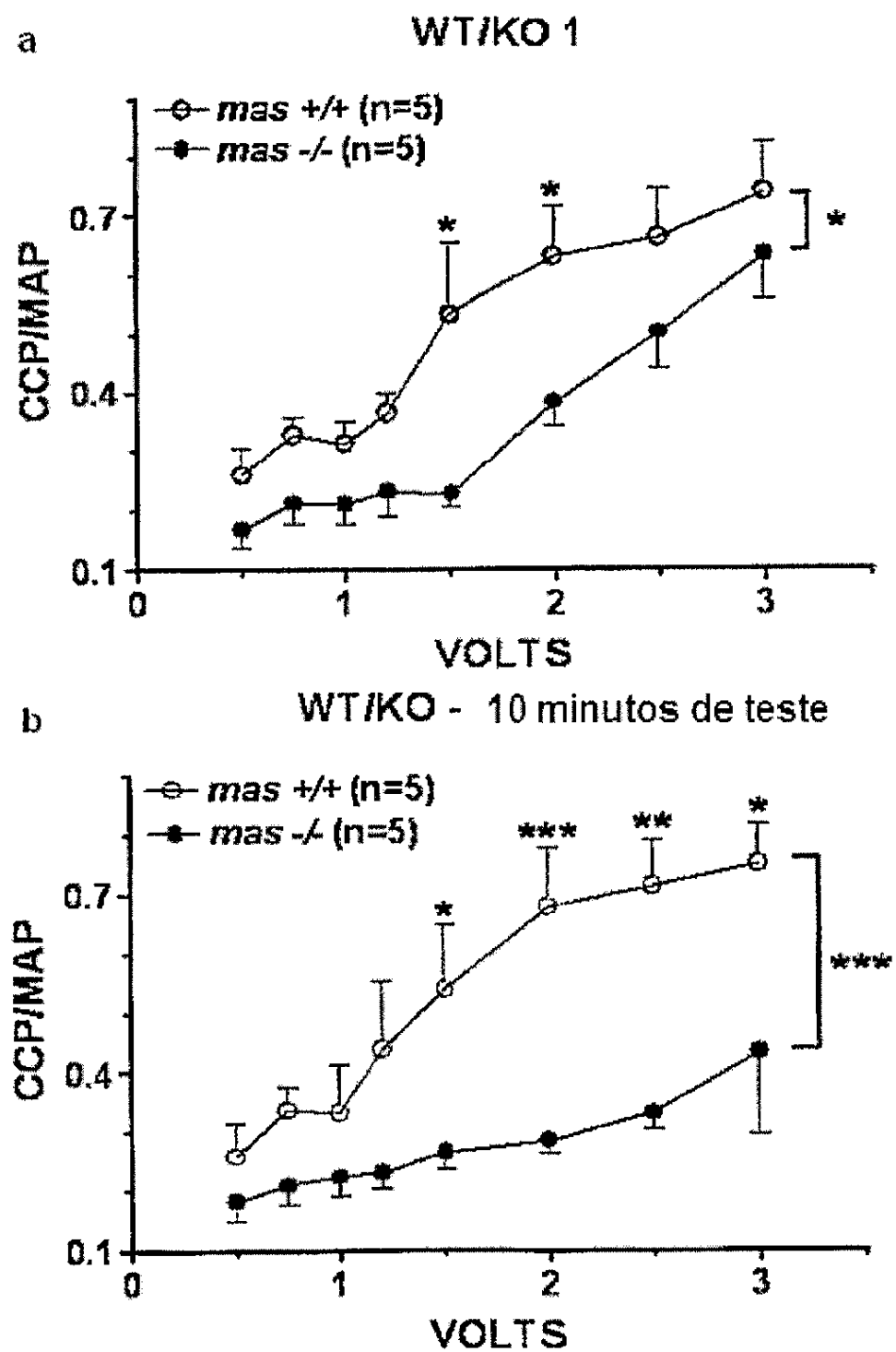


Figura 7

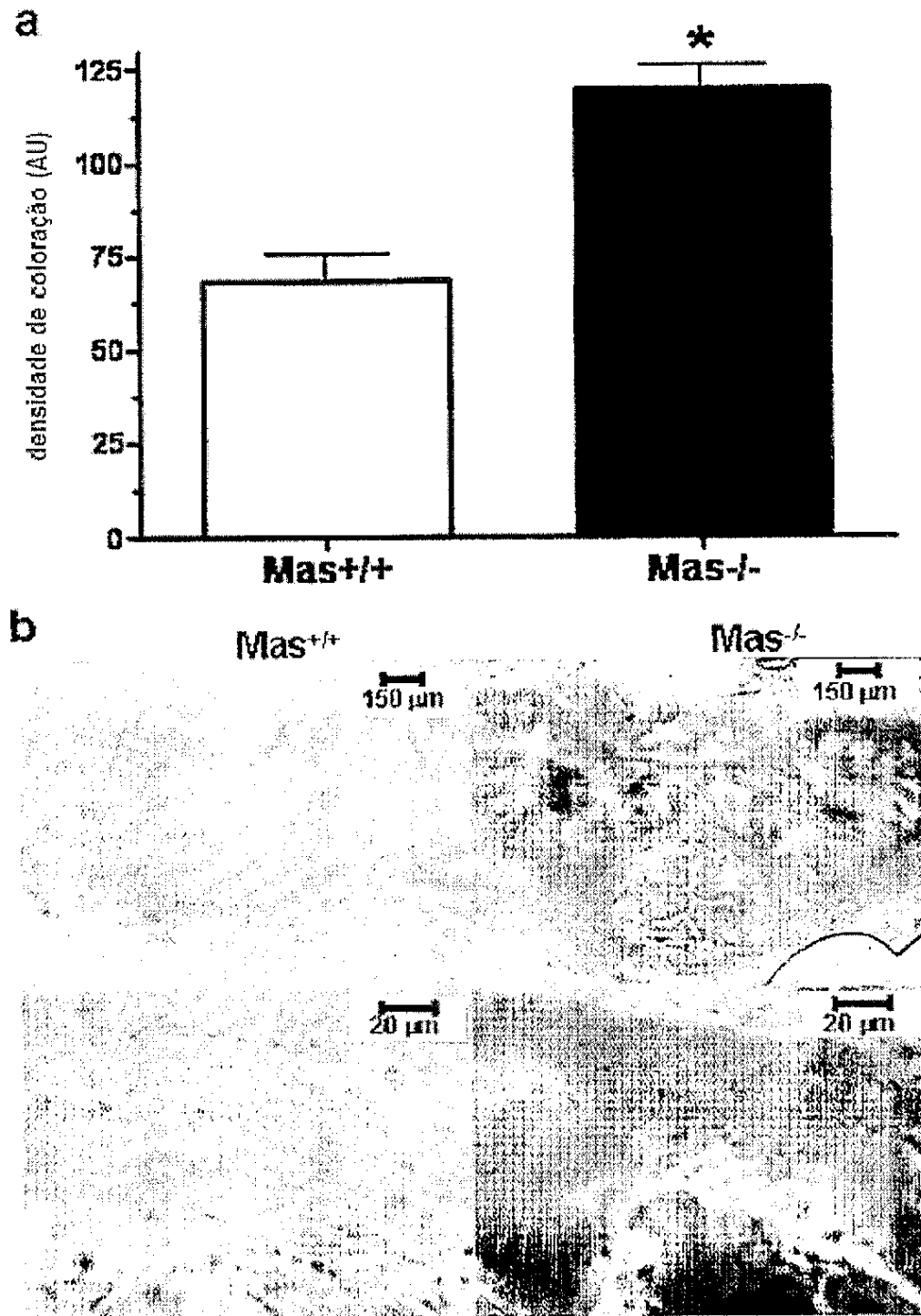


Figura 8

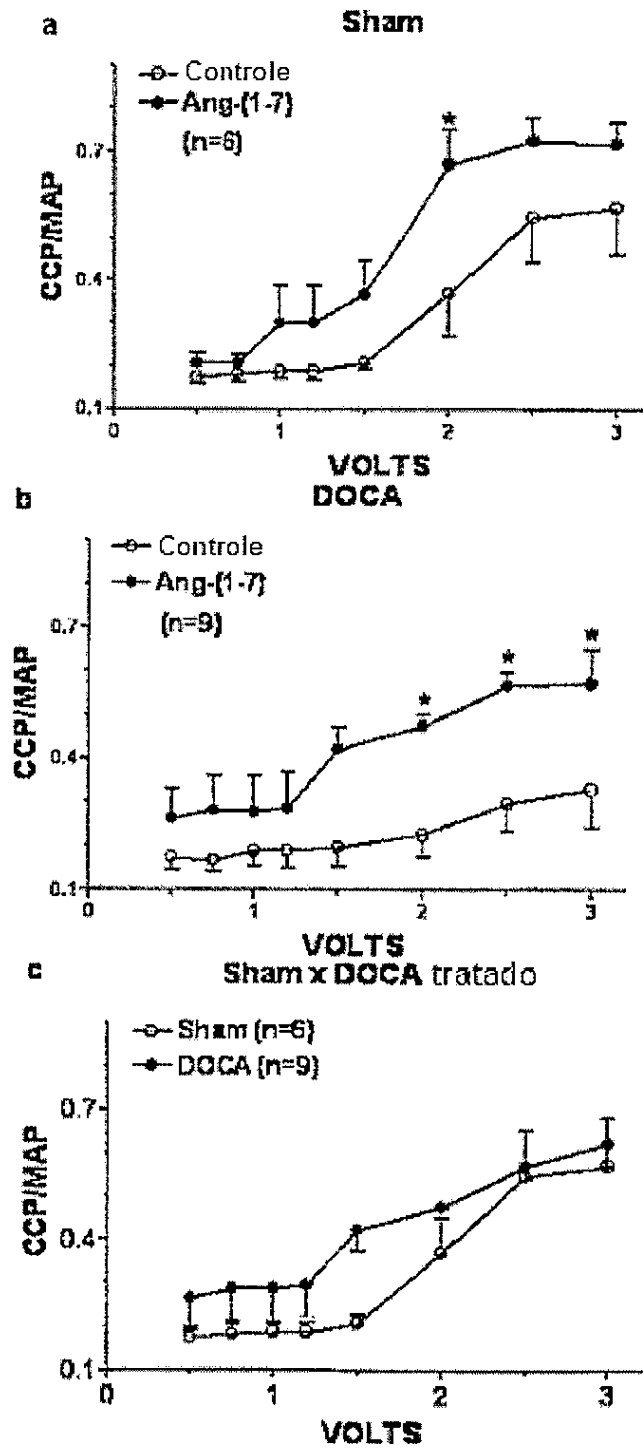


Figura 9

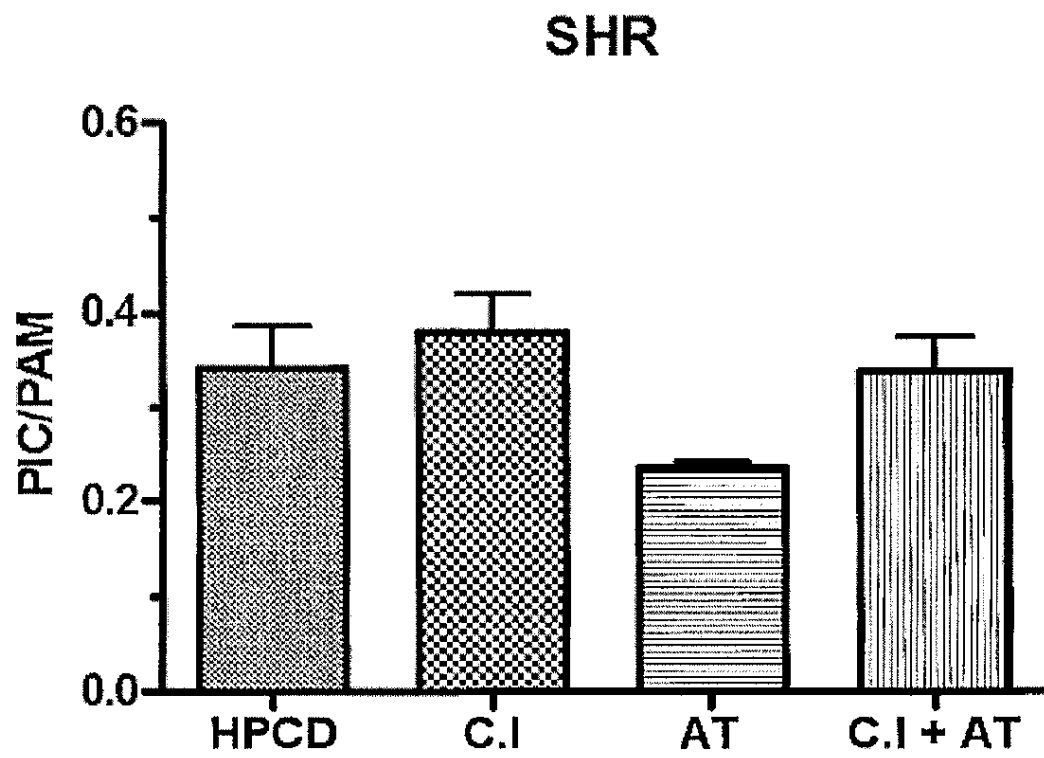
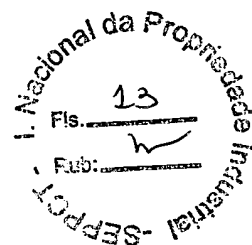


Figura 10



RESUMO

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS, MÉTODO PARA TRATAR A DISFUNÇÃO ERÉTIL E MÉTODO PARA RESTAURAR A CAPACIDADE DE EREÇÃO

5 A presente invenção refere-se ao uso de agonistas de receptor Ang-(1-7) e/ou Ang-(1-7) e/ou análogos de Ang (1-7) no tratamento/restauração de disfunção erétil.