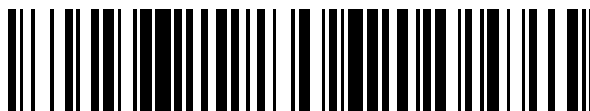


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 761 562**

51 Int. Cl.:

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 31/401 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2014 PCT/EP2014/077452**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15086774**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2014 E 14844969 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 3079684**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema renina-angiotensina**

30 Prioridad:

11.12.2013 EP 13196740
09.01.2014 EP 14150608

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.05.2020

73 Titular/es:

ALTERRAS THERAPEUTICS GMBH (100.0%)
MQM 3.2, Maria-Jacobi-Gasse 1
1030 Wien, AT

72 Inventor/es:

POGLITSCH, MARKO;
SCHWAGER, CORNELIA y
LOIBNER, HANS

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 761 562 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

Composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema renina-angiotensina

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, kits y procedimientos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema renina-angiotensina (RAS), tal como, por ejemplo, la hipertensión. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención comprenden al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa.

10 Antecedentes de la invención

La hipertensión es un aumento patológico de la presión arterial que se espera que afecte a alrededor del 50% de la población humana hasta 2025 (Ref.: WHO, A Global Brief on Hypertension, World Health Day 2013). Es sabido que la presión arterial elevada (superior a 135 mmHg sistólica) es la principal causa de enfermedades cardiovasculares, que incluyen accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca, enfermedad renal crónica, aterosclerosis y muchas otras. Se han desarrollado múltiples fármacos que interfieren con diferentes sistemas reguladores biológicos para tratar la hipertensión, entre los que los inhibidores de la ACE asumen un papel preponderante. Los inhibidores de la ACE (ACEI) se usan actualmente en el tratamiento de la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, los diferentes tipos de nefropatías y la diabetes tipo II.

20 Su potencia para reducir la presión arterial se basa en su mecanismo de bloqueo de la formación de angiotensina II (Ang II, Ang 1-8, Ang- (1-8)), que es una hormona peptídica del sistema renina-angiotensina (RAS), un importante sistema regulador de la presión arterial y del equilibrio hídrico.

25 El RAS, como un sistema hormonal peptídico que es una diana terapéutica crucial en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, regula múltiples funciones fisiológicas, que incluyen la homeostasis hídrica y el equilibrio de las sales. Las moléculas efectoras del RAS, los péptidos de angiotensina, ejercen sus efectos fisiológicos a través de moléculas receptoras específicas expresadas en una variedad de tipos de células y tejidos. Además, también se informa que el RAS asume funciones reguladoras importantes en el sistema inmune y en la proliferación celular, lo que convierte el sistema en una diana prometedor para interferencias terapéuticas para el tratamiento de las afecciones patológicas mencionadas anteriormente, con un enorme potencial en el campo de la regulación inmune y enfermedades neoplásicas.

30 Los péptidos de angiotensina y sus metabolitos se producen a través de la acción concertada de diferentes enzimas procesadoras de angiotensina que son proteasas, que escinden uno o más aminoácidos del extremo C-terminal de las moléculas precursoras (mono, di, tricarboxipeptidasas), del extremo N-terminal (mono, di, triaminopeptidasas) o que escinden el péptido en una posición interna de la molécula (endopeptidasas). Las enzimas sobre las que se ha informado que están involucradas en el metabolismo de la angiotensina incluyen la renina, la enzima convertidora de angiotensina (ACE), la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), la endopeptidasa neutra (NEP), la aminopeptidasa A (APA), la aminopeptidasa N (APN), la carboxipeptidasa A (CPA), thimet oligopeptidasa (THOP) o quimasa. Otras características moleculares que añaden complejidad a este importante sistema regulador incluyen una especificidad de sustrato superpuesta de las enzimas de procesamiento de angiotensina involucradas (por ejemplo: ACE2 tiene como sustrato tanto a Angiotensina I como Angiotensina II), así como la presencia de enzimas que llevan a cabo reacciones similares (por ejemplo, ACE y quimasa convierten Ang I en Ang II). El papel importante de los productos y sustratos de las reacciones enzimáticas mediadas por algunas de estas enzimas los favorece como dianas para fármacos destinados a interferir con las funciones fisiológicas mediadas por la angiotensina.

45 Se ha demostrado que las aminopeptidasas están involucradas en el metabolismo y la regulación de las hormonas peptídicas, que incluyen las angiotensinas, bradiquininas, vasopresinas, endotelinas, apelinas, dinorfinas y muchos otros péptidos y neuropéptidos vasoactivos.

Se ha descrito además que las aminopeptidasas afectan el crecimiento celular y la división celular, lo que lleva a aplicaciones terapéuticas en el campo de las enfermedades neoplásicas como tumores sólidos o leucemia. El inhibidor de aminopeptidasa más prominente en uso clínico es Bestatina (nombre comercial: Ubenimex), que se usa en el tratamiento de los tumores sólidos (Ota *et al.*, *Biotherapy* 1992). Más recientemente, se ha demostrado que la inhibición de la aminopeptidasa A (APA) puede ser una estrategia para tratar la hipertensión, que se basa en el mecanismo de prevención de la formación de Angiotensina III en el cerebro, que se presume es una causa de la hipertensión central (Wright *et al.*, *International Journal of Hypertension* 2012).

Yang *et al.* (*J Biol Chem* 2013, 288 (35): 25638-25645) se refieren a las estructuras cristalinas de la aminopeptidasa A humana (APA).

55 Fournie-Zaluski *et al.* (*PNAS USA* 2004, 101(20): 7775-7780) describen el sistema de renina-angiotensina cerebral y los inhibidores selectivos de APA EC33 y RB150.

Masaaki *et al.* (Tokai J Exp Clin Med 2013, 38(2): 62-70) describen efectos antinociceptivos de la [Leu⁵] encefalina.

Marc *et al.* (Archives of Cardiovascular Disease 2009, 102: S114) describen inhibidores selectivos de APA EC33 y RB150.

Eiji Yahiro *et al.* (Current Pharmaceutical Design, 2013, 19: 3065-3071) describen inhibidores de la quimasa.

5 Eiji Yahiro *et al.* (J Cardial Failure, 2005, 11(9): S271) se refieren a los efectos de los inhibidores de la quimasa en un modelo de insuficiencia cardíaca de hámster.

Takai *et al.* (Eur J Pharmacology, 2004: 1-8) se refieren a los inhibidores de la quimasa en enfermedades cardiovasculares y fibrosis.

10 Chaikwad *et al.* (BMC Structural Biology 2012, 12(1): 14) proporcionan una estructura de aspartil aminopeptidasa humana complejada con un análogo de sustrato.

Leckie *et al.* (Curr Med Chem, 2005, 3(1): 23-32) revisan la focalización en RAS.

Kitamura *et al.* (Am J of Physiology, 1999, 276(5): H1664-H1671) se refieren a la inhibición de aminopeptidasa P.

15 Un desafío relevante para la estrategia de prevenir la formación de Angiotensina III en el cerebro mediante el bloqueo de APA está representado por un suministro de fármacos eficaz, seguro y no invasivo. El bloqueo de APA en el cerebro conduce a cambios farmacológicos favorecidos en el RAS central ya que se bloquea la formación del péptido prohipertensivo Angiotensina III a partir de Angiotensina II. A diferencia del cerebro, en el que se informa que la angiotensina III causa hipertensión, la angiotensina II toma el control de la actividad prohipertensiva en la periferia (tejidos y plasma). Por lo tanto, en caso de que APA también sea responsable de la formación de Ang 2-8 a partir de Ang 1-8 en la periferia, un bloqueo completo de APA en la periferia puede conducir a efectos secundarios no
20 deseados causados por la acumulación periférica excesiva de Ang 1-8. Muchos de los datos generados para respaldar la eficacia del bloqueador APA recientemente desarrollado para tratar la hipertensión se han obtenido después de la inyección intracerebroventricular (i.c.v.), que es muy poco probable que se implemente como un tratamiento antihipertensivo estándar en humanos. Aunque para superar este problema se ha desarrollado un profármaco inactivo (RB150) para el inhibidor de APA, no se puede excluir la presencia del metabolito activo (EC-33)
25 en la periferia, ya que es sabido que RB150 es un dímero dependiente de la oxidación de EC-33 y en el plasma y el tejido humano están presentes muchos sistemas reductores (por ejemplo, el sistema de glutatión) que pueden ser capaces de reducir el dímero inactivo oxidado RB150 al metabolito activo EC-33.

30 Por lo tanto, existe la necesidad de un tratamiento seguro y eficaz de la hipertensión para evitar complicaciones cardiovasculares. La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas y procedimientos para disminuir eficazmente la presión sanguínea y para tratar enfermedades relacionadas con el RAS.

Breve descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende

- a. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o
- 35 b. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa, o
- c. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y al menos un inhibidor de la quimasa para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con el sistema renina-angiotensina (RAS) seleccionada de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular.

40 En una realización, la composición farmacéutica para el uso comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y al menos un inhibidor de la quimasa.

Además, se divulga una composición farmacéutica que posee actividad inhibidora contra

- a. aspartil aminopeptidasa y la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o
- 45 b. contra aspartil aminopeptidasa y quimasa.

En otro aspecto, la invención se refiere a un kit de partes que comprende

- a. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o

b. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa, o

5 c. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular enfermedad.

Además, se divulga un procedimiento para disminuir la presión sanguínea en un individuo mediante la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. También se divulga un procedimiento para tratar una enfermedad relacionada con el RAS en un individuo mediante la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Breve descripción de las figuras

15 **Figura 1:** El efecto de disminución de la presión arterial para Lisinopril (L), Amastatina (A) y la combinación de Amastatina y Lisinopril (A + L) en ratas SHR se muestra en diferencia de mmHg en comparación con los animales tratados con vehículo (V). Se trataron 5 animales por grupo y las medias de los valores se expresaron +/- SEM. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba T de Student.

20 **Figura 2:** Efectos farmacológicos de la combinación de Amastatina y Lisinopril o Captopril sobre los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en sangre humana total *ex vivo*. Las muestras se pretrataron con inhibidores como se indica y las concentraciones de Angiotensina se midieron por LC-MS/MS. Los valores se expresan en pg/ml de los péptidos indicados.

25 **Figura 3:** Sensibilidad *in vitro* y *ex vivo* de la aminopeptidasa A humana (APA) para Amastatina. La formación de Ang 2-8 a partir de Ang 1-8 se investigó en un sistema *in vitro* descrito adicionalmente en el Ejemplo 2 (panel izquierdo). La actividad APA está representada por la velocidad de formación de Ang 2-8 expresada en pg de Ang 2-8/ml por minuto. Para el análisis *ex vivo* de la sensibilidad de APA humana para la inhibición por Amastatina, las muestras de plasma se pretrataron como se indica seguido por la cuantificación de los niveles de Ang 1-8 resultantes por LC-MS/MS (panel derecho).

30 **Figura 4:** Efectos farmacológicos de la administración combinada de Amastatina y Lisinopril o Captopril en los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en ratones Balb/C. Los niveles de Ang 1-8 (panel izquierdo) y Ang 1-7 (panel derecho) en ratones Balb/c se midieron por LC-MS/MS después de 4 h de tratamiento con los fármacos indicados. Las concentraciones de los péptidos se expresan en plasma pg/ml. Las señales LCMS/MS con una relación señal/ruido inferior a 10 se consideraron por debajo del límite inferior de cuantificación y se marcan como "<" en el gráfico.

35 **Figura 5:** Efectos farmacológicos de la administración intravenosa secuencial de Lisinopril y Amastatina a una rata SHR. Los niveles de equilibrio de Ang 1-8 (panel izquierdo) y Ang 1-7 (panel derecho) en la rata SHR se midieron por LC-MS/MS. Las concentraciones de los péptidos se expresan en plasma pg/ml. Las señales LC-MS/MS con una relación señal/ruido inferior a 10 se consideraron por debajo del límite inferior de cuantificación y se marcan como "<" en el gráfico.

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende

40 a. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o

b. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa, o

c. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y al menos un inhibidor de la quimasa

45 para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con el sistema renina-angiotensina (RAS) seleccionada de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular.

En una realización, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE). En una realización, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y al menos un inhibidor de la quimasa.

Se divulga una composición farmacéutica que posee actividad inhibidora contra

a. aspartil aminopeptidasa y enzima convertidora de angiotensina (ACE), o

b. contra aspartil aminopeptidasa y quimasa.

En un aspecto, la invención se refiere a un kit de partes que comprende

a. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o

5 b. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa, o

c. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa

10 para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular.

En una realización, la composición farmacéutica posee actividad inhibidora contra la aspartil aminopeptidasa y la enzima convertidora de angiotensina (ACE). En una realización, la composición farmacéutica posee actividad inhibidora contra la aspartil aminopeptidasa y la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y la quimasa.

15 Cada vez que se hace referencia a una actividad en la presente memoria, por ejemplo a una actividad enzimática o una actividad inhibidora o similar, es evidente para una persona experta que dicha actividad se ejerce (o no) particularmente bajo condiciones fisiológicas, por ejemplo bajo condiciones similares a las condiciones en el organismo humano o animal, tal como, por ejemplo, un pH y/o temperatura fisiológicamente aceptables, concentraciones fisiológicas de las enzimas y/o sustratos, y/o con tampones y/o excipientes fisiológicamente aceptables, etc. Lo mismo se aplica a las afinidades mencionadas en la presente memoria, por ejemplo, la afinidad de una enzima a uno o más sustratos, etc.

20 Las aminopeptidasas son enzimas que escinden los aminoácidos del extremo N-terminal de proteínas y/o péptidos. Las aminopeptidasas pueden escindir uno, dos, tres o más residuos de aminoácidos del extremo N-terminal de una proteína y/o péptido (mono, di, tri u oligoaminopeptidasas, respectivamente). Las aminopeptidasas se clasifican adicionalmente a través de sus sustratos preferidos. Por ejemplo, las glutamil aminopeptidasas tienen preferencia por escindir sustratos con ácido glutámico en su extremo N-terminal, mientras que las metionina aminopeptidasas tienen preferencia por sustratos con el aminoácido metionina en el extremo N-terminal.

30 Por consiguiente, el término "aspartil aminopeptidasa" como se usa en la presente memoria se refiere a una aminopeptidasa que es capaz de escindir al menos el ácido aspártico del extremo N-terminal (D, Asp) de un péptido o proteína. Sin embargo, la aspartil aminopeptidasa también puede escindir uno o más aminoácidos adicionales después de la Asp del extremo N-terminal. Por ejemplo, una di-amino peptidasa que escinde los dos aminoácidos de extremo N-terminal de Ang 1-8 (Secuencia: DRVYIHPF, ID de SEC Núm.: 1) también es una aspartil aminopeptidasa de acuerdo con la definición anterior. En una realización, la aspartil aminopeptidasa puede escindir uno o más aminoácidos de extremo N-terminal de Ang 1-5, Ang 1-6, Ang 1-7, Ang 1-8, Ang 1-9 y/o Ang 1-10, es decir, que tiene a Ang 1-5, Ang 1-6, Ang 1-7, Ang 1-8, Ang 1-9 y/o Ang 1-10 como sustratos. En una realización, la aspartil aminopeptidasa puede escindir uno o más aminoácidos de extremo N-terminal de Ang 1-7 (también denominado Ang-(1-7)) y/o Ang 1-8 y/o Ang 1-10 (también denominado Ang I). En una realización, la aspartil aminopeptidasa tiene una cierta afinidad por uno o más sustratos que tienen un Asp en su extremo N-terminal. En una realización, dicha afinidad por uno o más sustratos que tienen un Asp en su extremo N-terminal es mayor que su afinidad por sustratos que no tienen Asp en su extremo N-terminal (por ejemplo, un aminoácido diferente a Asp) bajo las mismas condiciones o condiciones similares (por ejemplo, condiciones fisiológicas iguales o similares). En una realización alternativa, dicha afinidad por uno o más sustratos peptídicos que tienen un Asp en su extremo N-terminal es mayor que su afinidad por sustratos peptídicos que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica o similar, excepto por el Asp del extremo N-terminal, es decir, que no tiene Asp en su extremo N-terminal (por ejemplo, que tiene un aminoácido diferente a Asp en su extremo N-terminal) bajo las mismas condiciones o similares. Por consiguiente, en dicha realización, la aspartil aminopeptidasa es selectiva para uno o más sustratos con un Asp del extremo N-terminal, es decir, uno o más sustratos con un Asp del extremo N-terminal son los sustratos preferidos para la aspartil aminopeptidasa de acuerdo con la invención. En una realización, la aspartil aminopeptidasa es DNPEP (también denominada DAP o ASPEP, EC 3.4.11.21). Para una referencia adicional a la aspartil aminopeptidasa, especialmente a la aspartil aminopeptidasa humana, y también a otras aminopeptidasas, véase por ejemplo Chaikwad *et al.* 2012, BMC Structural Biology.

45 En una realización, la aspartil aminopeptidasa no es APA. En una realización, la aspartil aminopeptidasa no es APN. En una realización, la aspartil aminopeptidasa no es APA ni APN.

55 Sin embargo, las enzimas individuales pueden tener más de una actividad de peptidasa que conduce a amplias especificidades de sustrato entre las aminopeptidasas. Por ejemplo, la aminopeptidasa A (APA, EC 3.4.11.7) es una monoaminopeptidasa codificada por el gen ENPEP y se informa que tiene actividad de glutamil y aspartil aminopeptidasa, lo que significa que puede escindir los residuos de ácido glutámico o ácido aspártico del extremo N-

terminal de polipéptidos. En una realización, la aspartil aminopeptidasa tiene actividad de aspartil aminopeptidasa y una o más de otras actividades de aminopeptidasa. La actividad de la aspartil aminopeptidasa de APA también se investigó en nuestros estudios sobre la formación de Ang 2-8 por APA (Figura 3), ya que el extremo N-terminal de Ang 1-8, el sustrato para la formación de Ang 2-8 mediada por APA, es ácido aspártico (Ang 1-8 secuencia: DRVYIHPF, ID de SEC. Núm.: 1). Curiosamente, a pesar de una actividad inhibidora reportada para Amastatina contra APA, Amastatina no bloqueó la actividad de aspartil aminopeptidasa convertidora de Ang 1-8 de APA (Figura 3) a concentraciones de Amastatina que demostraron que cambian sustancialmente el metabolismo de angiotensina en plasma humano en ausencia y presencia de Lisinopril (Figura 2). Por lo tanto, se concluye con que Amastatina bloquea la degradación de Ang 1-8 a través de un mecanismo independiente de APA que juega un papel importante en el metabolismo de la angiotensina en la periferia. Dado que las secuencias de extremo N-terminal de Ang 1-7 y Ang 1-8 son idénticas y, por lo tanto, ambas son sustratos para una aspartil aminopeptidasa, se puede suponer que esta degradación independiente de APA de Ang 1-7 y Ang 1-8 está bloqueada por Amastatina. En realidad, se ha demostrado que Amastatina inhibe una aspartil aminopeptidasa diferente a APA que está implicada en el metabolismo de las angiotensinas, por ejemplo, la degradación de Ang 1-7 y/o Ang 1-8, y, por lo tanto, es relevante para el RAS. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe al menos una aspartil aminopeptidasa implicada en la degradación de Ang 1-7 y/o Ang 1-8. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe al menos una aspartil aminopeptidasa diferente a APA que está implicada en la degradación de Ang 1-7 y/o Ang 1-8. Sorprendentemente, se observa un aumento en los niveles de Ang 1-7 (Figura 2 y Figura 4, paneles de la derecha), mientras que los niveles de Ang 1-8 no se ven afectados por Amastatina en presencia de inhibidores de la ACE. La gran diferencia con respecto a los niveles de Ang 1-7 entre la sangre humana total tratada con inhibidor de la ACE y la sangre tratada con la combinación de Amastatina y un inhibidor de la ACE muestra claramente una fuerte sinergia de los mecanismos moleculares subyacentes al tratamiento combinado. Se observaron efectos sinérgicos similares tras la administración *in vivo* de las composiciones de la invención a ratones (Figura 4).

Este efecto farmacológico novedoso y único sobre los niveles de angiotensina inducidos por la acción combinada de un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y un inhibidor de la ACE también puede explicar la sorprendente eficacia de la combinación de Amastatina y el inhibidor de la ACE Lisinopril en el tratamiento de la hipertensión en ratas SHR y proporciona nuevas combinaciones de fármacos en nuevos tratamientos de la hipertensión. Preferentemente, el individuo tratado es un ser humano.

En una realización, la aspartil aminopeptidasa está implicada en el RAS o en el metabolismo de las angiotensinas. Por ejemplo, la aspartil aminopeptidasa está involucrada en el RAS periférico (es decir, el RAS en la periferia), por ejemplo, RAS sistémico y/o RAS en uno o más tejidos (excepto el cerebro y/o la médula espinal).

La expresión "inhibidor de aspartil aminopeptidasa" como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier ingrediente o compuesto farmacéuticamente activo que inhibe la actividad de al menos una aspartil aminopeptidasa (es decir, que posee actividad inhibidora contra al menos una aspartil aminopeptidasa), o a uno de sus profármacos. En consecuencia, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa también puede ser un profármaco que se activa tras o después de la administración al individuo.

El término "profármaco", como se usa en la presente memoria, se refiere a un fármaco parcial o completamente inactivo que se administra inicialmente al organismo en una forma inactiva (o menos que completamente activa) y luego se convierte en su forma activa a través de procesos metabólicos normales del organismo, o mediante uno o más activadores que se administran al individuo.

Por ejemplo, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender Amastatina y Lisinopril unidos a través de un enlace covalente lábil y, por lo tanto, inactivado, que se escinde en el organismo del individuo (por ejemplo, por enzimas o sustancias inherentes al organismo del individuo o administradas al individuo), y por lo tanto libera los dos inhibidores enzimáticos activos.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe la actividad de al menos una aspartil aminopeptidasa implicada en el metabolismo de RAS o angiotensina. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe selectivamente DNPEP (también denominado DAP, EC 3.4.11.21), es decir, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es un inhibidor selectivo de DNPEP. Se puede probar si un compuesto inhibe o inhibe selectivamente la actividad de al menos una aspartil aminopeptidasa involucrada en el metabolismo RAS o angiotensina mediante procedimientos *in vitro* o *ex vivo* conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos, o como se describe en el documento WO 2013/182237.

En otra realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe la degradación de Ang 1-8 a través de un mecanismo independiente de APA (por ejemplo, si se administra en un sistema *in vitro* o *ex vivo* sin inhibidores de ACE y/o inhibidores de la quimasa). Esto también se puede probar como se conoce en la técnica, o se describe en los Ejemplos o en el documento WO 2013/182237.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa aumenta el nivel sistémico de Ang 1-8 cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa, pero no aumenta (o no aumenta sustancialmente), ni disminuye (o disminuye sustancialmente) los niveles de Ang 1-8 sistémicos cuando se administra en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa. En una

realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa aumenta el nivel de Ang 1-7 sistémico hasta cierto punto (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20%) cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa aumenta el nivel de Ang 1-7 sistémico hasta cierto punto cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa, y aumenta sustancialmente (o aumenta sinérgicamente) el nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa aumenta (o aumenta sustancialmente) el nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa, pero no aumenta (o no aumenta sustancialmente) nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa se administra sistémicamente y aumenta el nivel de Ang 1-8 sistémico cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa, pero no aumenta (o no aumenta sustancialmente), ni disminuye (o disminuye sustancialmente) el nivel de Ang 1-8 sistémico cuando se administra sistémicamente en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa se administra sistémicamente y aumenta (o aumenta sustancialmente) el nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra sistémicamente en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa, pero no aumenta (o no aumenta sustancialmente) el nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa.

El término "aumento" como se usa en la presente memoria con respecto a los niveles de angiotensina (por ejemplo, niveles de Ang II y/o Ang 1-7) se refiere al aumento del nivel respectivo causado por el efector administrado, por ejemplo, el compuesto, sustancia, fármaco o composición farmacéutica administrados. En una realización, el nivel aumenta al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales, en comparación con el nivel respectivo bajo condiciones iguales o similares en una muestra sin el efector, por ejemplo, el nivel en plasma medido antes de la administración del efector. En una realización, el efector es un inhibidor enzimático o una combinación de inhibidores enzimáticos, por ejemplo, uno o más inhibidores de la ACE, inhibidores de la quimasa y/o inhibidores de aspartil aminopeptidasa. El experto en la técnica puede determinar fácilmente si un compuesto, sustancia, fármaco o composición farmacéutica aumenta el nivel respectivo, ya sea por procedimientos descritos en la presente invención (especialmente en los ejemplos) o por procedimientos conocidos de la técnica anterior. Los procedimientos para la determinación de un aumento en un nivel respectivo pueden ser procedimientos *in vitro* y/o *in vivo*.

En consecuencia, el término "disminución" como se usa en la presente memoria con respecto a los niveles de angiotensina (por ejemplo, niveles de Ang II y/o Ang 1-7) se refiere a la disminución del nivel respectivo causado por el efector administrado, por ejemplo, el compuesto, sustancia, fármaco o composición farmacéutica administrados. En una realización, el nivel disminuye al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales, en comparación con el nivel respectivo bajo condiciones iguales o similares en una muestra sin el efector, por ejemplo, el nivel en plasma medido antes de la administración del efector. En una realización, el efector es un inhibidor enzimático o una combinación de inhibidores enzimáticos, por ejemplo, uno o más inhibidores de la ACE, inhibidores de la quimasa y/o inhibidores de aspartil aminopeptidasa. El experto en la técnica puede determinar fácilmente si un compuesto, sustancia, fármaco o composición farmacéutica disminuye el nivel respectivo, ya sea por procedimientos descritos en la presente invención (especialmente en los ejemplos) o por procedimientos conocidos de la técnica anterior. Los procedimientos para la determinación de una disminución en un nivel respectivo pueden ser procedimientos *in vitro* y/o *in vivo*.

El término "sustancialmente" como se usa en la presente memoria significa un efecto (por ejemplo, en el aumento o disminución de un nivel) de al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, o 100%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa aumenta (o aumenta sustancialmente) el nivel de Ang 1-7 sistémico cuando se administra en combinación con al menos un inhibidor de la ACE y/o al menos un inhibidor de la quimasa, pero no aumenta (o no aumenta sustancialmente) el nivel de Ang 1-7 sistémico en más de 10, 20, 30, 40 o 50%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales, cuando se administra sin inhibidores de la ACE y/o inhibidores de la quimasa, ambos en comparación con un control no tratado, en particular cuando se administra sistémicamente.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es un inhibidor de metionina aminopeptidasa. Por ejemplo, el inhibidor de la aspartil aminopeptidasa no posee actividad inhibidora contra las metioninas aminopeptidasas (por ejemplo, no inhibe la metionina aminopeptidasa EC 3.4.11.18), o su afinidad por los sustratos que tienen una metionina (Met, M) en su extremo N-terminal es inferior a su afinidad por sustratos que tienen un aminoácido distinto de la metionina en su extremo N-terminal (por ejemplo, Asp) en iguales o similares condiciones.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es un inhibidor selectivo de aminopeptidasa A. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es un inhibidor selectivo de aminopeptidasa N. En una realización adicional, la aspartil aminopeptidasa no es un inhibidor selectivo de aminopeptidasa A y no es un inhibidor selectivo de aminopeptidasa N.

El término “selectivo” como se usa en la presente memoria se refiere a un inhibidor que inhibe selectivamente dicha enzima específica. En una realización, la constante de afinidad y/o inhibidora de un inhibidor selectivo de aminopeptidasa (por ejemplo, un inhibidor selectivo de aminopeptidasa X) para su aminopeptidasa diana (por ejemplo, aminopeptidasa X) es mayor que la constante de afinidad y/o inhibidora para al menos otra aminopeptidasa (es decir, una aminopeptidasa diferente a su aminopeptidasa diana, por ejemplo, aminopeptidasa Y). Por ejemplo, la constante de afinidad y/o inhibidora de un inhibidor selectivo de aminopeptidasa A para aminopeptidasa A es mayor que la constante de afinidad y/o inhibidora para al menos otra enzima, por ejemplo, aminopeptidasa N (APN, EC 3.4.11.2). En una realización, la constante de afinidad y/o inhibidora de un inhibidor selectivo de aminopeptidasa es al menos 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces mayor, o cualquier intervalo entre estos valores, para su diana preferida en comparación con otras dianas, es decir, la constante de afinidad y/o inhibidora se multiplica por un factor de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100, o más, o cualquier intervalo intermedio. En una realización, la constante de afinidad y/o inhibidora del inhibidor de aspartil aminopeptidasa para su diana selectiva (o preferida) (por ejemplo, cualquier aspartil aminopeptidasa diferente a APA) es al menos 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces mayor que la constante de afinidad y/o inhibidora del mismo inhibidor para APA, o cualquier intervalo entre estos valores. En una realización, la constante de afinidad y/o inhibidora del inhibidor de aspartil aminopeptidasa para su aspartil aminopeptidasa diana selectiva (o preferente) es al menos 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces mayor que la constante de afinidad y/o inhibidora del mismo inhibidor para APN, o cualquier intervalo entre estos valores. En una realización, la constante de afinidad y/o inhibidora del inhibidor de aspartil aminopeptidasa para APA es menos que 100 veces mayor que la constante de afinidad y/o inhibidora del inhibidor de aspartil aminopeptidasa para APN.

Se informa que Amastatina es un inhibidor de APA (EC 3.4.11.7). Sin embargo, su afinidad por APA es baja en comparación con su afinidad por otras aminopeptidasas conocidas, tal como, por ejemplo, APN (EC 3.4.11.2) y aminopeptidasas potencialmente desconocidas. Se demostró que Amastatina es 40 veces más potente en la inhibición de APN (IC₅₀ = 0,2 μM) en comparación con APA (IC₅₀ = 8 μM). (Ahmad and Ward 1990, JPET). Por lo tanto, de acuerdo con la definición anterior, Amastatina no es un inhibidor selectivo de APA. De acuerdo con el estado de la técnica, Amastatina puede en cambio considerarse un inhibidor de la glutamil aminopeptidasa. Sin embargo, como se divulga en la presente memoria, Amastatina inhibe una aspartil aminopeptidasa diferente a APA que está implicada en el RAS. Por lo tanto, Amastatina es una aspartil aminopeptidasa de acuerdo con la definición de la presente memoria.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es RB150 y/o EC-33. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es Bestatina. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es un compuesto como se divulga en el documento US 6.340.708. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no cruza la barrera hematoencefálica (o no cruza sustancialmente la barrera hematoencefálica). En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es un profármaco y dicho profármaco no cruza la barrera hematoencefálica (o no cruza sustancialmente la barrera hematoencefálica).

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa se administra sistémicamente y no cruza la barrera hematoencefálica (o no cruza sustancialmente la barrera hematoencefálica). En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa se administra sistémicamente y su concentración (p/v) en la periferia (por ejemplo, en una muestra de sangre, una muestra derivada de sangre y/o en una muestra de tejido periférico) es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 100 o más veces (o cualquier intervalo intermedio) mayor que su concentración (p/v) en el cerebro y/o médula espinal. En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa se administra sistémicamente y su efecto sobre el RAS periférico es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 100 o más veces (o cualquier intervalo intermedio) mayor que su efecto en el RAS central. El efecto sobre el RAS periférico se puede determinar por la determinación de la concentración de Ang 1-7 en una muestra de sangre o suero. El efecto sobre el RAS central puede determinarse por la determinación de la concentración de Ang 1-7 en una muestra de líquido cefalorraquídeo o en una muestra de tejido homogeneizado. Un aumento se determina en relación con una muestra de la muestra no tratada o un donante de muestra no tratada.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es una molécula pequeña. En una realización alternativa, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es una proteína o péptido, por ejemplo, un anticuerpo. En una realización, el inhibidor de la aspartil aminopeptidasa es un ácido nucleico inhibidor, tal como un siRNA, shRNA, miRNA o un vector que codifica dichos ácidos nucleicos.

En una realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es Amastatina o uno de sus derivados.

Por consiguiente, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa usado en la composición farmacéutica de la invención puede ser Amastatina o uno de sus derivados químicos. Se ha demostrado que Amastatina inhibe una aspartil aminopeptidasa que está crucialmente involucrada en el metabolismo de Ang 1-8 y Ang 1-7. Se ha demostrado además en la presente memoria que los efectos observados en el metabolismo de Ang 1-8 y Ang 1-7 son independientes de APA (Figura 3). Es sabido que Amastatina es un medicamento con más de una diana entre las aminopeptidasas (por ejemplo, APA y APN). Por lo tanto, los derivados adecuados de Amastatina pueden mostrar una selectividad y/o afinidad mejoradas para la aspartil aminopeptidasa responsable de los efectos observados en el metabolismo de la angiotensina (Figura 2). Además, la biodisponibilidad puede mejorarse con derivados, facilitando

el uso de Amastatina en las composiciones farmacéuticas, kits y procedimientos de acuerdo con la invención, especialmente para el tratamiento de la hipertensión o el cáncer en seres humanos.

En otra realización, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es Amastatina.

5 En una realización, la actividad de al menos una aspartil aminopeptidasa (por ejemplo, DNPEP) se inhibe al menos en 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales.

10 El término "inhibidor de la ACE", como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier ingrediente o compuesto farmacéuticamente activo que inhibe la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE, EC 3.4.15.1) o cualquier actividad similar a la ACE que conduce a una formación reducida de Ang 1-8 a partir de Ang 1-10, o uno de sus profármacos. ACE es una enzima involucrada en el RAS, en particular en la degradación y
15 formación de angiotensinas. De manera similar a la quimasa, ACE es una carboxipeptidasa y convierte Ang I en Ang 1-8. ACE es una metaloproteasa construida por un dominio de extremo N-terminal y un dominio de extremo C-terminal. Los dos dominios poseen especificidades de sustrato diferentes y su estructura molecular ligeramente diferente también puede dar como resultado diferencias en la afinidad de los inhibidores de la ACE para los dos dominios individuales. Además, es sabido que diferentes isoformas de ACE se expresan en humanos, incluyendo
20 formas de longitud completa y truncadas, solubles, unidas a la membrana. En una realización, los inhibidores de la ACE incluyen inhibidores de la ACE isoformas de la ACE. ACE se expresa ampliamente en múltiples tejidos y fluidos del organismo humano (Maluf-Meiken *et al.*, International Journal of Hypertension 2012; Hattori *et al.*, Hypertension 2000, Deddish *et al.*, Hypertension 1998).

20 Por consiguiente, en una realización, el inhibidor de la ACE inhibe la conversión de Ang I en Ang 1-8. En una realización, la inhibición de la ACE inhibe la conversión de Ang I en Ang 1-8 en al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales.

En una realización, el inhibidor de la ACE es una molécula pequeña. En una realización alternativa, el inhibidor de la ACE es una proteína o péptido, por ejemplo, un anticuerpo, o un ácido nucleico inhibidor, tal como un siRNA, shRNA, miRNA o un vector que codifica dichos ácidos nucleicos.

25 El inhibidor de la ACE se puede seleccionar del grupo que consiste en alacepril, benazepril, benazeprilat, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, moexipril, moveltopril, perindopril, quinapril, quinaprilat, ramipril, ramiprilat, spirapril, temocapril, trandolapril, zofenopril y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En una realización, el inhibidor de la ACE se selecciona de agentes que ya se han
30 comercializado, por ejemplo, benazepril, benazaprilat, ramipril y ramiprilat, quinapril, quinaprilat, lisinopril, trandolapril, enalapril o enalaprilat.

En una realización, el inhibidor de la ACE es Lisinopril y/o Captopril.

35 Es bien sabido que ACE es uno de los participantes clave en la formación Ang 1-8 a partir de Ang 1-10. Sin embargo, es sabido que otras enzimas están involucradas en la formación de Ang 1-8 a partir de Ang 1-10. Se informa que la quimasa (EC 3.4.21.39), una carboxipeptidasa, es la principal enzima responsable de la formación de Ang 1-8 en el corazón y en los vasos sanguíneos (Dell'Italia *et al.*, Curr. Opin. Cardiol. 2002) y, al igual que ACE, lleva a cabo la escisión enzimática de Ang 1-10 para producir Ang 1-8. En los últimos años, se ha sugerido que los inhibidores de la quimasa apoyan la acción de los inhibidores de la ACE en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca al lograr un bloqueo más eficiente de la formación de Ang 1-8 en el corazón (Matsumoto *et al.*, Circulation 2003).

40 El efecto beneficioso observado sobre la presión arterial por la combinación de un inhibidor de aspartil aminopeptidasa con un inhibidor de la ACE se basa en un mecanismo sinérgico entre ambos inhibidores, que es sabido que implica el bloqueo de la formación de Ang 1-8 por la escisión mediada por la ACE de Ang 1-10. Sabiendo que la quimasa y la ACE asumen funciones moleculares idénticas en la formación de Ang 1-8, se puede
45 esperar que la combinación de un inhibidor de aspartil aminopeptidasa con un inhibidor de la quimasa, o una combinación de un inhibidor de aspartil aminopeptidasa con un inhibidor de la quimasa y un inhibidor de la ACE, muestre una eficacia similar o incluso mejor en el tratamiento de enfermedades asociadas con el RAS, que incluyen la hipertensión. Sin embargo, el campo de aplicación de la combinación de inhibidor de aspartil aminopeptidasa-quimasa puede diferir de la combinación de inhibidor de aspartil aminopeptidasa-ACE, dado que es sabido que la contribución relativa de ACE y quimasa a la formación de Ang 1-8 difiere significativamente entre varios tejidos. El
50 experto en la técnica puede seleccionar fácilmente la combinación preferida para la indicación específica o para el efecto específico que desea lograr con la composición farmacéutica o los procedimientos de acuerdo con la invención.

Por lo tanto, en una realización, la actividad inhibidora de aspartil aminopeptidasa se combina con una actividad inhibidora de la quimasa, ya sea en lugar de la actividad inhibidora de ACE o además de la misma.

55 En una realización, el inhibidor de la quimasa se selecciona de Quimostatina, NK3201, SUN-C8257, TY51184, BCEAB, Y-40018 y sus derivados y combinaciones (véase, por ejemplo, Doggrell, Sheila A, Exp. Opinion on Therapeutic Patents 2008).

Los términos “inhibidor” o “actividad inhibidora” como se usan en la presente memoria se refieren a la inhibición de la actividad de la enzima respectiva, por ejemplo, ACE y/o aspartil aminopeptidasa y/o quimasa. En una realización, la enzima se inhibe al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90%, o cualquier intervalo entre estos valores porcentuales, en comparación con la actividad de la enzima respectiva bajo condiciones iguales o similares en una muestra sin inhibidor o actividad inhibidora, por ejemplo, la actividad enzimática en plasma medida antes de la administración del inhibidor. El experto en la técnica puede determinar fácilmente si un compuesto, sustancia, fármaco o composición farmacéutica inhibe la enzima respectiva, ya sea por procedimientos descritos en la presente invención (especialmente en los ejemplos) o por procedimientos conocidos de la técnica anterior. Los procedimientos para la determinación de la actividad inhibidora pueden ser procedimientos *in vitro*, *ex vivo* y/o *in vivo*. Por lo tanto, los términos inhibidor de aspartil aminopeptidasa, inhibidor de ACE, inhibidor de la quimasa y/o cualquier otro inhibidor enzimático mencionados en la presente memoria son compuestos que inhiben la enzima respectiva y son términos que están bien establecidos en la técnica (véanse, por ejemplo, las referencias citadas en la presente memoria).

Por consiguiente, en una realización, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa, y opcionalmente al menos un inhibidor de la ACE. En otra realización, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de ACE, y opcionalmente al menos un inhibidor de la quimasa. En otra realización adicional, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa y al menos un inhibidor de la ACE. En otra realización adicional, la composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de ACE, pero no comprende un inhibidor de la quimasa.

En una realización de la presente invención,

- a. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE, o
- b. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la quimasa, o
- c. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE y el al menos un inhibidor de la quimasa

se combinan en una molécula individual.

Dicha molécula individual puede ser cualquier molécula individual que tenga la actividad del al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE, o el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la quimasa, o al menos una aspartil aminopeptidasa inhibidor y el al menos un inhibidor de la ACE y el al menos un inhibidor de la quimasa. Dichas moléculas individuales no necesariamente muestran similitud estructural con ningún inhibidor de aspartil aminopeptidasa, inhibidor de la quimasa o inhibidor de la ACE por separado, a condición de que estas moléculas posean las actividades inhibidoras correspondientes para aspartil aminopeptidasa y ACE y/o quimasa. Por consiguiente, la molécula individual puede ser una fusión molecular de inhibidores estructuralmente similares a uno o más de dichos inhibidores separados, o puede ser una molécula totalmente diferente que tiene las respectivas actividades inhibidoras combinadas.

Por consiguiente, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender una molécula individual que posee actividad inhibidora contra

- a. aspartil aminopeptidasa y enzima convertidora de angiotensina (ACE), o
- b. contra aspartil aminopeptidasa y quimasa.

Opcionalmente, dicha molécula individual puede comprender actividades adicionales.

En una realización, al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa, el al menos un inhibidor de la ACE y/o el al menos un inhibidor de la quimasa se combinan en una molécula individual, es decir, una molécula individual ejerce una actividad inhibidora de aspartil aminopeptidasa así como una actividad inhibidora de ACE y/o una actividad quimasa.

Por ejemplo, los inhibidores duales para la enzima convertidora de endotelina (ECE) y la endopeptidasa neutra (NEP), o ACE y NEP, ya se han probado para eficacia en varios modelos de enfermedad (Mellin *et al.* 2005, *J Cardiovasc Pharmacol.* y Jandeleit-Dahm *et al.* 2006, *Journal of Human Hypertension*). Por consiguiente, la composición farmacéutica o el kit de la presente invención pueden comprender una molécula individual que tiene actividad inhibidora de aspartil aminopeptidasa, así como actividad inhibidora de ACE y/o actividad inhibidora de la quimasa, y opcionalmente actividades adicionales. En otras realizaciones, se usan compuestos separados como inhibidor de aspartil aminopeptidasa, inhibidor de la ACE y/o inhibidor de la quimasa. Preferentemente, el inhibidor de aspartil aminopeptidasa, el inhibidor de la ACE y/o el inhibidor de la quimasa tienen una mayor actividad inhibidora en la enzima nombrada respectiva que en la otra de estas enzimas. En realizaciones adicionales, los inhibidores usados de acuerdo con cualquier realización de la invención pueden estar unidos químicamente, por ejemplo, por un resto enlazador o directamente a través de un enlace químico. Por ejemplo (y como se describe

5 anteriormente), la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender Amastatina y Lisinopril unidos a través de un enlace covalente lábil y, por lo tanto, inactivado, que se escinde en el organismo del individuo (por ejemplo, por enzimas o sustancias inherentes al organismo del individuo o administradas al individuo), y por lo tanto libera los dos inhibidores enzimáticos activos. En dicho caso, la composición farmacéutica es una molécula individual y también es un profármaco.

10 Un experto en la técnica puede determinar fácilmente si una molécula individual tiene o no las actividades inhibitoras adecuadas como se describe en la presente memoria, por ejemplo, mediante los procedimientos que se describen en la presente memoria. En consecuencia, el experto puede seleccionar fácilmente compuestos, moléculas individuales o composiciones farmacéuticas para tales actividades. Además, un experto puede fabricar tales moléculas individuales con las actividades requeridas, por ejemplo, introduciendo un enlazador como se describe anteriormente, o como se conoce en la técnica.

15 Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender otros ingredientes activos. En una realización, la composición farmacéutica no comprende ingredientes activos adicionales. En una realización, la composición farmacéutica no comprende un inhibidor de endopeptidasa neutra (NEP) (por ejemplo, SCH39370, Chappell *et al.*; Nephrol Dial Transplant. 2001; 16 Suppl 1: 22-6.).

20 La presente invención también se refiere a un kit como se describe anteriormente en forma adicional. Dicho kit de partes puede comprender una o más de las composiciones farmacéuticas respectivas con las actividades dadas como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, el kit comprende al menos dos componentes, por ejemplo, al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la ACE o al menos un inhibidor de la quimasa. El kit puede comprender además un manual, por ejemplo, que describe cómo combinar y/o administrar los componentes de los kits. Uno o más componentes del kit (o todos los componentes del kit) pueden combinarse antes de la administración y administrarse como una mezcla. Además, uno o más componentes del kit (o cada componente del kit) pueden administrarse por separado, ya sea simultánea o secuencialmente, ya sea por la misma o por diferentes vías de administración.

25 El individuo puede ser humano o animal. En una realización, el individuo es un mamífero tal como un ratón, rata o primate (por ejemplo, un tití o mono). El individuo puede ser un animal no humano. El procedimiento o composición también tiene un uso veterinario. El individuo a tratar puede ser un animal de granja, por ejemplo, una vaca o un toro, una oveja, un cerdo, un buey, una cabra o un caballo, o puede ser un animal doméstico tal como un perro o un gato. El animal puede ser un animal de cualquier edad, o un animal adulto maduro. En una realización, el individuo es un ser humano.

30 En una realización, la composición farmacéutica, kit o procedimiento como se define en la presente memoria es para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con el sistema Renina-Angiotensina (RAS). Tal enfermedad puede estar relacionada con una disfunción del RAS o una desregulación del RAS.

35 Es bien sabido en la técnica que el RAS está desregulado en enfermedades cardiovasculares y otras, tal como enfermedades hiperplásicas y/o neoplásicas, inflamación y enfermedades autoinmunes. En particular, los niveles de Ang-II aumentan y/o los niveles de Ang-(1-7) disminuyen en dichas condiciones; o se describe que un aumento en el nivel de Ang-(1-7) (por ejemplo, mediante la administración de Ang-(1-7)), y/o una disminución en el nivel de Ang-II es ventajoso en dichas condiciones. La presente invención muestra el efecto sinérgico de la combinación de las dos clases de compuestos reivindicados en Ang-II y/o Ang-(1-7), y, por lo tanto, proporciona la justificación para tratar dichas afecciones o enfermedades con las composiciones farmacéuticas como se describe en la presente memoria.

40 La enfermedad relacionada con el RAS puede ser una enfermedad hiperplásica y/o neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular y/o una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario. Por ejemplo, la enfermedad cardiovascular es la hipertensión y/o la insuficiencia cardíaca. La enfermedad relacionada con el RAS (y su disfunción) puede seleccionarse del grupo que consiste en hipertensión, disfunción ventricular izquierda, miocardiopatía hipertrófica, miopatía cardíaca diabética, arritmias supraventriculares y ventriculares, fibrilación auricular, aleteo auricular, remodelación vascular perjudicial e infarto de miocardio y sus secuelas, aterosclerosis, angor (ya sea inestable o estable), insuficiencia renal (diabética y no diabética), insuficiencia cardíaca, angina de pecho, diabetes, aldosteronismo secundario, hipertensión pulmonar primaria y secundaria, afecciones de insuficiencia renal, tal como nefropatía diabética, glomerulonefritis, esclerodermia, esclerosis glomerular, proteinuria de enfermedad renal primaria y también hipertensión vascular renal, retinopatía diabética; otros trastornos vasculares, tal como migraña, enfermedad vascular periférica, enfermedad de Raynaud, hiperplasia luminal, disfunción endotelial, disfunción cognitiva (tal como la enfermedad de Alzheimer), glaucoma, accidente cerebrovascular, enfermedades neoplásicas, inflamación y afecciones relacionadas con la misma, y enfermedades autoinmunes.

55 La enfermedad neoplásica puede ser cáncer, especialmente un cáncer que está relacionado con el aumento de los niveles de Ang II y/o un cáncer en el que un aumento en Ang-(1-7) es ventajoso. El cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de mama, especialmente cáncer de mama triple negativo, osteosarcoma, sarcomas pediátricos y cáncer de cerebro. Para mayor referencia a la relación de un RAS desregulado y varias enfermedades, véase, por ejemplo, Gallagher *et al.*; Curr Med Chem. 2014; 21(21):2417-

23; Passos-Silva *et al.*; Clin Sci (Lond). 2013 Apr;124(7):443-56. doi: 10.1042/CS20120461; Simões e Silva *et al.*; Br J Pharmacol. 2013; Jun; 169(3):477-92. doi: 10.1111/bph.12159; Gallagher *et al.*; Curr Cancer Drug Targets. 2011 May;11(4):394-404; Cook *et al.*; Cancer Res. 2010 Nov 1;70(21):8319-28. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1136; Ender *et al.*; Mol Med Rep. 2014 Aug;10(2):804-10. doi: 10.3892/mmr.2014.2266; Gallagher, *et al.*; Proceedings of the AACR Special Conference on Tumor Invasion and Metastasis; Jan 20-23, 2013; San Diego, CA. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2013;73(3 Suppl):Abstract C66; Gallagher, P. E. and E. A. Tallant (2004); Carcinogenesis 25(11): 2045-2052).

Las referencias en la presente memoria a la "hipertensión", también denominada "presión arterial elevada", se refieren a cuando la presión arterial dentro de las arterias de un paciente es anormalmente alta. La presión arterial elevada prolongada puede aumentar la presión sobre el corazón, dado que bombea la sangre para circular por el organismo y, como resultado, muchas enfermedades cardiovasculares están asociadas con la presión arterial elevada. La presión arterial normal tiene una presión arterial diastólica menor que 85 mmHg. La presión arterial normal alta tiene una presión arterial diastólica entre 85 y 89 mmHg. La hipertensión leve corresponde a una presión arterial diastólica entre 90-104 mmHg. La hipertensión moderada tiene una presión arterial diastólica entre 105 y 114 mmHg. La hipertensión severa tiene una presión arterial diastólica mayor que 115 mmHg. La presión arterial anormal también se determina a partir de la presión arterial sistólica (cuando la presión diastólica es menor que 90 mmHg). La presión arterial normal tiene una presión arterial sistólica menor que 140 mmHg. La hipertensión sistólica límite muestra una presión sanguínea sistólica entre 140 y 159 mmHg. La hipertensión sistólica aislada tiene una presión arterial sistólica mayor que 160 mmHg (véase, Cecil: Essentials of Medicine, Third Edition by Andreoli *et al.* W. B. Saunders Company (1993)). La hipertensión se diagnostica en un adulto mayor de 18 años si el promedio de dos o más mediciones de la presión arterial en al menos dos visitas es de 90 mmHg o mayor para la diastólica o 140 mmHg para la sistólica. Los niños y las mujeres embarazadas tienen una presión arterial más baja, por lo que una presión arterial superior a 120/80 (es decir, presión arterial sistólica de 120 mmHg/presión arterial diastólica de 80 mmHg) indica hipertensión.

La invención se refiere además al uso de al menos un inhibidor de la ACE y/o inhibidor de la quimasa, y al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad relacionada con el RAS.

En una realización, la composición farmacéutica se administra sistémicamente (o es para su uso en administración sistémica, o se formula para administración sistémica), por ejemplo, se administra por vía oral (o es para su uso en administración oral). Por ejemplo, la composición farmacéutica se formula como un comprimido o cápsula, o como una solución para infusión o inyección. En una realización, la composición farmacéutica no se administra en el cerebro (o no es para su uso en administración intracerebral, es decir, no es para su uso en administración en el cerebro). En una realización, la composición farmacéutica no se administra intracerebroventricularmente (i.c.v. o ICV) o no es para administración intracerebral.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención pueden comprender además uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. El vehículo, diluyente y/o excipiente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial para el receptor de la misma. Típicamente, tales composiciones comprenden un "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente" como es conocido y requerido por la práctica farmacéutica aceptable, véase, por ejemplo, Remingtons Pharmaceutical Sciences, 16th edition (1980) Mack Publishing Co. Los ejemplos de dichos vehículos incluyen vehículos esterilizados tal como solución salina, solución de Ringer o solución de dextrosa, opcionalmente tamponados con tampones adecuados a un pH dentro de un intervalo de 5 a 8.

El principio activo de las composiciones farmacéuticas, kits y procedimientos de acuerdo con la invención es la inhibición (especialmente la inhibición periférica o sistémica) de al menos una aspartil aminopeptidasa en combinación con la inhibición de la formación de Ang 1-8 (por ejemplo, por bloqueo de ACE o de la quimasa). El efecto de dicho principio activo es un aumento en el nivel de Ang-(1-7) y/o una disminución en el nivel de Ang-II. Por consiguiente, en una realización, el nivel de Ang-(1-7) aumenta por la administración de la composición farmacéutica. En una realización adicional, el nivel de Ang-II disminuye por la administración de la composición farmacéutica. En una realización adicional, el nivel de Ang-(1-7) aumenta y el nivel de Ang-II disminuye por la administración de la composición farmacéutica.

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende uno o más profármacos de los inhibidores respectivos en lugar de los inhibidores propiamente dichos (es decir, en lugar de los inhibidores enzimáticos activos, como se describió anteriormente).

Es altamente ventajoso aumentar el nivel de Ang-(1-7) dentro del sistema sanguíneo dado que Ang-(1-7), por ejemplo, ha demostrado tener efectos vasoprotectores y antiproliferativos (véase Ocaranza MP, Jalil JE (2012), Raizada MK, Ferreira AJ, Ocaranza MP *et al.* (2010), y Shenoy V *et al.*). La disminución del nivel de Ang-(1-8) también ha mostrado efectos beneficiosos en la protección del corazón, los vasos y los riñones de la remodelación cardiovascular adversa (por ejemplo, efectos antihipertróficos y antifibróticos) en la hipertensión y la insuficiencia cardíaca (Fyhrquist *et al.* 1995, Journal of Human Hypertension). Por lo tanto, sin suscribir a ninguna teoría, el aumento de los niveles de Ang-(1-7) y/o la disminución de los niveles de Ang-(1-8) en la circulación tiene efectos

ventajosos sobre el sistema cardiovascular del organismo y puede usarse en el tratamiento, que incluye el tratamiento profiláctico, de enfermedades relacionadas con el RAS, especialmente enfermedades cardiovasculares.

El término "nivel" como se usa en la presente memoria se refiere a la cantidad de la sustancia (por ejemplo, Ang-(1-7), y/o Ang 1-8) en una muestra obtenida de un individuo, por ejemplo, en una muestra de sangre o en una muestra derivada de sangre, tal como, por ejemplo, una muestra de plasma o suero. El nivel puede darse como la cantidad de la sustancia por volumen de la muestra, por ejemplo, como pg/ml.

Se divulga un procedimiento para disminuir la presión arterial en un individuo mediante la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Se divulga un procedimiento para tratar una enfermedad relacionada con el RAS en un individuo mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención al individuo.

En una realización, el efecto farmacológico de las composiciones farmacéuticas, los kits y los procedimientos de acuerdo con la invención está mediado por la influencia sobre el RAS (por ejemplo, el RAS periférico o sistémico). Por consiguiente, en una realización, las composiciones farmacéuticas o los kits o los procedimientos de la invención influyen sobre el RAS, por ejemplo, el RAS periférico o sistémico.

Los términos "periferia" o "periférico", como se usan en la presente memoria, se refieren a cualquier parte del organismo excepto el cerebro (lo que incluye la médula espinal), por ejemplo, el sistema circulatorio y/o uno o más tejidos. En consecuencia, los términos "periferia" o "periférico", como se usan en la presente memoria, se refieren a cualquier parte del organismo excepto aquellas que están separadas por la barrera hematoencefálica.

El término "sistémico" como se usa en la presente memoria se refiere a una vía de administración en el sistema circulatorio, y/o se refiere a un sitio de acción farmacológica o localización de una composición farmacéutica en el sistema circulatorio, y/o se refiere a un efecto a través del sistema circulatorio o un efecto sobre el sistema circulatorio (por ejemplo, sobre la presión arterial). En una realización, el sitio de acción farmacológica es independiente de la vía de administración. En una realización, la composición farmacéutica se administra en el sistema circulatorio periférico, y/o su sitio de acción farmacológica está en el sistema circulatorio periférico, y/o se distribuye en el sistema circulatorio periférico, y/o ejerce su efecto farmacológico a través del sistema circulatorio periférico, y/o tiene un efecto sobre el sistema circulatorio periférico. En una realización, la composición farmacéutica no se administra intracerebroventricularmente (i.c.v. o ICV) y/o no por administración intracerebral. La administración sistémica puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante administración enteral (absorción del medicamento a través del tracto gastrointestinal) o administración parenteral (generalmente inyección, infusión o implantación). Una composición farmacéutica administrada sistémicamente puede distribuirse dentro del sistema circulatorio, pero ejercer su efecto en un tejido o área del organismo específicos. Por ejemplo, la quimasa no está presente en el plasma sanguíneo, pero está presente, entre otros, en el tejido cardíaco. En consecuencia, un inhibidor de la quimasa puede administrarse sistémicamente y su efecto puede medirse, por ejemplo, en el tejido cardíaco. Con respecto a un efecto sistémico, la composición farmacéutica se administra sistémicamente y su efecto está presente o puede medirse en el sistema circulatorio y/o en al menos un área de tejido o del organismo diferente al cerebro y/o la médula espinal. En contraste, un efecto local está restringido a cualquier área local del organismo, a la que se administra el medicamento. Por ejemplo, un efecto sistémico puede medirse analizando una muestra de sangre (o una muestra derivada de sangre, tal como, por ejemplo, plasma o suero) o una muestra de tejido (por ejemplo, una muestra de tejido periférico) del individuo.

Los procedimientos para la preparación o fabricación de composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención son bien conocidos por los expertos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas o los kits de acuerdo con la invención pueden además comprender instrucciones de uso.

Las dosis y regímenes de tratamiento eficaces para administrar la composición generalmente se determinan empíricamente y pueden depender de factores tal como la edad, el peso y el estado de salud del paciente y la enfermedad o trastorno a tratar. Tales factores están dentro del área del experto en la técnica. La dosis del inhibidor de la ACE o el inhibidor de la quimasa o el inhibidor de la aspartil aminopeptidasa que se administra a un individuo generalmente está entre 1 µg/kg y 150 mg/kg, entre 0,1 mg/kg y 100 mg/kg, entre 0,5 mg/kg y 50 mg/kg, entre 1 y 25 mg/kg o entre 1 y 10 mg/kg del peso corporal del individuo y puede administrarse una, dos, tres o más veces al día. Por ejemplo, la dosis puede ser de 1 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 60 mg/kg, 100 mg/kg.

Si se proporciona un intervalo en la presente memoria, dicho intervalo incluye cualquier intervalo entre los intervalos dados (es decir, cualquier intervalo entre y que incluye el límite inferior y superior del intervalo). Si se proporciona una lista de valores en la presente memoria, dicha lista de valores incluye cualquier número entero o valor de fracción entre los valores de ejemplo dados (por ejemplo, cualquiera de esos valores entre los valores de ejemplo enumerados).

La administración de una dosis puede ser sistémica, por ejemplo, oralmente o por infusión o inyección.

La administración de una dosis puede repetirse una o más veces según sea necesario, por ejemplo, tres veces al día, una vez al día, una vez cada 2 días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes, una vez cada 3 meses, una vez cada 6 meses o una vez cada 12 meses. Cuando la composición se usa en una combinación adicional con otros agentes terapéuticamente activos, los componentes individuales pueden administrarse juntos o por separado, simultáneamente, secuencialmente, concurrente o consecutivamente, en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas, por cualquier vía conveniente. Si se administran por separado o secuencialmente, la combinación y los agentes terapéuticamente activos se pueden administrar en cualquier orden.

Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los componentes deben ser estables y compatibles entre sí y con los otros componentes de la formulación y pueden formularse para la administración. Cuando se formulan por separado, se pueden proporcionar en cualquier formulación conveniente, por ejemplo, de manera tal como se conoce para el inhibidor de la ACE o el inhibidor de la quimasa o los agentes inhibidores de la aspartil aminopeptidasa en la técnica. Cuando se usa en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra la misma enfermedad, la dosis de cada componente puede diferir de aquella cuando la composición se usa sola. Los expertos en la técnica apreciarán fácilmente las dosis adecuadas.

El tratamiento puede ser terapéutico, profiláctico o preventivo. El individuo es uno necesitado de dicho tratamiento. Aquellos necesitados de tratamiento pueden incluir individuos que ya padecen una enfermedad médica particular, además de aquellos que pueden desarrollar la enfermedad en el futuro. Por lo tanto, la composición descrita en la presente memoria puede usarse para tratamiento profiláctico o preventivo. En este caso, la composición descrita en la presente memoria se administra al individuo para prevenir o retrasar la aparición de uno o más aspectos o síntomas de la enfermedad. El individuo puede ser asintomático. El individuo puede tener una predisposición genética a la enfermedad. Se administra una cantidad profilácticamente eficaz de la composición a dicho individuo. Una cantidad profilácticamente eficaz es una cantidad que previene o retrasa la aparición de uno o más aspectos o síntomas de una enfermedad descrita en la presente memoria.

La composición descrita en la presente memoria también puede usarse en métodos de terapia. El término "terapia" abarca el alivio, la reducción o la prevención de al menos un aspecto o síntoma de una enfermedad. Por ejemplo, la composición descrita en la presente memoria puede usarse para mejorar o reducir uno o más aspectos o síntomas de una enfermedad descrita en la presente memoria.

La composición descrita en la presente memoria es para su uso en una cantidad eficaz para un tratamiento terapéutico, profiláctico o preventivo. Una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición descrita en la presente es una cantidad eficaz para mejorar o reducir uno o más aspectos o síntomas de la enfermedad. La composición descrita en la presente memoria también puede usarse para tratar, prevenir o curar la enfermedad descrita en la presente memoria.

La composición descrita en la presente memoria no necesita lograr una cura completa, o erradicar cada síntoma o manifestación de la enfermedad para constituir un tratamiento terapéutico viable. Como se reconoce en el campo pertinente, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de un estado de enfermedad dado, pero no necesitan abolir todas las manifestaciones de la enfermedad para ser considerados agentes terapéuticos útiles. De manera similar, un tratamiento administrado profilácticamente no necesita ser completamente eficaz para prevenir la aparición de una enfermedad a fin de constituir un agente profiláctico viable. Simplemente la reducción del impacto de una enfermedad (por ejemplo, la reducción del número o la gravedad de sus síntomas, o el aumento de la eficacia de otro tratamiento, o la producción de otro efecto beneficioso), o la reducción de la probabilidad de que ocurra la enfermedad (por ejemplo, el retraso del inicio de la enfermedad) o empeore en un individuo, es suficiente.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad (dosis) de una sustancia, por ejemplo, una cantidad de composición terapéutica que es suficiente para prevenir, inhibir, detener o permitir una mejora en la enfermedad que se está tratando.

Ejemplos

Ejemplo 1:

Efectos de la administración combinada de Amastatina y Lisinopril sobre la presión arterial en ratas SHR macho (Figura 1).

Procedimientos

Se utilizaron 20 ratas SHR macho de 16 semanas de edad para investigar los efectos a corto plazo de la nueva combinación de fármacos sobre la presión arterial sistólica. Antes de comenzar el procedimiento de tratamiento, las ratas fueron acondicionadas para el procedimiento experimental mediante mediciones diarias de la presión arterial utilizando el procedimiento del manguito en la cola durante 1 semana. Las ratas se asignaron al azar a 4 grupos de tratamiento diferentes que consistentes en 5 animales que fueron tratados con vehículo (PBS), 40 mg/kg de Lisinopril en PBS, 40 mg/kg de Amastatina en PBS o una combinación de 40 mg/kg de Lisinopril y 40 mg/kg de Amastatina en PBS por inyección intraperitoneal de los compuestos cada mañana durante un periodo de tratamiento

de 7 días. Las mediciones diarias de la presión arterial se realizaron 4 h después de la administración del fármaco y continuaron durante todo el periodo de tratamiento. Los datos de presión arterial se evaluaron calculando el cambio relativo en la presión arterial sistólica en comparación con el grupo de vehículo en el día 7 de la administración del fármaco. La comparación estadística entre los grupos se realizó mediante la prueba T de Student.

5 Resultados

La media de peso corporal y la presión arterial sistólica inicial de las ratas SHR se determinaron al comienzo del periodo de tratamiento, lo que resultó en una media de peso corporal de 283 g y una media de presión arterial sistólica de 196 mmHg. Después de 7 días de administración oral diaria de diferentes compuestos y combinaciones de compuestos, la presión arterial sistólica se controló por el método del manguito en la cola y los cambios relativos en comparación con las medias de los valores de las ratas de control (V) tratadas con vehículo se muestran con los errores estándar correspondientes de la media (+/- SEM) (Figura 1).

El tratamiento de ratas SHR con Lisinopril (L) dio lugar a una disminución significativa de la presión arterial sistólica de 18,6 +/- 3,9 mmHg en comparación con los animales tratados con vehículo (p = 0,06). El tratamiento con Amastatina (A) por sí sola dio lugar a un aumento moderado, pero no significativo, de la media de la presión arterial sistólica (5,8 +/- 7,0 mmHg) en comparación con los animales tratados con vehículo (p = 0,60). La administración combinada de Amastatina y Lisinopril (A + L) dio lugar a una disminución altamente significativa de la presión arterial de 31,2 +/- 5,5 mmHg en comparación con los animales tratados con vehículo (p = 0,01), lo que excedió fuertemente el efecto de disminución de la presión arterial de Lisinopril solo (18,6 +/- 3,9 mmHg).

Ejemplo 2:

20 Efectos farmacológicos de Amastatina y Lisinopril o Captopril sobre los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en sangre humana total (Figura 2).

Procedimientos

Se recogió sangre de un voluntario humano sano utilizando un tubo de extracción de sangre con heparina estándar. Se añadió renina humana recombinante a la sangre total a una concentración de 100 pg/ml para simular la hiperactivación de RAS. Se añadieron medicamentos y combinaciones a diferentes muestras de plasma a las concentraciones y combinaciones finales indicadas (Figura 2) usando controles de disolvente adecuados para cada compuesto o combinación probado. Después de un periodo de incubación de 60 minutos a 37 °C, las muestras se estabilizaron mediante la adición de inhibidores de la proteasa y los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 se midieron por espectrometría de masas.

30 Resultados

Los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 se midieron después de 1 h de incubación de los compuestos con sangre humana total heparinizada (más renina humana recombinante) a 37 °C (Figura 2). El inhibidor de aspartil aminopeptidasa, Amastatina, produjo un fuerte aumento de Ang 1-8 en comparación con el control de vehículo en ausencia de inhibidores de la ACE (686 pg/ml en comparación con 1016 pg/ml), mientras que los niveles de Ang 1-7 se redujeron (27 pg/ml en comparación con 15 pg/ml). La inhibición de la ACE por sí sola, ya sea por Captopril 10 µM o Lisinopril 10 µM, dio lugar a una disminución profunda en los niveles de Ang 1-8 a 29 pg/ml y 33 pg/ml respectivamente, mientras que los inhibidores de la ACE aumentaron fuertemente los niveles de Ang 1-7 a 100 pg/ml y 153 pg/ml, respectivamente. Sorprendentemente, a pesar del efecto de que la Amastatina por sí sola aumenta fuertemente los niveles de Ang 1-8, Ang 1-8 se mantuvo baja cuando tanto los inhibidores de la ACE como Amastatina estaban presentes en la misma muestra (Amastatina + Captopril: 29 pg/ml, Amastatina + Lisinopril: 23 pg/ml). A pesar del hallazgo de que la Amastatina por sí sola mostró una disminución en Ang 1-7 en sangre humana total, la combinación de los inhibidores de la ACE con Amastatina resultó en un fuerte aumento sinérgico en los niveles de Ang 1-7 (1,8 - 2,4 veces) en comparación con muestras tratadas con los inhibidores de la ACE por sí solos (Captopril: 235 pg/ml vs. 100 pg/ml, Lisinopril: 284 pg/ml vs. 153 pg/ml).

45 **Ejemplo 3:**

Sensibilidad *in vitro* y *ex vivo* de APA humana para Amastatina (Figura 3).

Procedimientos:

La conversión de Ang 1-8 en Ang 2-8 por APA se ha analizado en un sistema *in vitro* (panel izquierdo) utilizando 100 ng/ml de Ang 1-8 incubada a 37 °C durante 10 min en presencia o ausencia de 1 µg/ml de APA (ENPEP humano recombinante, R&D; Núm. de catálogo 2499-ZN) y/o 0,1 µM de Amastatina. La actividad de APA se determinó midiendo la formación de Ang 2-8 usando LC-MS/MS. La velocidad de formación de Ang 2-8 se expresa en pg de Ang 2-8/ml por minuto. Para la investigación de la actividad de APA y el impacto de Amastatina en el metabolismo de la angiotensina endógena *ex vivo* (panel derecho), se recogió sangre heparinizada de voluntarios sanos. Después de la separación del plasma por centrifugación a 2500 g durante 10 minutos, se añadieron 100 pg/ml de renina humana recombinante (Sigma, R2779) al plasma heparinizado, seguido de una incubación de 60 minutos a

37 °C en presencia o ausencia de 1 µg/ml de APA y/o 0,1 µM de Amastatina como se indica. Después del periodo de incubación, las muestras se enfriaron en hielo, se estabilizaron mediante la adición de inhibidores de proteasa y se analizaron los niveles de Ang 1-8 por LC-MS/MS.

Resultados:

5 Se han realizado ensayos de actividad de APA para evaluar el impacto de la Amastatina sobre la actividad de APA *in vitro* (Figura 3, panel izquierdo). Como se esperaba, 1 µg/ml de APA convierte eficazmente Ang 1-8 en Ang 2-8, lo que da lugar a una tasa de formación de Ang 1-8 de 971 pg de Ang 2-8/ml por minuto. Sorprendentemente, 0,1 µM de Amastatina no afectó la actividad de APA *in vitro*, lo que dio una tasa de formación de Ang 2-8 de 1077 pg de Ang 2-8/ml por minuto. La actividad de APA en plasma humano se evaluó midiendo los niveles de Ang 1-8 en plasma humano heparinizado después de la adición de renina humana recombinante y 60 minutos de incubación *ex vivo* a 37 °C (panel derecho). La adición de 1 µg/ml de APA a la muestra de plasma dio lugar a una reducción significativa de los niveles de Ang 1-8 en comparación con la muestra de control no tratada (146 pg/ml vs. 412 pg/ml). La incubación en presencia de 0,1 µM de Amastatina dio como resultado un aumento notable de los niveles de Ang 1-8 en plasma como se observó en experimentos anteriores (412 pg/ml vs. 752 pg/ml). Sorprendentemente, la presencia de 0,1 µM de Amastatina no afectó la actividad de APA humana en plasma como lo indica la reducción comparable o incluso más fuerte de los niveles de Ang 1-8 por 1 µg/ml de APA en presencia de 0,1 µM de Amastatina (323 pg/ml ml vs. 266 pg/ml sin Amastatina).

Ejemplo 4:

20 **Efectos farmacológicos de la administración combinada de Amastatina y Lisinopril o Captopril sobre los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en ratones Balb/C (Figura 4).**

Procedimientos

25 Se trataron ratones Balb/c hembra de 6 semanas de edad con vehículo (PBS), 50 mg/kg de Lisinopril en PBS, 40 mg/kg de Captopril en PBS, 40 mg/kg de Amastatina en PBS, una combinación de 40 mg/kg de Lisinopril y 40 mg/kg de Amastatina en PBS o una combinación de 40 mg/kg de Captopril y 40 mg/kg de Amastatina en PBS mediante inyección intraperitoneal. Los ratones se sacrificaron 4 h después de la administración del fármaco y la sangre se recogió en presencia de inhibidores de la proteasa adecuados para la estabilización de los péptidos de angiotensina en la muestra recogida. Después de la centrifugación de sangre a 2500 g durante 5 minutos a 4 °C, se cuantificaron Ang 1-8 y Ang 1-7 en las muestras de plasma mediante análisis por LC-MS/MS.

Resultados

30 Los niveles de referencia circulantes de Ang 1-8 y Ang 1-7 en ratones Balb/c fueron 55 pg/ml y menos que 5 pg/ml (LLOQ) respectivamente. El tratamiento con Amastatina dio lugar a una disminución de Ang 1-8 circulante 4 h después de la administración del fármaco, mientras que el nivel de Ang 1-7 no se vio afectado y se mantuvo por debajo del límite de cuantificación inferior de 4 pg/ml. El tratamiento de ratones con los inhibidores de la ACE Lisinopril y Captopril dio lugar a una disminución significativa de los niveles plasmáticos de Ang 1-8 por debajo del límite de cuantificación inferior de 2-3 pg/ml de plasma. No se observó un aumento de Ang 1-7 tras el tratamiento con inhibidores de la ACE después de la administración de inhibidores de la ACE por sí solos. La administración combinada de Amastatina en combinación con Captopril o Lisinopril dio como resultado un aumento sorprendente de los niveles de Ang 1-7 en plasma murino (62 pg/ml y 43 pg/ml respectivamente), mientras que los niveles de Ang 1-8 permanecieron suprimidos por debajo del límite de cuantificación inferior de 2-3 pg/ml de plasma.

40 **Ejemplo 5: Efectos farmacológicos de la administración secuencial de Lisinopril y Amastatina a una rata SHR macho (Figura 5).**

Procedimientos

45 Una rata SHR macho se anestesió con isoflurano seguido de la preparación de la vena yugular y la inserción de un catéter de infusión. Al comienzo del experimento (t = 0 min) se infundieron 200 µl de solución salina tamponada con fosfato en la vena yugular dentro de un periodo de 15 segundos. 10 minutos después de la infusión de solución salina, se recogieron 500 µl de sangre heparinizada de la vena de la cola y se colocaron en hielo. 10 minutos más tarde (t = 20 minutos) se infundió una dosis de 50 µmol/kg de Lisinopril en un volumen de 200 µl de solución salina tamponada con fosfato, seguido de otra recolección de sangre heparinizada en la vena de la cola de 500 µl de sangre de heparina 10 minutos después de la infusión de Lisinopril. Finalmente, 10 minutos después de la recolección de la muestra, se infundieron 20 µmol/kg de Amastatina en la vena yugular en un volumen de 200 µl de solución salina tamponada con fosfato. Después de la recolección final de la muestra (500 µl de sangre heparinizada) 10 minutos después de la infusión de Amastatina, la rata se sacrificó y los órganos se congelaron en nitrógeno líquido para su posterior análisis. Las muestras de sangre heparinizada se equilibraron a 37 °C durante 30 minutos antes de la estabilización con un cóctel inhibidor de la proteasa adecuado para la estabilización de los péptidos de angiotensina (para más información, véase el documento WO 2013/182237). Después de la centrifugación de sangre a 2500 g durante 5 minutos a 4 °C, se cuantificaron Ang 1-8 y Ang 1-7 en las muestras de plasma mediante análisis por LC-MS/MS.

Resultados

10 minutos después de la infusión de solución salina, los niveles de equilibrio de Ang 1-8 eran de 42,7 pg/ml, mientras que los de Ang 1-7 estaban por debajo del límite de cuantificación de 3,4 pg/ml (Figura 5). Tras la infusión de Lisinopril, el nivel de Ang 1-8 se redujo a 21,5 pg/ml, mientras que Ang 1-7 se volvió detectable, alcanzando una concentración de 12,1 pg/ml. En total, la infusión de Amastatina dio como resultado un aumento profundo de Ang 1-7 (4,4 veces) a 53,8 pg/ml, mientras que Ang 1-8 se redujo en forma adicional a 5,5 pg/ml.

Discusión de los Ejemplos 1 a 5

Como se muestra en la Figura 1, la combinación de Amastatina y Lisinopril mejora la eficacia de los efectos antihipertensivos mediados por los inhibidores de la ACE. En comparación con la administración del inhibidor de la ACE por sí solo, la administración conjunta de Amastatina en ratas SHR mejoró sorprendentemente el efecto esperado de disminución de la presión arterial mediado por Lisinopril en más de 67%. Curiosamente, la administración de Amastatina por sí sola resultó en un aumento moderado (no significativo, $p = 0,6$) en la presión arterial, lo que sugiere que un mecanismo desconocido está involucrado en el efecto fisiológico observado. Amastatina es un inhibidor de aminopeptidasa con un amplio panel de dianas moleculares.

Entre las dianas de Amastatina, se ha descrito que la Aminopeptidasa A (APA, EC 3.4.11.7) está involucrada en el metabolismo de la angiotensina. Las angiotensinas son hormonas peptídicas del sistema renina-angiotensina (RAS), siendo un sistema hormonal endocrino que participa en la regulación de la presión arterial y que está presente en el plasma, las células y prácticamente todos los tejidos. Ang 1-8, el péptido efector principal del RAS, es un octapéptido de señalización a través del Receptor AT1 (AT1R). Un RAS hiperactivado y, por lo tanto, un aumento en los niveles de Ang 1-8 están asociados con un aumento de la presión arterial y una variedad de enfermedades cardiovasculares. La aminopeptidasa A está codificada por el gen ENPEP y se ha descrito que es responsable de la degradación de Ang 1-8 *in vivo* e *in vitro*. Por lo tanto, puede esperarse un aumento de la presión arterial en respuesta a la administración de un inhibidor de APA. Sorprendentemente, a pesar de dar como resultado un aumento de los niveles de Ang 1-8 en plasma humano (Figura 2, panel izquierdo), la administración de Amastatina por sí sola a ratas SHR no tuvo un impacto significativo sobre la presión arterial en el modelo experimental de los presentes investigadores (Figura 1).

Los inhibidores de APA se encuentran actualmente bajo investigación para el tratamiento de la hipertensión y se ha demostrado que son eficaces para reducir la presión arterial cuando se administran localmente en el cerebro de las ratas. En contraste con el RAS en plasma, sangre u otros tejidos (RAS "periférico" o "sistémico"), el cerebro exhibe diferencias fisiológicamente importantes en el metabolismo de la angiotensina. Una característica clave del RAS local en el cerebro (RAS "central") es que, en contraste con la periferia, se presume que la angiotensina III (Ang 2-8) y no Ang 1-8 es responsable del aumento de la presión arterial. Ang 2-8 es el producto de la conversión enzimática de Ang 1-8 por APA, lo que explica la justificación para desarrollar un bloqueador de APA centralmente activo para el tratamiento de la hipertensión.

Como consecuencia, este mecanismo ha sido abordado recientemente por un bloqueador de APA dirigido al cerebro (RB150) que se desarrolla actualmente para el tratamiento de la hipertensión en seres humanos (Llorens-Cortes *et al.*, véase, por ejemplo, el documento US 6.340.708). Es importante destacar que el metabolito activo de RB150 (EC-33) no tiene ningún efecto sobre la presión arterial cuando se administra en la periferia mediante inyección intravenosa en ratas y que debe poseer una alta selectividad para APA sobre APN (al menos 100 veces), que es un requisito previo para su eficacia contra la hipertensión a través de la influencia sobre el metabolismo central de la angiotensina.

En contraste con RB150, cuya eficacia se muestra en la reducción de la presión arterial mediante la inhibición de APA por su metabolito activo EC-33 en el cerebro, la ineficacia de Amastatina por sí sola para reducir la presión arterial en ratas SHR, la baja afinidad de Amastatina para APA en comparación con APN (Ahmad and Ward 1990, JPET), así como la falta de actividad inhibitoria de las concentraciones activas de Amastatina contra APA *in vitro* y *ex vivo* (Figura 3), señalan un fenómeno periférico independiente de APA que es responsable del efecto mejorado de una combinación de Amastatina e inhibidores de la ACE sobre la presión arterial en ratas SHR en comparación con el tratamiento con inhibidores de la ACE por sí solos (Figura 1).

Con el fin de dilucidar los mecanismos implicados en la sorprendente eficacia de la combinación de Amastatina y Lisinopril en la disminución de la presión arterial en ratas SHR, se investigó el impacto farmacológico de estos fármacos sobre el RAS humano (Ejemplo 2). Sorprendentemente, la combinación de Amastatina con inhibidores de la ACE da como resultado una potenciación de los niveles de Ang 1-7 en plasma, mientras que los niveles de Ang 1-8 permanecieron suprimidos en comparación con las muestras tratadas con inhibidores de la ACE.

Es sabido que APA está involucrado en la degradación de Ang 1-8. A fin de probar si la inhibición de APA por Amastatina puede ser responsable de los efectos observados en los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 (Figura 2) se ha investigado la capacidad inhibitoria de Amastatina en APA recombinante humana *in vitro* e *in vivo*. Sorprendentemente, 0,1 μM de Amastatina, que mostró efectos masivos sobre los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en sangre humana, no afectó la actividad de APA *in vitro* y *ex vivo*, lo que respalda la presencia de un mecanismo

independiente de APA que puede explicar los sorprendentes efectos de la combinación de Amastatina y Lisinopril en la presión arterial de ratas y los niveles de Ang 1-8 y Ang 1-7 en seres humanos.

5 Se ha informado que Ang 1-7 representa una contraparte funcional para Ang 1-8, que actúa a través del receptor MAS y es responsable de los efectos de disminución de la presión arterial, antiinflamatorios, antifibróticos y antiproliferativos. Por lo tanto, está en el centro del desarrollo del tratamiento contra enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Ferreira 2012, Expert Opin. Ther. Patents).

10 Es sabido que el tratamiento con inhibidores de la ACE está asociado con un aumento en Ang 1-7, lo que dio lugar a especulaciones sobre una acción concertada de los niveles aumentados de Ang 1-7 con los niveles disminuidos de Ang 1-8 subyacentes a la eficacia de los inhibidores de la ACE en el tratamiento de la hipertensión. El profundo impacto de Amastatina en los niveles de Ang 1-7 en el plasma humano, que se observa exclusivamente cuando hay inhibidores de la ACE, es un aspecto previamente desconocido del metabolismo de la angiotensina y que puede representar el mecanismo subyacente a los efectos sorprendentes sobre la presión arterial observados en las ratas SHR (Figura 1). Los resultados obtenidos en el Ejemplo 5 respaldan esta hipótesis, dado que la infusión de Amastatina en ratas SHR por encima de Lisinopril da como resultado un aumento profundo en los niveles de Ang 1-7 ya 10 minutos después de la administración intravenosa de Amastatina. Los mecanismos moleculares exactos que explican los resultados obtenidos en los presentes estudios aún deben dilucidarse adicionalmente y pueden conducir al desarrollo de una nueva clase de medicamentos antihipertensivos y cardiovasculares en el futuro.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende
 - a. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o
 - 5 b. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la quimasa, o
 - c. al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y al menos un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y al menos un inhibidor de la quimasa

para su uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con el sistema renina-angiotensina (RAS) seleccionada de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y una enfermedad cardiovascular.
- 10 2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe una aspartil aminopeptidasa que puede escindir uno o más aminoácidos de extremo N-terminal de Ang 1-5, Ang1-6, Ang 1-7, Ang 1-8, Ang 1-9, y/o Ang 1-10.
3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la enfermedad cardiovascular es hipertensión y/o insuficiencia cardíaca.
- 15 4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la enfermedad neoplásica es cáncer.
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el cáncer se **caracteriza por** un nivel aumentado de Ang II y/o en la que es ventajoso un aumento en el nivel de Ang 1-7.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que
 - 20 a. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE, o
 - b. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la quimasa, o
 - c. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE y el al menos un inhibidor de la quimasa

se combinan en una molécula individual.
- 25 7. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que
 - a. el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es un inhibidor selectivo de aminopeptidasa A, y/o
 - b. El inhibidor de aspartil aminopeptidasa es un inhibidor selectivo de DNPEP.
8. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el inhibidor de aspartil aminopeptidasa es Amastatina o un derivado de la misma.
- 30 9. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el inhibidor de aspartil aminopeptidasa no es Amastatina.
10. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el inhibidor de la ACE es Lisinopril y/o Captopril.
- 35 11. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el efecto farmacológico de dicha composición está mediado por la influencia sobre el RAS.
12. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha composición es para administración sistémica, preferentemente para administración oral.
13. Un kit de partes que comprende
 - 40 a. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), o
 - b. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa, o
 - c. una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y una
 - 45 composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la quimasa

para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperplásica, una enfermedad neoplásica y/o una enfermedad cardiovascular.

14. El kit para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que

- a. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE, o
- 5 b. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la quimasa, o
- c. el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa y el al menos un inhibidor de la ACE y el al menos un inhibidor de la quimasa

se combinan en una molécula individual.

15. El kit para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en el que el al menos un inhibidor de aspartil aminopeptidasa inhibe una aspartil aminopeptidasa que puede escindir uno o más aminoácidos de extremo N-terminal de Ang 1-5, Ang1-6, Ang 1-7, Ang 1-8, Ang 1-9 y/o Ang 1-10.

10

Figura 1

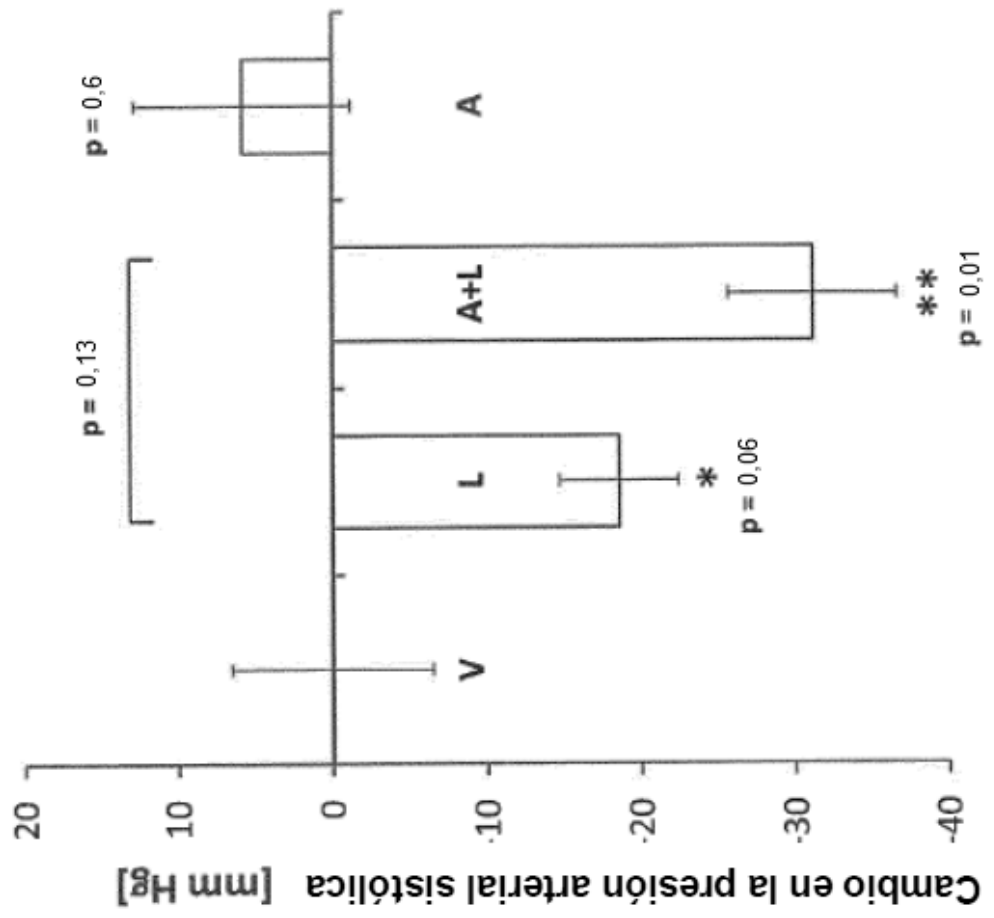


Figura 2

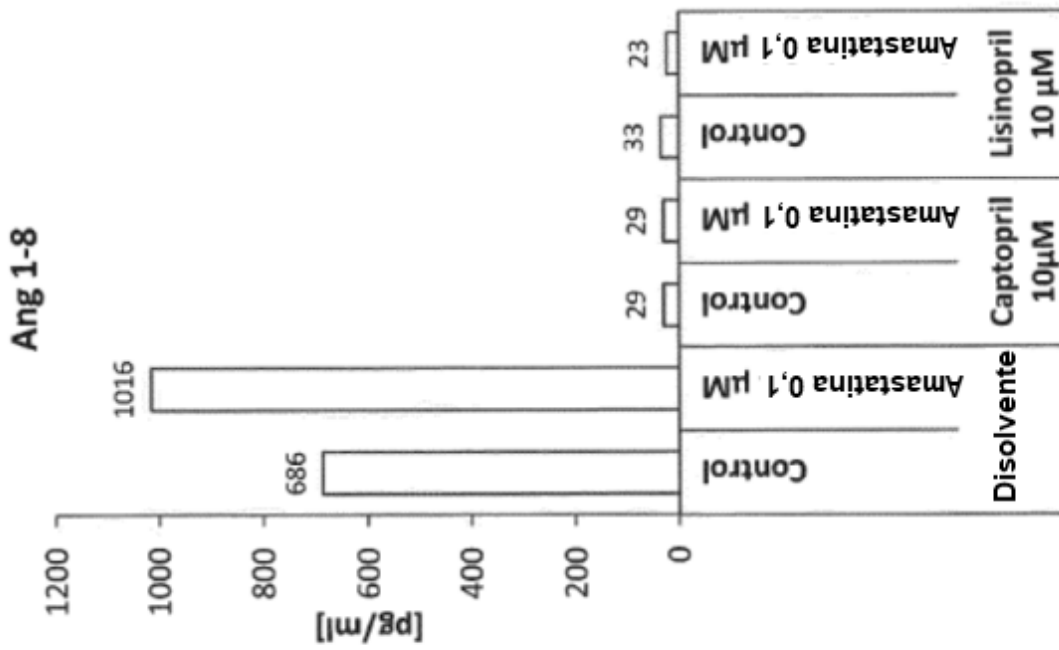
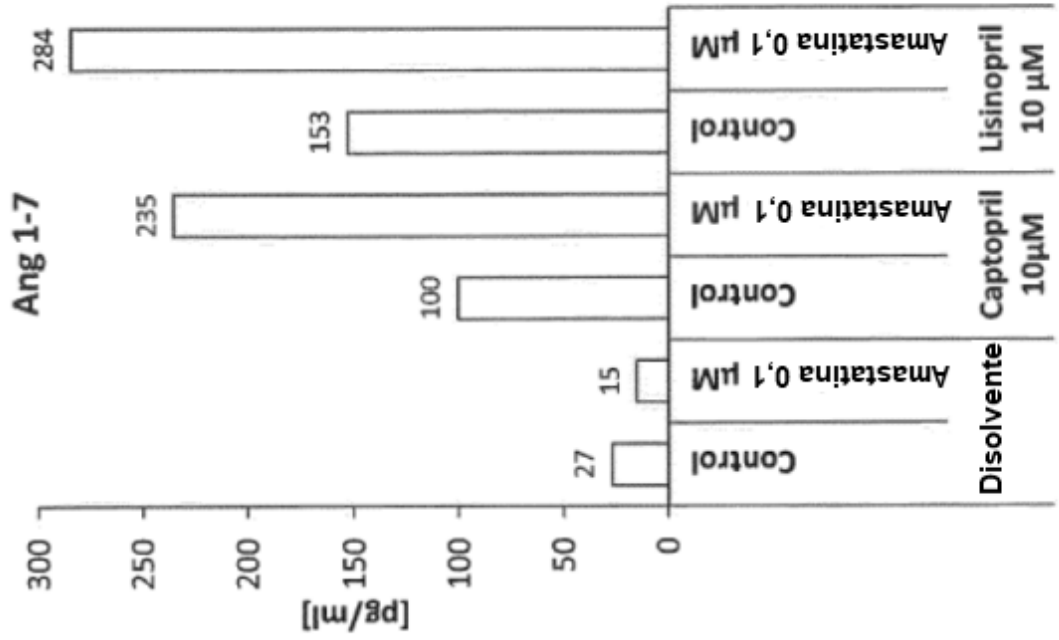


Figura 3

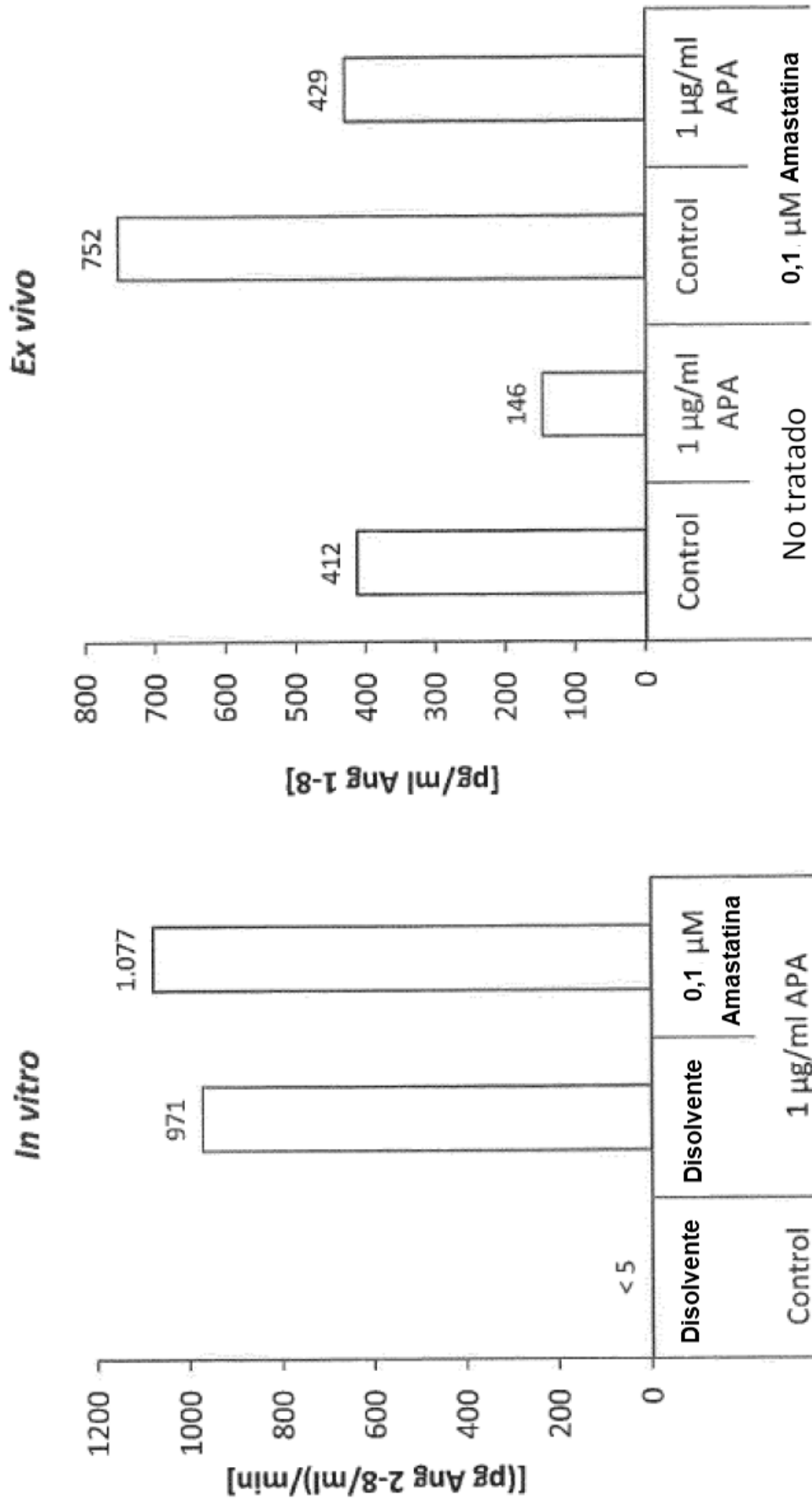


Figura 4

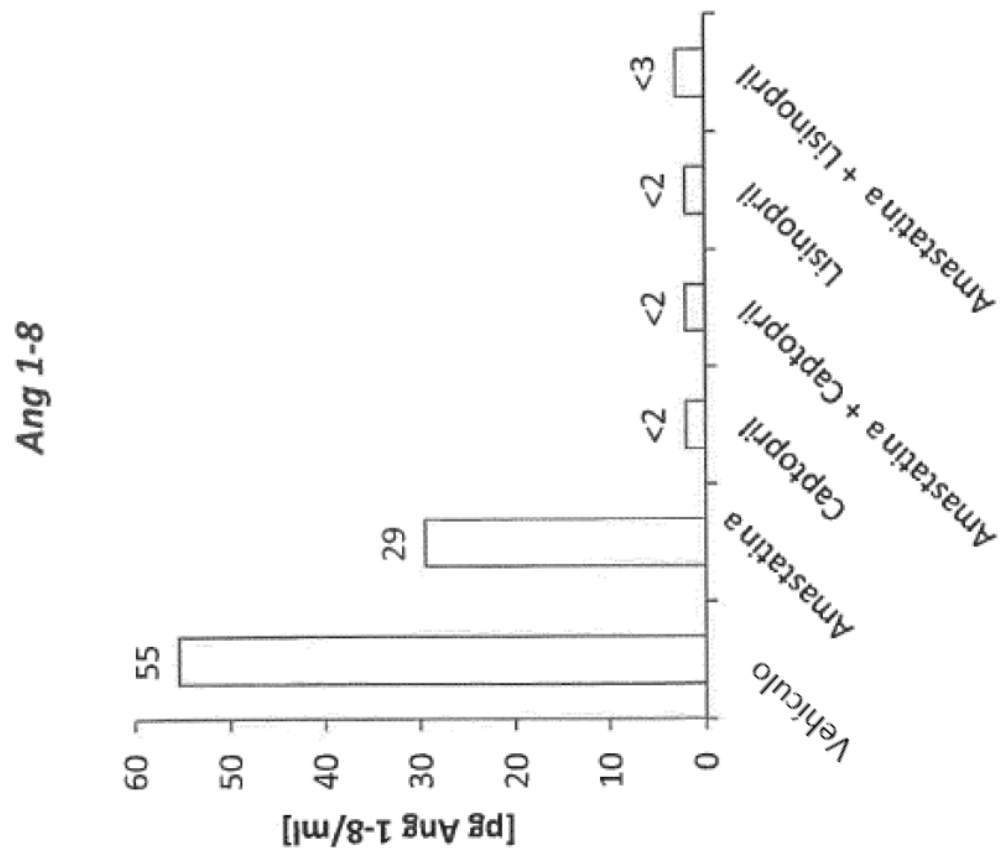
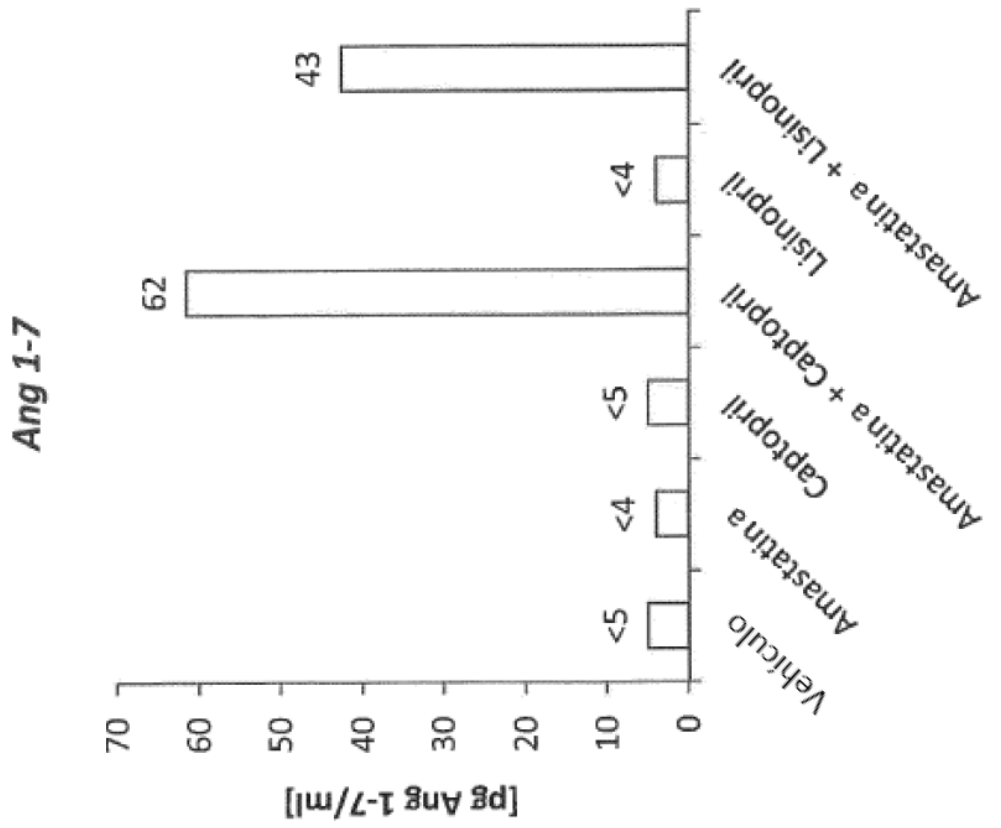


Figura 5

