



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0616949-0 A2**

(22) Data de Depósito: 06/10/2006  
(43) Data da Publicação: 05/07/2011  
(RPI 2113)



**(51) Int.Cl.:**

A61K 38/22 2006.01  
A61K 31/4985 2006.01  
A61P 3/00 2006.01  
A61P 5/50 2006.01  
A61P 9/00 2006.01  
A61P 9/12 2006.01  
C07K 14/595 2006.01  
C12N 9/48 2006.01

(54) Título: **COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UMA COMPOSIÇÃO, E, KIT**

(30) Prioridade Unionista: 07/10/2005 US 60/724.919

(73) Titular(es): WARATAH PHARMACEUTICALS INC.

(72) Inventor(es): Antonio Cruz

(74) Procurador(es): ORLANDO DE SOUZA

(86) Pedido Internacional: PCT CA2006001644 de 06/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/041833 de 19/04/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UMA COMPOSIÇÃO, E, KIT. A invenção se refere às composições, conjugados e métodos para a prevenção e/ou tratamento de uma condição e/ou doença compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina. A combinação de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina provê efeitos benéficos, especificamente, efeitos benéficos sustentados, na prevenção e/ou tratamento de condições e/ou doenças para os quais ou um inibidor de DPP-IV ou um composto de gastrina demonstraram ter um efeito terapêutico, incluindo, mas não limitado a diabetes, hipertensão, insuficiência cardíaca crônica, estados de retenção de fluido, densidade, síndrome metabólica e doenças e distúrbios relacionados. Combinações de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem ser selecionadas para prover efeitos inesperadamente aditivos ou efeitos sinérgicos.

**COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UMA COMPOSIÇÃO, E, KIT****CAMPO DA INVENÇÃO**

A invenção se refere geralmente às composições conjugados, e métodos compreendendo um inibidor de dipeptidilpeptidase-IV (DPP-IV) e um composto de gastrina, e usos dos mesmos. Especificamente, a invenção se refere a uma combinação, (por exemplo, uma preparação combinada ou composição farmacêutica) que compreende um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para uso simultâneo, separado ou sequencial, especialmente na prevenção, retardo da progressão ou tratamento de condições para os quais um inibidor de DPP-IV ou composto de gastrina tem um efeito terapêutico; o uso de tal combinação para a preparação de uma composição farmacêutica para a prevenção, retardo da progressão ou tratamento de tais condições; e um método de prevenção, retardo da progressão ou tratamento de tais condições.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

Diabetes melito não-dependente de insulina (ou diabetes do Tipo 2) é caracterizada pelo aumento da resistência à insulina periférica aumentada e secreção de insulina anormal. Glicose, aminoácidos e peptídeos gastrointestinais são conhecidos como estimulando a secreção da insulina. Inibidores da enzima de dipeptidilpeptidase-IV (DPP-IV) estão sob investigação como drogas que podem ser úteis no tratamento da diabetes, e particularmente diabetes do Tipo 2. O DPP-IV atua in vivo mediante inativação de incretinas tal como peptídeo semelhante a glucagon-1 (GLP-1) e peptídeos inibidores

gástricos (GIP). GLP-1 e GIP são produzidos quando alimento é consumido e eles estimulam a produção de insulina. A inibição de DPP-IV conduz a uma inativação diminuída das incretinas, resultando em eficácia aumentada das incretinas para estimular a insulina. A inibição de DPP-IV, portanto, resulta em níveis aumentados de insulina de soro em um indivíduo.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É revelada aqui a combinação de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para uso na prevenção e/ou tratamento de condições e/ou doenças para as quais um inibidor de DPP-IV ou um composto de gastrina tem um efeito terapêutico, incluindo, mas não limitado a diabetes, mais particularmente diabetes melito do Tipo II, condições de tolerância à glicose prejudicada (IGT), condições de glicose de plasma em jejum prejudicada, acidose metabólica, citose, artrite, hipertensão, falha cardíaca crônica, estados de retenção de fluido, obesidade, obesidade de síndrome metabólica, dislipidemia, osteoporose, e doenças e distúrbios relacionados. Combinações de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem ser selecionadas para produzir efeitos aditivos ou maiores do que os efeitos aditivos, isto é, efeitos sinérgicos.

A estratégia terapêutica da presente invenção se refere à modificação de múltiplos processos patofisiológicos utilizando combinações inovadoras de compostos que têm mecanismos de ação aditivos ou sinérgicos, complementares distintos para prover tratamentos seguros e eficazes para condições e/ou doenças aqui reveladas. As composições, conjugados, ou métodos

compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina empregando diferentes mecanismos para se obter eficácia terapêutica máxima, podem melhorar a tolerância à terapia com um risco reduzido de efeitos colaterais que podem resultar de doses maiores ou monoterapias de prazos mais longos (isto é, terapias com cada composto isoladamente). Uma composição, conjugado, ou método da invenção pode permitir o uso de doses inferiores de um ou de ambos os compostos com efeitos tóxicos adversos reduzidos de cada composto. Uma dosagem subótima pode prover uma margem aumentada de segurança, e também pode reduzir o custo de uma droga necessária para se obter profilaxia e terapia. Em certos aspectos da invenção, a conveniência aumentada de uma única unidade de dosagem combinada pode resultar em aquiescência melhorada. Outras vantagens de uma composição, conjugado, ou terapia combinada pode incluir estabilidade superior no sentido de degradação e metabolismo, duração de ação mais longa, e/ou duração de ação mais longa ou eficácia em doses particularmente baixas.

Em termos gerais, a invenção se refere às composições, conjugados, e métodos para a prevenção e/ou tratamento de uma condição e/ou doença compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina.

Em um aspecto, a invenção se refere às composições, conjugados e métodos para a prevenção e/ou tratamento de uma condição e/ou doença aqui revelada compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto

de gastrina que proporciona um ou mais efeitos benéficos.

Em um aspecto, a invenção se refere às composições, conjugados, e métodos para a prevenção e/ou tratamento de diabetes em um indivíduo recebendo insulina  
5 compreendendo quantidades terapeuticamente eficazes de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina que proporciona um ou mais efeitos benéficos.

Uma composição, conjugado, ou método da invenção pode prover os efeitos benéficos especificamente os efeitos  
10 benéficos sustentados após tratamento ou término de tratamento. Efeitos benéficos podem ser evidenciados pela produção aumentada de C-peptídeo, aumentos na produção de insulina pancreática, e/ou níveis de glicose sangüínea, aproximadamente normais em comparação com um inibidor de  
15 DPP-IV, ou composto de gastrina isoladamente.

Em um aspecto, a invenção considera uma composição, preferivelmente uma composição farmacêutica, compreendendo quantidades terapeuticamente eficazes de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina.  
20 gastrina. Em outro aspecto a invenção provê uma composição farmacêutica compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina que proporciona efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados, após tratamento. Uma composição farmacêutica  
25 pode compreender opcionalmente um carreador, excipiente, ou veículo farmacêuticamente aceitável.

Em outro aspecto, a invenção se refere a uma combinação, tal como uma preparação combinada ou composição farmacêutica, compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-  
30 IV e pelo menos um composto de gastrina, e pelo menos um

carreador, excipiente ou veículo adicional farmacêuticamente aceitável.

5 A invenção também considera uma composição farmacêutica em recipientes separados e destinada à administração simultânea ou seqüencial preferivelmente para prover efeitos benéficos, mais preferivelmente efeitos benéficos sustentados, compreendendo um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, ambos opcionalmente juntos com carreadores, excipientes ou veículos farmacêuticamente  
10 aceitáveis.

A invenção considera adicionalmente um conjugado compreendendo um inibidor de DPP-IV interagindo com ou vinculado a um composto de gastrina preferivelmente para prover efeitos benéficos, mais preferivelmente efeitos  
15 benéficos sustentados.

Em um aspecto a invenção se refere a uma combinação medicinal de princípios ativos, tendo, conjuntamente, uma ação complementar e/ou sinérgica, isso sendo para o tratamento da diabetes, especificamente da  
20 diabetes do Tipo I.

Em um aspecto a invenção se refere a uma combinação medicinal de princípios ativos, tendo, conjuntamente, uma ação complementar e/ou sinérgica, isso sendo para o tratamento da diabetes, especificamente da  
25 diabetes do Tipo II.

A invenção ainda considera adicionalmente os métodos para preparar as composições e conjugados da invenção que resultam em composições e conjugados preferivelmente com efeitos benéficos, mais preferivelmente  
30 efeitos benéficos sustentados.

Em um aspecto da invenção, é provido um método para preparar uma composição farmacêutica estável de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina preferivelmente adaptado para prover efeitos vantajosos, mais preferivelmente efeitos benéficos sustentados, após tratamento, compreendendo preparar uma composição compreendendo o inibidor de DPP-IV, um composto de gastrina, e um carreador, excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável preferivelmente eficaz para estabilizar fisicamente o inibidor de DPP-IV.

Em outro aspecto da invenção, é provido um método para preparar uma composição farmacêutica estável de um inibidor de DPP-IV compreendendo misturar um inibidor de DPP-IV, um composto de gastrina, e um carreador, excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável eficaz para fisicamente estabilizar o inibidor de DPP-IV e adaptado preferivelmente para prover efeitos benéficos, mais preferivelmente efeitos benéficos sustentados.

A invenção se refere a um tratamento combinado para prevenir e/ou tratar uma condição e/ou doença discutida aqui em um indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para preferivelmente prover efeitos benéficos. Em um aspecto a invenção provê um tratamento combinado ou intervenção que provê efeitos benéficos sustentados após tratamento.

A invenção se refere adicionalmente ao uso de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, uma composição, ou conjugado da invenção para prevenir, e/ou aliviar a gravidade da doença, sintomas de doença, e/ou a

periodicidade de recorrência de uma condição e/ou doença aqui descrita. A invenção se refere ainda adicionalmente à prevenção e/ou tratamento, em um indivíduo, de doenças e/ou condições utilizando um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, uma composição, ou conjugado da invenção.

Em um aspecto, a invenção provê um método para a prevenção e/ou intervenção de uma condição e/ou doença aqui discutida em um indivíduo compreendendo administração de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina, ou uma composição ou conjugado da invenção. Um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, composição ou conjugado pode ser diretamente administrado a um indivíduo ou contatado com células (por exemplo, células-tronco ou células progenitoras) e administrado a um indivíduo.

A invenção provê em alguns aspectos os métodos para a potenciação de um composto de gastrina no tratamento de uma condição e/ou doença em um indivíduo, especificamente diabetes e doenças, distúrbios ou condições relacionadas, compreendendo a administração conjunta de pelo menos um composto de gastrina e de pelo menos um inibidor de DPP-IV ao indivíduo.

A invenção provê em alguns aspectos os métodos para a potenciação de um inibidor de DPP-IV no tratamento de uma condição e/ou doença em um indivíduo, especificamente a diabetes e doenças, distúrbios ou condições relacionadas, compreendendo a administração conjunta de um ou de ambos de pelo menos um composto de gastrina e pelo menos um inibidor de DPP-IV ao indivíduo.

Em outros aspectos, a invenção provê um método para a prevenção e/ou intervenção de uma condição e/ou



doença aqui discutida em um indivíduo compreendendo administração de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina a um indivíduo precisando do mesmo para prover efeitos benéficos.

5           Em outro aspecto, a invenção provê um método para a prevenção e/ou intervenção de uma condição e/ou doença aqui discutida em um indivíduo compreendendo administração conjunta de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina a um indivíduo precisando do mesmo.

10           Em um aspecto específico, a invenção se refere à indução de neogênese de ilhotas em um indivíduo compreendendo contatar células precursoras de ilhotas com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, composição, ou conjugado da invenção em uma quantidade  
15 suficiente para aumentar a proliferação das células precursoras de ilhotas no indivíduo desse modo induzindo a neogênese de ilhotas.

          Em outro aspecto, a invenção se refere a um método para tratar o diabetes melito, especificamente o  
20 diabetes do Tipo II, em um paciente precisando do mesmo mediante administração de um composto de gastrina e um inibidor de DPP-IV ou uma composição compreendendo um composto de gastrina e um inibidor de DPP-IV em uma quantidade suficiente para realizar a diferenciação das  
25 células precursoras de ilhotas pancreáticas do paciente em relação às células secretando insulina maduras e/ou para estimular a síntese de insulina nas células de ilhotas existentes.

          Em uma modalidade, a invenção se refere aos  
30 métodos de aumentar, preservar, ou reduzir a taxa de perda

em secreção de insulina em um indivíduo compreendendo administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e de um composto, composição, ou conjugado de gastrina da invenção a um indivíduo precisando da mesma.

Em outra modalidade, a invenção se refere aos métodos de aumentar, preservar, ou reduzir a taxa de perda da função da célula- $\beta$ , em um indivíduo, compreendendo administrar quantidades terapeuticamente efetivas de inibidor de DPP-IV e de composto; composição; ou conjugado de gastrina da invenção, a um indivíduo precisando delas.

Em outra modalidade, a invenção se refere aos métodos de aumentar, preservar, ou reduzir a taxa de perda em número e/ou tamanho de células- $\beta$  em um indivíduo compreendendo administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto; composição; ou conjugado de gastrina da invenção a um indivíduo precisando delas.

Em uma modalidade, a invenção se refere ao tratamento de doenças se beneficiando de um aumento, preservação, ou redução na taxa de perda de secreção de insulina em um indivíduo compreendendo administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto; composição; ou conjugado de gastrina da invenção a um indivíduo precisando delas.

Em uma modalidade, a invenção se refere ao tratamento de doenças se beneficiando de um aumento, preservação, ou redução na taxa de perda da função de célula- $\beta$  em um indivíduo compreendendo administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de

DPP-IV e um composto; composição; ou conjugado de gastrina da invenção a um indivíduo precisando do mesmo.

Em uma modalidade, a invenção se refere ao tratamento de doenças se beneficiando de um aumento, preservação, ou redução na taxa de perda em número e/ou tamanho de células- $\beta$  em um indivíduo compreendendo a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto, composição ou conjugado de gastrina da invenção a um indivíduo precisando do mesmo.

A invenção provê métodos para tratar células utilizando um inibidor de DPP-IV e um composto, ou composições ou conjugados de gastrina da invenção. Especificamente, a invenção se refere a um método para expandir e diferenciar as células-tronco ou células progenitoras em células de secreção de insulina, melhorando a proliferação das células de secreção de insulina, e/ou sustentando células de ilhotas ou células precursoras. As células podem ser contatadas com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina em cultura ou em um indivíduo.

Em um aspecto, é provido um método para tratar uma condição e/ou doença compreendendo administrar um inibidor de DPP-IV e um composto, uma composição ou conjugado de gastrina da invenção, com uma pluralidade de células a um indivíduo precisando das mesmas para desse modo produzir efeitos benéficos, mais preferivelmente efeitos benéficos sustentados. Em uma modalidade, os compostos/composições/conjugado são administrados sistemicamente.

Em outro aspecto, a invenção provê um método para

tratar um indivíduo com uma condição e/ou doença discutida aqui compreendendo contatar ex vivo uma pluralidade de células com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, ou uma composição ou conjugado da invenção, 5 opcionalmente cultivando as células, e administrando as células ao indivíduo precisando das mesmas.

Também são providos em aspectos específicos da invenção os métodos e as composições para tratar o diabetes em um paciente precisando dos mesmos mediante implante em 10 células de ilhotas pancreáticas do paciente diabético que foram expostas em cultura a uma quantidade suficiente de um composto de gastrina e um DPP-IV, ou uma composição ou conjugado da invenção, para aumentar o número de células- $\beta$  pancreáticas nas ilhotas; opcionalmente a população de 15 células- $\beta$  pancreáticas pode ser desenvolvida em cultura por um tempo suficiente para expandir a população de células- $\beta$  antes do transplante.

A invenção também considera o uso de uma composição compreendendo uma combinação de pelo menos um 20 inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para a preparação de um ou mais medicamentos para prevenir e/ou tratar uma condição e/ou doença. A invenção considera adicionalmente o uso de um inibidor de DPP-IV em combinação com um composto de gastrina para a fabricação de um 25 medicamento para o tratamento de uma condição e/ou doença. Ainda adicionalmente a invenção provê o uso de um inibidor de DPP-IV para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma condição e/ou doença a ser usado em combinação com um composto de gastrina. Além disso, a 30 invenção provê o uso de um inibidor de DPP-IV em combinação

com um composto de gastrina para a fabricação de um medicamento para aumentar, preservar ou reduzir a perda de secreção de insulina, perda da função de célula- $\beta$ , ou o número e/ou o tamanho das células- $\beta$  em um indivíduo.

5                Em um aspecto, a invenção se refere ao uso de quantidades de aditivo, complementares, ou sinergisticamente eficazes de pelo menos um DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para a preparação de um medicamento para prevenir ou tratar uma condição e/ou  
10                doença. Em outro aspecto, a invenção se refere ao uso de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para a preparação de um medicamento o qual tem um perfil de ação prolongada. A invenção adicionalmente provê usos de uma composição farmacêutica e de um conjugado da invenção na  
15                preparação de medicamentos para a prevenção e/ou tratamento de condições e/ou doenças. Os medicamentos proporcionam efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados após o tratamento.

                 A invenção também se refere ao uso de uma  
20                combinação ou composição da invenção para o tratamento cosmético de um indivíduo para afetar uma perda cosmeticamente benéfica de peso corpóreo, e a um método de melhorar a aparência corpórea de um indivíduo.

                 As composições ou os métodos aqui descritos podem  
25                opcionalmente incluir outros agentes tais como compostos anti-diabéticos, agentes imunossuppressores, agentes anti-obesidade, agentes anti-diabéticos, drogas reguladoras de apetite, agentes anti-hipertensivos, e agentes para o tratamento e/ou prevenção de complicações resultantes de ou  
30                associadas a uma condição e/ou doença. Em um aspecto da

invenção, o outro agente é um composto PPAR, e uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto PPAR é administrada separadamente ou em conjunto com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

5           Como a presente invenção se refere a um método de prevenção e/ou tratamento compreendendo uma combinação de agentes ativos que podem ser administrados separadamente ou como conjugados, a invenção também provê um kit compreendendo um inibidor de DPP-IV e um composto de  
10 gastrina, e uma composição farmacêutica, ou conjugado da invenção na forma de kit. Em um aspecto, a invenção provê um método de promover vendas de uma composição ou kit da invenção compreendendo a distribuição pública de informação de que a administração da composição ou kit é associada à  
15 proliferação de célula- $\beta$  e/ou neogênese de ilhotas.

Esses e outros aspectos, características e vantagens da presente invenção devem ser evidentes para aqueles versados na técnica a partir da descrição detalhada seguinte.

## 20           DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

### Glossário

A recitação das faixas numéricas mediante pontos finais inclui aqui todos os números e frações incluídos naquela faixa (por exemplo, 1 a 5 inclui 1, 1,5, 2, 2,75,  
25 3, 3,90, 4, e 5). Também deve ser entendido que todos os números e frações dos mesmos presumivelmente devem ser modificados pelo termo "aproximadamente".

Além disso, deve ser entendido que "um", "uma", e "o" incluem referentes no plural a menos que o conteúdo  
30 claramente determine o contrário. Desse modo, por exemplo,

referência a "um composto" inclui uma mistura de dois ou mais compostos. Desse modo, a frase "um inibidor de DPP-IV", conforme aqui usado também significa "um ou mais inibidores de DPP-IV" ou "pelo menos um inibidor de DPP-IV". A frase "um composto de gastrina", conforme aqui usado também pode significar "um ou mais compostos de gastrina" ou "pelo menos um composto de gastrina".

O termo "aproximadamente" significa mais ou menos 0,1 a 50%, 5-50%, ou 10-40%, preferivelmente 10-20%, mais preferivelmente 10% ou 15%, do número ao qual se fez referência.

Compostos selecionados aqui descritos contêm um ou mais centros assimétricos e podem promover enantiômeros, diasteriômeros, e outras formas estereoisoméricas que podem ser definidas em termos de estereoquímica absoluta como (R)- ou (S)-. Portanto, a invenção inclui tais diasteriômeros e enantiômeros possíveis assim como suas formas racêmicas e opticamente puras. Isômeros opticamente ativos (R)- e (S) podem ser preparados utilizando tons quirais ou reagentes quirais, ou resolvidos utilizando técnicas convencionais. Quando os compostos aqui descritos contêm centros de assimetria geométrica, e a menos que de outro modo especificado, pretende-se que os compostos incluam ambos os isômeros geométricos (E) e (A). Pretende-se que todas as formas tautoméricas sejam incluídas no escopo da invenção.

Os termos "indivíduo", "sujeito" ou "paciente" se referem a um animal incluindo um animal de sangue quente tal como um mamífero, o qual é afligido ou que se suspeita tenha ou é predisposto a uma condição e/ou doença aqui

revelada. Preferivelmente, os termos se referem a um ser humano. Os termos também incluem raças de animais domésticos para alimentação, esporte, ou como animais de estimação, incluindo cavalos, vacas, ovelhas, aves, peixes, 5 porcos, gatos, cães e animais de zoológico. Os métodos aqui apresentados para uso em sujeitos/indivíduos/pacientes consideram uso profilático assim como uso curativo. Indivíduos típicos para tratamento incluem as pessoas suscetíveis a, sofrendo de, ou que sofreram de uma condição 10 e/ou doença aqui discutida.

O termo "carreador, excipiente, ou veículo farmacêuticamente aceitável" se refere a um meio que não interfere com a eficácia ou atividade de um ingrediente ativo e que não é tóxico aos hospedeiros aos quais ele é 15 administrado. Um carreador, excipiente, ou veículo inclui diluentes, aglutinantes, adesivos, lubrificantes, desintegradores, agentes de aumento de volume, agentes de umedecimento ou emulsificantes, agentes de tamponamento de pH, e materiais variados tais como absorventes que podem 20 ser necessários para se preparar uma composição específica. O uso de tais meios e agentes para uma substância ativa é conhecido na técnica. Em certos aspectos da invenção, um carreador, excipiente, ou veículo é selecionado para estabilizar um inibidor de DPP-IV e/ou um composto de 25 gastrina.

"Sal(is) farmacêuticamente aceitável", significa um sal que é farmacêuticamente aceitável e tem as propriedades farmacológicas desejadas. Por sais farmacêuticamente aceitáveis se quer dizer aqueles sais que 30 são adequados para uso em contato com os tecidos de um



indivíduo ou paciente sem toxicidade indevida, irritação, resposta alérgica e semelhante, e são compatíveis com uma relação razoável de benefício/risco. Sais farmacologicamente aceitáveis são descritos, por exemplo, em S. M. Berge, et al., J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1. Sais adequados incluem os sais que podem ser formados onde prótons acídicos nos compostos são capazes de reagir com bases inorgânicas ou orgânicas. Sais inorgânicos adequados incluem aqueles formados com metais alcalinos, por exemplo, sódio e potássio, magnésio, cálcio, e alumínio. Sais orgânicos adequados incluem aqueles formados com bases orgânicas tais como as bases de amina, por exemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, e semelhantes. Sais adequados incluem também os sais de adição de ácido formados com ácidos inorgânicos (por exemplo, ácidos hidrobromicos e hidrocloreto) e ácidos orgânicos (por exemplo, ácido acético, ácido nítrico, ácido maléico, e os ácidos alcano- e areno- sulfônicos tal como ácido metanossulfônico e ácido benzenossulfônico). Quando existem dois grupos acídicos presentes, um sal farmacologicamente aceitável pode ser um mono-ácido-mono-sal ou um di-sal; e similarmente onde existem mais do que dois grupos acídicos presentes alguns ou todos os tais grupos podem ser salificados.

Os termos "prevenindo e/ou tratando", "prevenção e/ou tratamento", ou "prevenção e/ou intervenção" se referem à administração a um indivíduo de agentes biologicamente ativos seja antes ou após o início de uma condição e/ou doença. Um tratamento pode ser realizado seja de uma forma aguda ou em uma forma crônica.

Especificamente, a prevenção inclui o manejo e cuidado de um indivíduo correndo risco de desenvolver uma condição e/ou doença discutida aqui antes do início clínico da condição e/ou doença. Tratamento ou intervenção se refere  
5 ao manejo e cuidado de um indivíduo no diagnóstico ou posteriormente. Um objetivo da prevenção, tratamento ou intervenção é o de combater a condição e/ou doença e inclui administração dos compostos ativos para prevenir ou retardar o início dos sintomas ou complicações, ou aliviar  
10 os sintomas ou complicações, ou eliminar ou parcialmente eliminar a condição e/ou doença.

Um "efeito benéfico" se refere a um efeito de uma combinação de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, uma composição ou conjugado do mesmo, que difere  
15 ou é superior ao efeito de qualquer um dos compostos individualmente. O efeito benéfico inclui efeitos farmacológicos e/ou terapêuticos, favoráveis, e propriedades farmacocinéticas e/ou atividades biológicas, aperfeiçoadas. Um efeito benéfico pode ser um efeito  
20 complementar, um efeito aditivo ou efeito sinérgico. Nas modalidades preferidas da invenção, efeitos benéficos incluem, mas não são limitados aos seguintes: inflamação de ilhotas reduzida ou ausente, progressão diminuída da doença, sobrevivência aumentada, ou eliminação ou parcial  
25 eliminação de uma condição e/ou doença. Em uma modalidade mais preferida, o efeito benéfico é um "efeito benéfico sustentado" onde o efeito benéfico é sustentado por um período de tempo prolongado após término do tratamento. Em uma modalidade, um ou mais dos efeitos anteriormente  
30 mencionados são sustentados por um período de tempo

prolongado após término do tratamento. Um efeito benéfico pode ser sustentado por pelo menos aproximadamente 2, 4, 6, 8, 10, 2 a 4 semanas, 2 a 6 semanas, 2 a 8 semanas, 2 a 12 semanas, 2 a 24 semanas, 2 semanas a 12 meses, e 2 semanas a 18 meses após o tratamento. O período de tempo em que um efeito benéfico é sustentado pode estar correlacionado à duração e temporização do tratamento. Um indivíduo pode ser tratado continuamente por aproximadamente 2 a 8 semanas, 2 a 12 semanas, 2 a 16 semanas, 2 semanas a 6 meses, 2 semanas a 12 meses, ou periodicamente. Um efeito benéfico sustentado pode se manifestar como um ou mais de produção aumentada de C-peptídeo, produção aumentada de insulina pancreática, níveis de glicose sanguínea, aproximadamente normais, ou baixos, por um período prolongado após tratamento, produção aumentada de célula beta e/ou inibição de morte de célula programada (apoptose), ou redução no uso de insulina em um indivíduo.

O efeito benéfico pode ser um efeito estatisticamente significativo em termos de análise estatística de um efeito dos dois compostos versus os efeitos de cada um dos compostos. Efeitos ou níveis "estatisticamente significativos" ou "significativamente diferentes" com dois compostos comparados com cada composto isoladamente podem representar níveis que são superiores ou inferiores a um padrão. Nas modalidades da invenção, a diferença pode ser 1,5, 2, 3, 4, 5 ou 6 vezes superiores, ou inferiores, em comparação com o efeito obtido com cada composto isoladamente.

Um "efeito aditivo" de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina se refere a um efeito que é igual à

soma dos efeitos dos dois compostos individuais.

Um "efeito sinérgico" de um inibidor DPP-IV e de um composto de gastrina se refere a um efeito que é superior ao efeito aditivo que resulta da soma dos efeitos dos dois compostos individuais.

"Tratamento combinado", "terapia combinada", e "administração em combinação" são usados aqui permutavelmente e significam que os ingredientes ativos são administrados simultaneamente a um paciente sendo tratado. Quando administrados em combinação cada componente pode ser administrado ao mesmo tempo, ou seqüencialmente em qualquer ordem em diferentes pontos em tempo. Portanto, cada componente pode ser administrado separadamente, porém suficientemente próximo em tempo para prover o efeito desejado, especificamente um efeito benéfico, mais particularmente um efeito aditivo, ou sinérgico. O primeiro composto pode ser administrado em um regime que compreende adicionalmente o tratamento com o segundo composto. Em certas modalidades, o termo se refere à administração de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina a um paciente dentro de um ano, incluindo administração separada de dois medicamentos cada um deles contendo um dos compostos assim como administração simultânea sejam ou não os dois compostos combinados em uma formulação ou se os dois são formulações separadas.

Um "medicamento" se refere a uma composição farmacêutica adequada para administração de um composto(s) farmaceuticamente ativa (por exemplo, um inibidor de DPP-IV e/ou um composto de gastrina) a um paciente.

"Quantidade terapeuticamente efetiva" se refere a

uma quantidade ou dose de compostos ativos (por exemplo, inibidor de DPP-IV ou composto de gastrina), composições ou conjugados da invenção que levarão a um ou mais efeitos benéficos desejados, preferivelmente um ou mais efeitos benéficos sustentados. Uma "quantidade terapeuticamente efetiva" pode prover uma dosagem que é suficiente para que a prevenção e/ou tratamento de um indivíduo seja eficaz em comparação com nenhum tratamento.

"Quantidade sinergisticamente eficaz" se refere à quantidade, dosagem ou dose de compostos ativos (por exemplo, inibidor de DPP-IV e composto de gastrina), composições ou conjugados da invenção que proporcionarão um efeito sinérgico, especificamente um efeito sinérgico benéfico.

A expressão "ação complementar" ou "efeito complementar" se refere à ação farmacológica de um, dois ou mais compostos diferentes, possibilitando atuar na mesma patologia por intermédio de diferentes mecanismos farmacológicos, por exemplo, o uso combinado de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina.

O termo "potenciação" se refere a um aumento de uma atividade farmacológica correspondente ou efeito terapêutico. A potenciação de um componente de uma combinação ou composição da presente invenção mediante administração conjunta dos outros componentes de acordo com a presente invenção significa que um efeito está sendo obtido o qual é superior àquele obtido apenas com um dos componentes.

"Dose subótima" ou "dosagem subótima" se refere a uma quantidade, dose ou dosagem de um componente ativo que

é inferior à quantidade ótima, dose ou dosagem para aquele composto quando usado em monoterapia.

Os termos "associados", "ligados", "interagem", "interação", ou "interagindo" se referem a qualquer  
5 associação física entre moléculas. Os termos se referem preferivelmente a uma associação estável entre duas moléculas devido, por exemplo, às interações eletrostáticas, hidrofóbicas, iônicas, de ligação de hidrogênio, ou interações covalentes.

10 No presente contexto, um "inibidor de DPP-IV" é um antagonista de um dipeptidilpeptidase-IV (DPP-IV) ou outro membro da família de peptidases de serina que inclui dipeptidase de prolina de célula quiescente, DPP8, e DPP9. Um inibidor de DPP-IV pode apresentar inibição da atividade  
15 enzimática de DPP-IV e enzimas funcionalmente relacionadas, tal como inibição a partir de 1-100%, e especialmente preservar a ação das moléculas de substrato, incluindo, porém não limitado a GLP-1, GIP, peptídeo histidina metionina, e outras moléculas similares. Um inibidor de DPP  
20 IV pode afetar indiretamente os níveis de GLP-1 (Hughes, T. et al., 2002, Am I Diabetes Assoc Abstract 272) mediante inibição de uma enzima envolvida em sua integridade. Um inibidor de DPP-IV pode ser um composto de peptídeo ou composto de não-peptídeo; especificamente o inibidor de  
25 DPP-IV é um composto de não-peptídeo.

O termo "inibidor de DPP-IV" também pretende compreender metabólitos ativos e pró-drogas de um inibidor de DPP-IV, tal como os metabólitos ativos e pró-drogas de inibidores de DPP-IV. Um "metabólito" se refere a um  
30 derivado ativo de um inibidor de DPP-IV produzido quando o

inibidor de DPP-IV é metabolizado. Uma "pró-droga" se refere a um composto que ou é metabolizado para um inibidor de DPP-IV ou é metabolizado para o mesmo metabólito(s) como um inibidor de DPP-IV. Os inibidores incluem também  
5 estereoisômeros correspondentes assim como polimorfos, por exemplo, modificações de cristal.

Inibidores de DPP-IV representativos são relacionados na Tabela 1. Os inibidores de DPP-IV são em cada caso genericamente e especificamente revelados no  
10 documento ou publicação de patente citada. Qualquer uma das substâncias reveladas nos documentos e publicações de patente citados na Tabela 1 (e os documentos citados aqui) são consideradas potencialmente úteis como inibidores de DPP-IV para serem usados na execução da presente invenção.

15 Exemplos específicos de inibidores de DPP-IV incluem, mas não são limitados a, derivados de dipeptídeo ou dipeptídeos miméticos tal como alanina-pirrolidida, isoleucina-tiazolidida, e o pseudosubstrato N-valil prolil, O-benzoil hidroxilamina.

20 Em aspectos específicos da invenção, o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina (Januvia®) [Merck & Co.], Vildagliptina (LAF 237, Galvus®) [Novartis], PSN9301, Saxagliptina (BMS-477118) [Bristol Myers Squibb]; N-(N'-glicil substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil  
25 tiazolidina, L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, isoleucina tiazolidida, valina pirrolidida, NVP-DPP738 (Novartis, Cambridge, MA), P32/98 (Probiodrugs AG, Halle, Alemanha), P93/01 (Probiodrugs), e L-alo-isoleucil pirrolidina descrita na Patente US 6.001.155; WO  
30 99/61431; WO 99/67278; WO 99/67279; DE 198 34 591; WO

97/40832; DE 196 16 486 C2; WO 98/19998; WO 00/07617; WO 99/38501; e WO 99/46272; e US20050222221, e opcionalmente em qualquer caso seus sais farmacêuticos.

Inibidores de DPP-IV específicos para as  
5 combinações, usos, métodos e kits da presente invenção são 1-{2-[(5-cianopiridina-2-il) amino]etilamino}acetil-2 (S)-ciano-pirrolidina dihidrocloreto (DPP728), especialmente o seu dihidrocloreto; (S)-1-[(3-hidroxi-1-adamantil)amino]acetil-2-ciano-pirrolidina (Vildagliptin  
10 Galvus®, LAF237); L-treo-isoleucil tiazolidina (código de composto de acordo com Probiodrug: P32/98); MK-0431; GSK23A; Sitagliptina (Januvia®) [Merck & Co.], Saxagliptina (BMS-477118) [Bristol Myers Squibb]; 3-(aminometil)-2-isobutil-1-oxo-4-fenil-1,2-dihidro-6-isoquinolina  
15 carboxamida e 2-{[3-(aminometil)-2-isobutil-4-fenil-1-oxo-1,2-dihidro-6-isoquinolil]oxi} acetamida e opcionalmente em qualquer caso seus sais farmacêuticos.

Em um aspecto da invenção, o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina (Januvia®) [Merck & Co.].

20 Em um aspecto da invenção, o inibidor de DPP-IV é valina-pirrolidida.

Em outro aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV é 3-(L-Isoleucil) tiazolidina (isoleucina-tiazolidida).

25 Em outro aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV é 1-{2-[(5-cianopiridina-2-il) amino]etilamino}acetil-2-ciano-(S)-pirrolidina (NVP-DPP728).

Em outro aspecto da presente invenção, o inibidor  
30 de DPP-IV é 3(R)-Amino-1-[3-(trifluorometil)-5,6,7,8-



tetrahidro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazina-7-il]-4-(2,4,5-trifluorofenil)butano-1-ona (MK-0431).

Em outro aspecto da presente invenção o inibidor de DPP-IV é (1S,3S,5S)-2-[2(S)-Amino-2-(3-hidroxiadamantana-1-il)acetil]-2-azabicyclo[3.1.0]hexano-3-carbonitrila (Saxagliptina, BMS-477118).

Em outro aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV é [1-[2(S)-Amino-3-metilbutiril]pirrolidina-2(R)-il]ácido borônico (PT-100).

Em outro aspecto da presente invenção o inibidor de DPP-IV é GSK-823093; PSN-9301; T-6666; SYR-322; SYR-619; CR-14023; CR-14025; CR-14240; CR-13651; NNC-72-2138; NN-7201; PHX-1149; PHX-1004; SNT-189379; GRC-8087; PT-630; SK-0403; GSK-825964; TS-021; GRC-8200; GRC-8116; ou FE107542.

Em um aspecto da presente invenção o inibidor de DPP-IV é (1-[β-hidroxi-1-adamantil)amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina (Vildagliptina, Galvus®, LAF237).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é um derivado de dipeptídeo.

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é um dipeptídeo mimético.

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico à valina-pirrolidida.

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico à alanina-pirrolidida.

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a 3-(L-Isoleucil)tiазolidina (isoleucina-tiazolidida).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a N-valil propil, O-benzoil

hidroxilamina.

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a 1-[[[2-[(5-cianopiridina-2-il)amino]etil]amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina (NVP-  
5 DPP728).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a 3(R)-Amino-1-[3-(trifluorometil)-5,6,7,8-tetrahidro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazina-7-il]-4-(2,4,5-trifluorofenil)butano-1-ona (MK-0431).

10 Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a (1-[ $\beta$ -hidroxi-1-adamantil)amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina (Vildagliptina, Galvus®, LAF237).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de  
15 DPP-IV não é idêntico a (1S,3S,5S)-2-[2(S)-Amino-2-(3-hidroxiadamantano-1-il)acetil]-2-azabicyclo[3.1.0]hexano-3-carbonitrila (Saxagliptina, BMS-477118).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a [1-[2(S)-Amino-3-  
20 metilbutiril]pirrolidina-2(R)-il]ácido borônico (PT-100).

Em um aspecto da presente invenção, o inibidor de DPP-IV não é idêntico a GSK-823093; PSN-9301; T-6666; SYR-322; SYR-619; CR-14023; CR-14025; CR-14240; CR-13651; NNC-72-2138; NN-7201; PHX-1149; PHX-1004; SNT-189379; GRC-8087;  
25 PT-630; SK-0403; GSK-825964; TS-021; GRC-8200; GRC-8116; ou FE107542.

Em um aspecto da presente invenção, qualquer um ou mais de inibidor de DPP-IV pode ser excluído de qualquer modalidade da presente invenção. Um inibidor de DPP-IV pode  
30 ser selecionado que tenha um IC<sub>50</sub> inferior a

aproximadamente 10  $\mu$ M, inferior a aproximadamente 1  $\mu$ M,  
menos do que aproximadamente 100 nM, menos do que  
aproximadamente 75 nM, inferior a aproximadamente 50 nM,  
inferior a aproximadamente 25 nM, inferior a  
5 aproximadamente 20 nM, inferior a aproximadamente 15 nM,  
inferior a aproximadamente 10 nM, inferior a  
aproximadamente 5 nM, inferior a aproximadamente 4 nM,  
inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aproximadamente  
2 nM, ou inferior a aproximadamente 1 nM. Em uma  
10 modalidade, um inibidor de DPP-IV é selecionado o qual tem  
um  $IC_{50}$  inferior a aproximadamente 50 nM, inferior a  
aproximadamente 25 nM, inferior a aproximadamente 20 nM,  
inferior a aproximadamente 15 nM, inferior a  
aproximadamente 10 nM, inferior a aproximadamente 5 nM,  
15 inferior a aproximadamente 4 nM, inferior a aproximadamente  
3 nM, inferior a aproximadamente 2 nM, ou inferior a  
aproximadamente 1 nM. Em um aspecto da presente invenção,  
um inibidor de DPP-IV seletivo é utilizado o qual tem uma  
seletividade para DPP-IV de plasma humano em relação a um  
20 ou mais de PPCE, DPP-II, DPP-8 e DPP-9 de pelo menos  
aproximadamente 10 vezes, mais preferivelmente pelo menos  
aproximadamente 100 vezes, e ainda mais preferivelmente de  
pelo menos aproximadamente 1.000 vezes. Em um aspecto da  
presente invenção, o inibidor de DPP-IV é oralmente ativo.  
25 Em aspectos específicos da invenção, o inibidor de DPP-IV é  
um inibidor de DPP-IV humano.

Inibidores de DPP-IV podem ser preparados por  
intermédio de uma variedade de métodos conhecidos na arte.

O termo "similaridade substancial" ou  
30 "similaridade de seqüência substancial", quando se

referindo a um ácido nucléico ou seus fragmentos, ou polipeptídeo, indica que, quando otimamente alinhado com outro ácido nucléico ou fragmento ou polipeptídeo existe uma identidade de seqüência percentual em pelo menos aproximadamente 50%, mais preferivelmente 60% das bases de nucleotídeo ou resíduos de aminoácido, normalmente de pelo menos aproximadamente 70%, mais normalmente de pelo menos aproximadamente 80%, preferivelmente de pelo menos aproximadamente 90%, e mais preferivelmente de pelo menos aproximadamente 95-98% das bases de nucleotídeo ou resíduos de aminoácido, conforme medido por qualquer algoritmo bem conhecido de identidades de seqüência, tal como FASTA, BLAST ou Gap.

"Identidade de seqüência percentual" se refere a uma percentagem de resíduos de aminoácido ou nucleotídeos em uma seqüência candidata que são idênticos aos resíduos de aminoácido em uma seqüência de polipeptídeo ou de ácido nucléico, após alinhamento das seqüências e introdução de espaços vazios, se necessário, para se obter a identidade de seqüência percentual máxima, e não considerando quaisquer substituições conservadoras como parte da identidade de seqüência. Alinhamento para os propósitos de determinar a identidade de seqüência de aminoácido ou de ácido nucléico percentual pode ser conseguido em várias formas convencionais, por exemplo, utilizando software de computador publicamente disponível incluindo o pacote de programa GCG (Devereux J. et al., Nucleic Acids Research 12(1): 387,1984); BLASTP, BLASTN, e FASTA, Gap ou Bestfit (Wisconsin Package Versão 10.0, Genetics Computer Group (C4CG), Madison, Wisconsin; Pearson, Methods Enzymol.

183:63-98, 1990; Pearson, Methods Mol. Bio. 276:71-84, 1998). Os programas BLAST estão publicamente disponíveis através da NCBI e outras fontes (BLAST Manual, Altschul, S. et al. NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894; Altschul, S. et al. J. Mol. Biol. 215: 403-410, 1990). Aqueles versados na técnica podem determinar parâmetros apropriados para medição de alinhamento, incluindo quaisquer algoritmos necessários para se obter alinhamento máximo pela extensão total das seqüências sendo comparadas. Métodos para determinar a identidade e similaridade são codificados em programas de computador publicamente disponíveis.

Um "análogo" se refere a um polipeptídeo em que um ou mais resíduos de aminoácido de um polipeptídeo original ou do tipo selvagem foi substituído por outro resíduo de aminoácido, um ou mais resíduos de aminoácido de um polipeptídeo original ou do tipo selvagem foi invertido, um ou mais resíduos de aminoácido do polipeptídeo original ou do tipo selvagem foi deletado, e/ou um ou mais resíduos de aminoácido foram adicionados ao polipeptídeo original ou de tipo selvagem. Tal adição, substituição, deleção, e/ou inversão pode ser ou na extremidade de N-terminal ou de C-terminal ou dentro do polipeptídeo original ou de tipo selvagem, ou uma combinação dos mesmos. Tipicamente "um análogo" é um polipeptídeo em que 6 ou menos aminoácidos foram substituídos e/ou adicionados e/ou deletados do peptídeo original, ou do tipo selvagem, mais preferivelmente um peptídeo em que 3 ou menos aminoácidos foram substituídos e/ou adicionados e/ou deletados do polipeptídeo original ou de tipo selvagem, e mais preferivelmente, um peptídeo em que um aminoácido foi

substituído e/ou adicionado e/ou deletado do polipeptídeo original ou de tipo selvagem.

Mutações podem ser introduzidas em um polipeptídeo mediante métodos padrão, tal como mutagênese de local dirigido e mutagênese PCR-mediada. Substituições conservadoras podem ser feitas em um ou mais resíduos de aminoácido não essenciais previstos. Uma "substituição de aminoácido conservadora" é aquela na qual um resíduo de aminoácido é substituído com um resíduo de aminoácido com uma cadeia lateral similar. Aminoácidos com cadeias laterais similares são conhecidos na técnica e incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, Lys, Arg, His), cadeias laterais acídicas (por exemplo, Asp, Glu), cadeias laterais polares não carregadas (por exemplo, Gly, Asp, Glu, Ser, Thr, Tyr e Cys), cadeias laterais não-polares (por exemplo, Ala, Val, Leu, Iso, Pro, Trp), cadeias laterais ramificadas-beta (por exemplo, Thr, Val, Iso), e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, Tyr, Phe, Trp, His). Mutações também podem ser introduzidas aleatoriamente ao longo de parte ou de toda a sequência nativa, por exemplo, mediante mutagênese de saturação. Após a mutagênese o polipeptídeo variante pode ser expresso de forma recombinante.

Um "derivado" se refere a um polipeptídeo no qual um ou mais dos resíduos de aminoácido de um polipeptídeo original foi quimicamente modificado. Derivados podem ser obtidos mediante modificação quimicamente de um ou mais resíduos de aminoácido do polipeptídeo original ou seu análogo, por exemplo, mediante alquilação, acilação, glicosilação, peguilação, formação de éster, desamidação,

formação de amida, ou mediante introdução de uma funcionalidade lipofílica.

Um "polipeptídeo quimérico" compreende todo ou parte (preferivelmente biologicamente ativa) de um polipeptídeo selecionado ligado operativamente a um polipeptídeo heterólogo (isto é, um polipeptídeo diferente do polipeptídeo selecionado). Dentro do polipeptídeo de fusão, o termo "operativamente ligado" pretende indicar que um polipeptídeo selecionado e o polipeptídeo heterólogo são fundidos em quadro mutuamente. O polipeptídeo heterólogo pode ser fundido ao N-terminal ou C-terminal de um polipeptídeo selecionado. Proteínas quiméricas e de fusão podem ser produzidas mediante técnicas padrão de DNA recombinante.

Um "composto de gastrina" se refere a qualquer composto, incluindo compostos de peptídeos e de não-peptídeos, os quais se associam completamente ou parcialmente e/ou ativam um receptor de gastrina/CCK, especificamente um receptor de gastrina/CCK<sub>B</sub> e/ou aumentam a secreção de gastrina.

Um "receptor de gastrina/CCK" se refere a um membro da família de receptores acoplados-proteína-G que exibe uma afinidade de ligação característica para uma colecistocinina (CCK) incluindo sem limitação CCK-8, CCK-8 dessulfatada, CCK-33, CCK-4, ou gastrinas incluindo sem limitação gastrina-17 dessulfatada ou sulfatada, ou pentagastrina, ou outros análogos de gastrina ou CCK ou membros da família. Exemplos de proteínas receptoras de CCK/gastrina são CCK<sub>A</sub> e receptores de CCK<sub>B</sub>/gastrina, especificamente receptores de CCK<sub>B</sub>/gastrina.

Em aspectos da invenção, um composto de gastrina é selecionado o qual tem um  $IC_{50}$  adequado, por exemplo, um  $IC_{50}$  de aproximadamente  $\sim 0,7$  nM em um receptor de  $CCK_B$ /gastrina conforme medido pelos métodos conhecidos na técnica [vide Singh et al (1995) J. Biol. Chem. 270: 8429-8438, e Kopin et al (1995) J. Biol. Chem. 270: 5019-5023 descrevendo ensaios de desenvolvimento de célula in vitro, e ensaios de aglutinação de receptor conforme descrito em Singh et al (1995) J. Biol. Chem. 270:8429-8438, e Kopin et al (1995) J. Biol. Chem. 270: 5019-5023]. Um composto de gastrina também pode ser selecionado com base em outros critérios tal como atividade, meia vida, etc., conforme aqui discutido.

Os compostos de gastrina que podem ser usados na presente invenção incluem sem limitação um ou mais de um composto de gastrina incluindo um agonista de gastrina, uma colecistocinina, ou um agonista de colecitocinina.

O termo "composto de gastrina" abrange compostos selecionados que em combinação com um inibidor de DPP-IV proporciona pelo menos um efeito benéfico. Em outros aspectos da invenção um composto de gastrina é selecionado de tal modo que, em combinação com um inibidor de DPP-IV, a neogênese de células de ilhotas pancreáticas de produção de insulina, é induzida. Em um aspecto adicional o termo inclui qualquer composto de gastrina que demonstra atividade de aditivo, sinérgica, ou complementar com um inibidor de DPP-IV.

O termo inclui análogos, derivados, fragmentos e modificações de uma gastrina do tipo selvagem e polipeptídeos quiméricos compreendendo gastrina. Em



aspectos da invenção um composto de gastrina inclui um polipeptídeo que compartilha similaridade de seqüência substancial com uma gastrina de mamífero e possui alguma ou toda a atividade biológica de uma gastrina de mamífero. Em certos aspectos, um composto de gastrina pode ser um análogo ativo, fragmento ou outra modificação que, por exemplo, compartilha similaridade de seqüência de aminoácido com uma gastrina de mamífero endógena, por exemplo, compartilha identidade em 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% ou 99%.

Compostos de gastrina podem ser sintetizados mediante síntese química utilizando técnicas conhecidas na química de proteínas tal como síntese de fase sólida (Merrifield, 1964, J. Am. Chem. Assoc. 85:2149-2154) ou síntese em solução homogênea (Houbenweyl, 1987, Methods of Organic Chemistry, ed. E. Wansch, Vol. 151 and II, Thieme, Stuttgart). A síntese pode ser realizada utilizando procedimentos manuais ou mediante automação. A síntese automatizada pode ser realizada, por exemplo, utilizando um sintetizador de peptídeo Applied Biosystems 431A (Perkin Elmer). Compostos de gastrina também podem ser obtidos a partir de fontes comerciais. Por exemplo, gastrina humana sintética 17 com metionina ou leucina na posição 15 está disponível através da Bachem AG, Bubendorf, (Suíça), e através da Research Plus Inc (New Jersey, USA).

Um "composto de gastrina" inclui, sem limitação, as diversas formas de gastrina, tal como gastrina 71 (Números de Acesso AAH69762 e NP\_000796), gastrina 52, gastrina 34 (gastrina grande), gastrina 17 (gastrina pequena), gastrina 14, e gastrina 8 (mini gastrina),

pentagastrina, tetragastrina, e fragmentos, análogos, e derivados da mesma. Sequências para gastrinas incluindo gastrina grande-34 (Bonato et al, 1986, Life Science 39:959) e gastrina pequena-17 (Bentley et al (1966) Nature 209:583) são conhecidas na técnica e algumas são mostradas em SEQ ID N° 1 a 9. Especificamente, as sequências para gastrinas incluem gastrina 71 de SEQ ID N° 5, gastrina 52 de SEQ ID N° 6, gastrina 34 (gastrina grande) de SEQ ID N° 1 ou 2, gastrina-17 (gastrina pequena) de SEQ ID N° 3 ou 4, gastrina 14 de SEQ ID N° 7, e gastrina 6 de SEQ ID N° 8 ou 9. Gastrina-34 é essencialmente uma extensão de uma sequência de aminoácido na extremidade de N-terminal da gastrina-17. Gastrina grande é clivada in vivo para liberar gastrina-17. Glp na extremidade N-terminal de uma gastrina é piroglutamato, que é uma forma de glutamato naturalmente ciclizada. Em várias modalidades, onde cisteína ou lisina é adicionada a um terminal de gastrina tendo um piroglutamato, o piroglutamato é substituído com um glutamato, ou o piroglutamato é deletado. Uma gastrina 34 ou gastrina 17 pode ser usada na invenção onde existe uma metionina ou uma leucina na posição 15, conforme mostrado aqui nas SEQ ID N°s: 1-4.

Exemplos de compostos de gastrina que podem ser usados na presente invenção incluem os compostos revelados na Patente US 6.288.301. Em algumas aplicações da invenção, um composto de gastrina pode ser selecionado que é um peptídeo ou um agonista de não-peptídeo ou agonista parcial do receptor de gastrina tal como A71378 (Lin et al., Am. J. Physiol. 258 (4 Pt 1): G648, 1990).

Em algumas aplicações da invenção, um composto de

gastrina pode ser selecionado que é um ligante de receptor de gastrina/CCK incluindo, mas não limitado a colecistocinina (CCK) tal como CCK 58, CCK 33, CCK 22, CCK 12 e CCK 8; e semelhante. Em geral, ligantes de receptor de gastrina/CCK compartilham uma seqüência terminal de carboxi Trp-Met-Asp-Phe-amida.

Um "composto de gastrina" inclui uma forma modificada de uma gastrina, incluindo, mas não limitada a uma forma modificada de gastrina 71 [SEQ ID N° 5], gastrina 52 [SEQ ID N° 6], gastrina 34 (gastrina grande) [SEQ ID N° 1 ou 2], gastrina 17 (gastrina pequena) [SEQ ID N° 3 ou 14], gastrina 14 [SEQ ID N° 7], gastrina 8, gastrina 6 [SEQ ID N° 8], pentagastrina, e tetragastrina. Uma gastrina modificada compreende preferivelmente TrpMetAspPhe-NH<sub>2</sub> [SEQ ID N° 13] ou TrpLeuAspPhe-NH<sub>2</sub> [SEQ ID N° 14].

Em aspectos da invenção uma gastrina modificada compreende pelo menos aminoácidos 1-34, 18-34 ou 29-34 de SEQ ID N° 1 ou 2, ou aminoácidos 1-17, 2-17, 12-17, ou 14-17 de SEQ ID N° 3 ou 4.

Um composto de gastrina usado em aspectos dos métodos, composições e conjugados da invenção pode compreender gastrina 17 e análogos e derivados da mesma. Em aspectos específicos, o composto de gastrina é gastrina 1 humana sintética tendo 17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15 [SEQ ID N° 4].

Um composto de gastrina usado nos métodos, composições e conjugados da invenção podem compreender gastrina 34 e análogos e derivados da mesma. Em aspectos específicos, o composto de gastrina é uma gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID

Nº 1 ou 2].

Compostos de gastrina modificados para uso na presente invenção compreendem os compostos de gastrina modificados descritos em PCT/CA03/1778, US Nº de Série 5 10/719.450 e Pedido US 60/519.933.

Especificamente, uma gastrina modificada pode ser um derivado de gastrina ou análogo compreendendo uma seqüência mínima de 6 aminoácidos (a partir da extremidade C-terminal de uma gastrina), especificamente, resíduos de 10 aminoácido 1 a 34, 18 a 34 ou 29-34 de SEQ ID Nº 1 ou 2, ou resíduos de aminoácido 1-17, 2-17, 12-17, ou 14-17 de SEQ ID Nº 3 ou 4, e compreendendo um grupo reativo capaz de sofrer uma reação de adição. Exemplos de grupos reativos incluem sem limitação: tióis, grupos alfa amino, grupos 15 epsilo amino, grupos carboxil, ou anéis aromáticos. Um grupo reativo é geralmente capaz de ligar uma seqüência de gastrina, direta ou indiretamente por intermédio de um agente de reticulação e/ou região espaçadora, a um carreador.

20 Um grupo reativo pode ser introduzido mediante adição ou substituição de um aminoácido compreendendo um grupo reativo, por exemplo, mediante adição de uma cisteína ou lisina. Portanto, uma gastrina modificada pode compreender uma seqüência de gastrina (por exemplo, 25 gastrina-34 ou gastrina 17) em que pelo menos um aminoácido reativo (por exemplo, cisteína ou lisina) é adicionado ou substituído. A adição de um aminoácido reativo pode ser em uma região terminal, especificamente, em uma região N-terminal.

30 Uma gastrina modificada também pode compreender

opcionalmente um espaçador. Um espaçador pode interagir com um grupo reativo, por exemplo, um aminoácido compreendendo um grupo reativo. Um espaçador pode ser um ou mais aminoácidos, peptídeos, peptidomiméticos, ou pequenas  
5 moléculas orgânicas. Um espaçador pode compreender pelo menos um aminoácido, preferivelmente pelo menos dois, três, quatro ou cinco aminoácidos e em certas modalidades é uma sequência de vários aminoácidos, incluindo sem limitação alanina ou glicina. Um espaçador pode compreender  
10 aminoácidos alternados (por exemplo, glicina e/ou alanina), aminoácidos não-alternados, uma sequência aleatória ou uma sequência específica. Como exemplo, um espaçador pode ser sintetizado como parte de, ou pode ser quimicamente ligado a um aminoácido de uma sequência de gastrina.

15 Uma gastrina modificada pode compreender opcionalmente um agente de reticulação. Um agente de reticulação pode compreender uma porção homobifuncional ou heterobifuncional para interação direta ou indiretamente com uma gastrina, espaçador e/ou um grupo reativo. Um  
20 agente de reticulação pode interagir com uma sequência de gastrina ou um espaçador, ou pode ser adicionada a um grupo reativo no fim (especificamente N-terminal) de uma gastrina modificada.

Um agente de reticulação pode ser qualquer agente  
25 que possa ligar uma sequência de gastrina e um carreador diretamente ou por intermédio de um espaçador. Exemplos de agentes de reticulação homobifuncionais incluem sem limitação reagentes de reticulação homobifuncionais dirigidos por amino grupo tais como bis-imidatos (por  
30 exemplo, metil acetimidato-HCl), aril haletos bifuncionais

(por exemplo, 1,5-dicloro-2,4-dinitrobenzeno), agentes de acilação bifuncionais (por exemplo, diisocianatos), sulfonil haletos bifuncionais (por exemplo, fenol-2,4-disulfonil-cloreto), acilazidas bifuncionais (por exemplo, tartril diazida), dialdeídos (por exemplo, glutaraldeído), e dicetonas (por exemplo, 2,5-hexanodiona). Exemplos de reticuladores heterobifuncionais incluem reagentes bifuncionais dirigidos de grupo amino ou sulfidril (por exemplo, N-succinimidil-3-(2-piridiltio propionato, carboxil e ou reagentes bifuncionais dirigidos de grupo ou sulfidril ou amino (por exemplo, p-nitrofenil diazoacetato), e reagentes bifuncionais dirigidos de grupo carbonil e sulfidril (por exemplo, 1-(aminooxi)-4-[3-nitro-2-piridil)ditio]]butano).

Uma gastrina modificada pode compreender opcionalmente um carreador o qual pode ser um polímero. Um carreador pode ser um polímero de aminoácidos (proteínas), açúcares (polissacarídeos), nucleosídeos, polímeros sintéticos e suas misturas. Um carreador de proteína pode ser uma proteína encontrada no sistema circulatório. Exemplos de carreadores de proteína encontrados no sistema circulatório, especificamente no sistema circulatório humano, incluem sem limitação os componentes de plasma tal como soro, proteínas de soro purificado tal como albumina (especificamente albumina de soro humano), transferrina, ou uma imunoglobulina, proteínas de células sangüíneas vermelhas tal como glicoforina A e AE-1, proteínas de ligação de açúcar tal como uma lectina, enzimas inativadas, proteínas de ligação de fosfato e sulfato, e proteínas de ligação de lipídio. Exemplos de outros carreadores

poliméricos adequados incluem sem limitação celulose e seus derivados, amidos e seus derivados, heparina e seus derivados, e polímeros sintéticos tal como polietileno glicol (PEG) e dextrana, e seus derivados. Carreadores  
 5 podem ser ligados a uma gastrina ou espaçador por intermédio de grupos reativos no, ou introduzido no carreador, gastrina, e/ou espaçador. Por exemplo, os carreadores podem ser ligados de forma covalente aos grupos reativos (tal como grupos tiol, grupos amino alfa e  
 10 epsílon, grupos carboxil ou grupos aromáticos) em uma gastrina ou espaçador o qual pode estar presente ou adicionado mediante modificação química da gastrina ou espaçador.

Em certos aspectos da invenção, uma gastrina  
 15 modificada pode compreender uma gastrina de SEQ ID N° 1, 2, 3, 4, 7 ou 8 e um carreador.

Um grupo de compostos de gastrina modificado inclui compostos tendo uma seqüência de aminoácido compreendendo a partir do terminal amino  $Z-Y_m-X_n-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$ , em que  $AA_1$  é Tyr ou Phe,  $AA_2$  é Gly, Ala, ou Ser,  $AA_3$  é Trp, Val, ou He,  $AA_4$  é Met ou Leu,  $AA_5$  é Asp ou Glu, e  $AA_6$  é Phe ou Tyr e em que  $AA_6$  é opcionalmente amidado; Z é um carreador, especificamente um polímero e quando o polímero é uma proteína Z é uma seqüência de  
 20 aminoácido;  $Y_m$  é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, mas não limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva dos resíduos 1-28 (=n) de SEQ ID N° 1 e ou 2 ou 1-11 de SEQ ID N° 3 ou 4,  
 25 desde que o composto de gastrina se ligue a um receptor de  
 30

gastrina/CCK<sub>B</sub>. Geralmente, m é 0 a aproximadamente 20  
resíduos. Em um aspecto Z é uma proteína, especificamente,  
uma proteína do sistema circulatório, mais particularmente  
uma proteína de soro, ainda mais particularmente albumina,  
5 mais particularmente albumina de soro humano.

Em modalidades, X é um ou mais resíduos de  
aminoácido a partir da posição 18 até a posição 28 de SEQ  
ID N° 1. Portanto, os compostos de gastrina em virtude da  
presença de X, podem ter qualquer uma das seqüências de  
10 gastrina a partir das posições 18-28, 19-28, 20-28, 21-28,  
etc. O composto de gastrina contém opcionalmente um  
espaçador de aminoácido (Y) de comprimento m, e m é 0 a  
aproximadamente 20 resíduos.

Nas modalidades, X é um ou mais resíduos de  
15 aminoácido a partir da posição 1 ou 11 ou 2 até 11 de SEQ  
ID N° 3 ou 4. Portanto, os compostos de gastrina em virtude  
da presença de X, podem ter qualquer uma das seqüências de  
gastrina a partir das posições 2 a 11, 3 a 11, 4 a 11, 5 a  
11, etc. O composto de gastrina contém opcionalmente um  
20 espaçador de aminoácido (Y) de comprimento m, e m é 0 a  
aproximadamente 20 resíduos.

Um composto de gastrina inclui um composto de  
gastrina modificado da fórmula  $X_n-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$ ,  
onde não há espaçador (Y) e m é 0, o qual pode compreender  
25 ainda um agente de reticulação bifuncional para interação  
ou ligação a um carreador Z, onde Z compreende ainda um  
polímero não proteináceo tal como dextrana ou PEG.

Um composto de gastrina modificado  
particularmente descrito aqui pode compreender ainda um  
30 resíduo de cisteína ou lisina de terminal amino.



Em algumas modalidades dos compostos de gastrina modificadas aqui descritos, o componente de gastrina contém pelo menos resíduos de aminoácidos 29 e 34 da SEQ ID N° 1 ou 2, e são associados a um polímero, um lipídio ou um carboidrato. O polímero pode ser um polímero de ocorrência natural ou sintético. O termo polímero inclui um polímero de proteína de aminoácidos, e não é limitado a um polímero sintético. O polímero pode ser um polietileno glicol (PEG) ou uma dextrana. Um composto de gastrina modificado pode ser baseado em SEQ ID N° 1 ou 2 ou gastrina-34 "grande" e ter um resíduo na posição 32 que é uma metionina ou uma leucina, respectivamente.

Outro composto de gastrina modificado preferido compreende uma estrutura C-Y<sub>m</sub>-X, em que C é Cys ou Lys, Y<sub>m</sub> é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno, e X é pelo menos seis resíduos de aminoácido compreendendo pelo menos as posições 12-17 de gastrina-17 (SEQ ID N°: 3 ou 4) ou pelo menos as posições 29-34 de gastrina-34 (SEQ ID N°: 1 ou 2). Esse composto de gastrina modificado pode compreender ainda um agente de reticulação bifuncional em que uma porção reativa do agente de reticulação é ligada covalentemente a C, e a outra porção reativa é ligada covalentemente a um polímero ou proteína.

Em um aspecto específico da invenção AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub> em um composto de gastrina modificado é Tyr-Gly-Trp-Asp-Phe [SEQ ID N° 10] ou Tyr-Gly-Trp-Asp-Phe [SEQ ID N° 11].

Em um aspecto adicional da invenção, um composto de gastrina usado nos métodos, composições e conjugados da

invenção é gastrina 34 ou gastrina 17 ou porções delas, interagindo direta ou indiretamente ou associado a uma proteína de soro, especificamente, albumina ou imunoglobulina, mais particularmente albumina de soro humano.

Em aspectos da invenção, um composto de gastrina compreende gastrina humana sintética 34 tendo 2-34 resíduos de aminoácido de SEQ ID N° 1 ou 2, e opcionalmente uma cisteína de N-terminal e/ou um carreador; gastrina humana sintética tendo 1-17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição 15 de aminoácido [SEQ ID N° 4] e opcionalmente um resíduo de cisteína N-terminal; e uma gastrina humana sintética tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N° 3 ou 4, opcionalmente com um resíduo de cisteína N-terminal e/ou um carreador (por exemplo, albumina de soro humano ou PEG) ligado por intermédio de um espaçador [por exemplo, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala isto é, (GA)<sub>5</sub>] [SEQ ID N° 12], especificamente, uma gastrina humana sintética tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N° 3 ou 4, com um polímero de albumina de soro humano (HSA) ligado por intermédio de um espaçador Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala [isto é, (GA)<sub>5</sub>], e opcionalmente um resíduo de cisteína de N-terminal.

Em aspectos específicos da invenção o composto de gastrina é uma gastrina 17 substituída com leucina de SEQ ID N° 3. Tal composto de gastrina pode ser também caracterizado pelas seguintes propriedades: ponto isoelétrico de aproximadamente 3,4; pureza de pelo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, ou 99%, e/ou uma massa molecular de aproximadamente  $2080,2 \pm 2$  Da.

Em alguns aspectos da invenção um "composto de gastrina" é um agonista de gastrina. Um "agonista de gastrina" se refere a qualquer substância que imita completamente ou parcialmente uma reação, atividade, ou função de um composto de gastrina ou inicia tal reação, atividade, ou função, ou reduz ou previne a inibição de qualquer reação, atividade ou função de um composto de gastrina.

Um agonista de gastrina pode ser selecionado para aplicações específicas na presente invenção com base em sua habilidade de aumentar a gastrina de plasma em aproximadamente 2 a 1.000 vezes, 2 a 500 vezes, 2 a 200 vezes, 2 a 100 vezes, 2 a 150 vezes, 2 a 100 vezes, 2 a 75 vezes, 2 a 50 vezes, 2 a 40 vezes, 2 a 30 vezes, 2 a 20 vezes, 10 a 1.000 vezes, 10 a 500 vezes, 10 a 200 vezes, 10 a 150 vezes, 10 a 100 vezes, 10 a 75 vezes, 10 a 50 vezes, 10 a 40 vezes, 10 a 30 vezes ou 10 a 20 vezes.

Em certos aspectos da invenção, um agonista de gastrina é uma substância que aumenta a secreção das gastrinas endógenas, colecistocininas ou peptídeos similarmente ativos a partir de locais de armazenamento de tecido. Em alguns aspectos da invenção, um agonista de gastrina é um secretagogue de gastrina. Exemplos de agonistas de gastrina incluem, sem limitação, os inibidores de bomba de próton (por exemplo, o peptídeo de liberação gástrica, omeprazol o qual inibe a secreção de ácido gástrico), e inibidor de tripsina de soja que aumenta o estímulo de CCK.

Em aspectos específicos da invenção, um agonista de gastrina é selecionado o qual provê em combinação com um inibidor de DPP-IV quantidades terapeuticamente eficazes de gastrina em um indivíduo (por exemplo, um indivíduo diabético). Em modalidades da invenção um agonista de gastrina é selecionado o qual provê, em combinação com um inibidor de DPP-IV, um aumento de aproximadamente 10 a 1.000 vezes, 10 a 500 vezes, 10 a 100 vezes, 10 a 50 vezes, 5 a 500 vezes, 5 a 100 vezes, ou 5 a 50 vezes em gastrina de plasma. Exemplos de agonistas de gastrina são inibidores de bomba de próton e agonistas de receptor de histamina-2.

Um "inibidor de bomba de próton" e "PPI" são usados aqui permutavelmente e incluem uma substância que inibe a secreção de ácido gástrico mediante bloqueio da bomba de próton, (por exemplo, uma substância que se liga covalentemente ao  $H^+/K^+$ -ATPase, a enzima responsável pela secreção de ácido gástrico) e/ou aumenta a secreção de gastrina. Especificamente, os termos se referem a qualquer agente farmacêutico lábil ácido possuindo atividade farmacológica como um inibidor de  $H^+/K^+$ -ATPase. Mais especificamente, ele considera as substâncias que se ligam covalentemente a  $H^+/K^+$ -ATPase. [Vide as publicações a seguir relacionadas aos PPIs: Fellenius et al., Substituted Benzimidazoles Inhibit Gastric Acid Secretion by Blocking  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase, *Nature*, 290:159-161 (1981); Wallmark et al, The Relationship Between Gastric Acid Secretion and Gastric  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase Activity, *J. Biol.Chem.*, 260:13681-13684 (1985); Fryklund et al., Function and Structure of Parietal Cells After  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase Blockade, *Am. J. Physiol.*, 254 (3 PT 1); G399-407 (1988)].

Em aspectos da invenção um inibidor de bomba de prótons inclui compostos compreendendo um 2-[(2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol esqueleto ou esqueletos relacionados onde esses esqueletos podem ser  
 5 opcionalmente substituídos em diversas formas diferentes. Um inibidor de bomba de próton pode se desejado, estar na forma de base livre, ácido livre, sal, éster, solvatos (especificamente hidratos), anidrato, amida, enantiômero, isômero, tautômero, pró-droga, polimorfo, derivado, ou  
 10 semelhante, desde que a base livre, sal, éster, hidrato, amida, enantiômero, isômero, tautômero, pró-droga, ou qualquer outro derivado farmacologicamente adequado seja terapeuticamente ativo.

Os compostos a seguir podem ser mencionados no  
 15 contexto da presente invenção: 2-[2-(N-isobutil-N-metilamino)benzil-sulfinil]benzimidazol (INN: leminoprazol) (DE-A-3531487); 2-(4-metoxi-6,7,8,9-tetrahidro-5H-ciclohepta[b]piridina-9-ilsulfinil)-1H-benzimidazol (INN: nepaprazol) (EP-A-0 434 999); 2-(4-metoxi-3-metil-piridina-  
 20 2-ilmetilsulfinil)5-pirrol-1-y-1H-benzimidazol (IY-81149), 5-metoxi-2-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfinil]-1-H-inidazo[4,5-b]piridine (tenatoprazol), especialmente 5-metoxi-2-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol (INN:  
 25 omeprazol) (Patente US 4.786.505 e EP-A-0 005 129); 5-metoxi-2-[(S)-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)metil]sulfinil]-1H-benzimidazol (INN: esomeprazol),  
 2-[3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)-2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol (INN: lansoprazol)  
 30 (EP-A 0 174 726); e 2-{[4-(3-metoxipropoxi)-3-

metilpiridina-2-il]-metilsulfinil}-1H-benzimidazol (INN: rabeprazol) (EP-A 0 184 322, EP-A 0 254 588, EP-A-0 261 478, EP-A-0 268 956); e especificamente 5-difluorometoxi-2-[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol (INN: pantoprazol) (EP-A-0 124 495, EP-A-0 166 287); e (-)-5-difluorometoxi-2-[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol [(-)pantoprazol].

Outros inibidores de bomba de próton incluem, mas não são limitados a: soraprazan (Altana); ilaprazol (Patente US 5.703.097) (Il-Yang); AZD-0865 (AstraZeneca); hidroxiomeprazol; dontoprazol; habeprazol; perprazol; ransoprazol; pariprazol; YH-1885 (Publicação PCT WO 96/05177) (SB-641257) (2-pirimidinamina, 4-(3,4-dihidro-1-metil-2(1H)-isoquinolinil)-N-(4-fluorofenil)-5,6-dimetilmonoiidro-cloreto) (YuHan); fenilalquil-amino derivados de carbapenem condensado cpds (WO-A-9523149); BY-112 (Altana); SPI-447 (Imidazo(1,2-a)tieno(3,2-c)piridina-3-amina, 5-metil-2-(2-metil-3-tienil) (Shinnippon); 3-hidroximetil-2-metil-9-fenil-7H-8,9-dihidro-pirano(2,3-c)-imidazo(1,2-a)piridina (Publicação PCT WO 95/27714) (AstraZeneca); Farmaprojects No. 4950 (3-hidroximetil-2-metil-9-fenil-7H-8,9-dihidro-pirano(2,3-c)-imidazo(1,2-a)piridina) (AstraZeneca) WO 95/27714; Farmaprojects No. 4891 (EP 700899) (Aventis); Farmaprojects No. 4697 (Publicação PCT WO 95/32959) (AstraZeneca); H-335/25 (AstraZeneca); T-330 (Saitama 335) (Farmacological Research Lab); Farmaprojects No. 3177 (Roche); BY-574 (Altana); Farmaprojects No. 2870 (Pfizer); AU-1421 (EP 264883) (Merck); AU-2064 (Merck); AY-28200 (Wiet); Farmaprojects No. 2126 (Aventis); WY-26769 (Wiet); pumaprazol (Publicação PCT WO 96/05199) (Altana);

YH-1238 (YuHan); Farmaprojects No. 5648 (Publicação PCT WO 97/32854) (Dainippon); BY-686 (Altana); YM-020 (Yamanouchi); GYKI-34655 (Ivax); FPL-65372 (Aventis); Farmaprojects No. 3264 (EP 509974) (AstraZeneca);

5 nepaprazol (Toa Eiyo); HN-11203 (Nycomed Farma); OPC-22575; pumilacidin A (BMS); saviprazol (EP 234485) (Aventis); SKandF-95601 (GSK, discontinued); Farmaprojects No. 2522 (EP 204215) (Pfizer); S-3337 (Aventis); RS-13232A (Roche); AU-1363 (Merck); SKand F-96067 (EP 259174) (Altana); SUN

10 8176 (Daiichi Fama); Ro-18-5362 (Roche); ufiprazol (EP 74341) (AstraZeneca); Bay-p-145 (Bayer); BY308; perprazol; [4-(2,2,2-trifluoroetoxi)-3-metil-2-piridil]-metil]sulfenamida; (Z)-5-metil-2-[2-(1-naftil)etenil]-4-piperidinopiridina HCl; 2-(4-

15 ciclohexiloxi-5-metil piridina-2-il)-3-(1-naftil)-1-propanol; metil 2-ciano-3-(etiltio)-3-(metiltio)-2propenoato; 2-((4-metoxi-2-piridil)metilsulfinil)-5-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)-1H-benzimidazol sódio; 2-[[[4-(2,2,3,3,4,4,4-heptafluoro butoxi)-2-

20 piridil]metil)sulfinil]-1H-tieno[3,4-d]imidazol; 2-[[[4-(2,2,2-trifluoro etoxi)-3-metil-2-piridil]metil] sulfinil]-1 H-benzimidazol; 2-[[[4-(2,2,2-trifluoro etoxi)-3-metil-2-piridil]metil] sulfinil]-1 H-benzimidazol; 2-metil-8-(fenil metoxi)-imidazo(1,2-A)-piridina-3-acetonitrila; (2-((2-

25 dimetilaminobenzil)sulfinil)-benzimidazol; 4-(N-alil-N-metil amino)-1-etil-8-((5-fluoro-6-metoxi-2-benzimidazolil)sulfinilmetil)-1-etil 1,2,3,4-tetrahidroquinolona; 2-[[[2-dimetilamino fenil)metil]sulfinil]-4,7-dimetoxi-1 H-benzimidazol; 2-

30 [(2-(2-piridil)fenil) sulfinil)-1H-benzimidazole; (2-

[(2-amino-4-metilbenzil)sulfinil]-5-metoxi  
 benzo[d]imidazol; (4(2-metilpirrol-3-il)-2-guanid  
 isotiazol); 4-(4-(3-(imidazol)propoxi)fenil)-  
 2feniltiazol; (E)-2-(2-(4-(3-(dipropilamino)butoxi)fenil)-  
 5 etenil)benzoxazol; (E)-2-(2-(4-(3  
 (dipropilamino)propoxi)fenil)etenil)-benzotiazol;  
 Benzeneamina, 2-[[ (5-metoxi- 1H-benzimidazol-2-  
 il)sulfinil]metil)-4-metil-; 2,3-dihidro-2-  
 metoxycarbonilamino-1,2-benzisotiazol-3-ona; 2-(2-etil  
 10 aminofenilmetilsulfinil)-5,6-dimetoxibenzimidazol; 2-metil-  
 8-(fenil metoxi)imidazo[1,2-a]piridina-3-acetonitrila; 3-  
 amino-2-metil-8-fenil metoxi imidazo[1,2-a]-pirazina HCl;  
 2-[[ (3-cloro-4-morfolino-2-piridil)metil]-sulfinil)-5-  
 metoxi-(1H)-benzinidazol; [3-butiril-4-(2-metilfenilamino)-  
 15 8-metoxi-quinolina); 2-indanil 2-(2-piridil)-2-  
 tiocarbamoilacetato HCl; 2,3-dihidro-2-(2-piridinil)-tiazol  
 (3,2-a)-benzimidazol; 3-cianometil-2-metil-8-(3-metil-2-  
 buteniloxi)-(1,2- $\alpha$ -imidazo piridina; zinco L-carnosina; ou  
 uma base livre, sal livre, sal, hidrato, éster, amida,  
 20 enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, pró-droga, ou  
 derivado desses compostos.

Ainda outros inibidores de bomba de próton  
 considerados pela presente invenção incluem aqueles  
 descritos na Patente US a seguir N°s 4.628.098; 4.689.333;  
 25 4.786.505; 4.853.230; 4.965.269; 5.021.433; 5.026.560;  
 5.045.321; 5.093.132; 5.430.042; 5.433.959; 5.576.025;  
 5.639.478; 5.703.110; 5.705.517; 5.708.017; 5.731.006;  
 5.824.339; 5.855.914; 5.879.708; 5.948.773; 6.017.560;  
 6.123.962; 6.187.340; 6.296.875; 6.319.904; 6.328.994;  
 30 4.255.431; 4.508.905; 4.636.499; 4.738.974; 5.690.960;



5.714.504; 5.753.265; 5.817.338; 6.093.734; 6.013.281; 6.136.344; 6.183.776; 6.328.994; 6.479.075; 6.559.167 e nas aplicações de patente a seguir e patentes abaixo: DE-A-3531487, EP-A-0 005 129, EP-A-0 124 495, EP-A-0 166 287, 5 EP-A-0 174 726, EP-A-0 184 322, EP-A-0 254 588, EP-A-0 261 478, EP-A-1 268 956, EPA-0 434 999 e WO-A-9523149.

Em aspectos da invenção o inibidor de bomba de próton é selecionado do grupo consistindo em 5-metoxi-2-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)-metilsulfinil]-1H-benzimidazol (omeprazol), 5-metoxi-2-[(S)-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil)metil] sulfinil]-1 H-benzimidazol (esomeprazol), 2-[3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)-2-piridinil)metilsulfinil]-1H-benzimidazol (lansoprazol), 2-{[4-(3-metoxipropoxi)-3-metilpiridina-2-il]metilsulfinil}-1H-benzimidazol (rabeprazol), 5-difluorometoxi-2-[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)-metilsulfinil]-1 H-benzimidazol (pantoprazol) e os hidratos, solvatos, sais, hidratos dos sais e solvatos dos sais dos mesmos.

20 Em outros aspectos da invenção um inibidor de bomba de prótons está na forma de um sal. Um sal de um inibidor de bomba de próton pode ser preparado, por exemplo, a partir de ácidos fórmicos, acéticos, propiônicos, succínicos, glicólicos, glucônicos, lácticos, 25 málicos, tartáricos, cítricos, ascórbicos, glucurônicos, maléicos, ftimárico, pirúvico, aspártico, glutâmico, benzóico, antranílico, mesílico, esteárico, salicílico, p-hidroxibenzóico, fenilacético, mandélico, embônico, metanosulfônico, etanosulfônico, benzenosulfônico, 30 pantotênico, toluenosulfônico, 2-hidroxietanosulfônico,

sulfanílico, ciclohexilaminosulfônico, algênico,  $\beta$ -hidroxibutírico, galactárico e galacturônico.

Em uma modalidade, sais de adição de ácido são preparados a partir da base livre de um inibidor de bomba de próton utilizando métodos convencionais envolvendo a reação da base livre com um ácido adequado. Ácidos adequados para preparar os sais de adição de ácido incluem sem limitação os ácidos orgânicos, tal como ácido acético, ácido propiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malônico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido tartático, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanosulfônico, ácido etanosulfônico, ácido p-toluenosulfônico, ácido salicílico, e semelhante; assim como os ácidos inorgânicos, tal como ácido hidrolórico, ácido hidrobrômico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, e semelhante.

Em outra modalidade, um sal de adição de ácido é convertido em uma base livre mediante tratamento com uma base adequada. Em uma modalidade adicional, um sal de adição de ácido é um sal de haleto, o qual é preparado utilizando ácidos clorídricos ou hidrobrômicos. Em ainda outra modalidade, o sal básico é um sal de metal alcalino, tal como um sal de sódio ou sal de cobre.

Exemplos de sais de inibidores de bomba de próton incluem sem limitação: uma forma de sal de sódio tal como esomeprazol sódio, omeprazol sódio, rabeprazol sódio, pantoprazol sódio; ou uma forma de sal de magnésio tal como esomeprazol magnésio ou omeprazol magnésio descrito na Patente US 5.900.424; uma forma de sal de cálcio; ou uma

forma de sal de potássio tal como o sal de potássio de esomeprazol descrito nas Patentes US 02/0198239 e 6.511.996. Outros sais de esomeprazol são descritos nas Patentes US 4.738.974 e 6.369.085. Formas de sal de pantoprazol e lansoprazol são reveladas nas Patentes US 4.758.579 e 4.628.098, respectivamente.

Em uma modalidade, ésteres de inibidores de bomba de próton são utilizados. Um éster pode ser preparado mediante funcionalização de grupos hidroxil e/ou carboxil que podem estar presentes dentro da estrutura molecular da droga. Em outra modalidade, os ésteres são derivados substituídos com acil de grupos de álcool livre tais como as frações derivadas de ácidos carboxílicos da fórmula -RCOOR<sup>1</sup> onde R<sup>1</sup> é um grupo alquil especificamente um grupo alquil inferior. Um éster pode ser convertido em um ácido livre, se desejado, mediante uso de procedimentos convencionais tal como hidrogenólise ou hidrólise.

Um inibidor de bomba de prótons ou seu sal pode estar em uma forma cristalina. Cristais de um inibidor de bomba de próton podem conter quantidades variáveis de solvente. Portanto, o termo "inibidor de bomba de próton" inclui todos os solvatos, especificamente todos os hidratos, dos inibidores de bomba de próton e seus sais.

Em aspectos específicos da invenção o inibidor de bomba de próton é um sal ou hidrato incluindo sem limitação pantoprazol-sódio sesquihidrato [pantoprazol-sódiox1,5 H<sub>2</sub>O], (-)-pantoprazol-sódio sesquihidrato, pantoprazol-magnésio de hidrato, omeprazol-magnésio, omeprazol-magnésio tetrahidrato, esomeprazol-magnésio e esomeprazol-magnésio tetrahidrato.

Em vários aspectos da invenção, o inibidor de bomba de próton é um aril-imidazol bicíclico substituído, em que o grupo aril pode ser, por exemplo, um grupo piridina, fenil ou pirimidina que é ligado às posições 4 e 5 do anel de imidazol. Inibidores de bomba de próton compreendendo um aril-imidazol bicíclico substituído incluem, mas não são limitados a, omeprazol, hidroxiomeprazol, esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, dontoprazol, habeprazol, perprazol, tenatoprazol, ransoprazol, pariprazol, leminoprazol, ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, éster, amida, enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, pró-droga, ou derivado dos mesmos. (Vide, por exemplo, *The Merck Index*, Merck & Co. Rahway, N.J. (2001)).

Compostos de aril-imidazol, bicíclicos substituídos assim como seus sais, hidratos, ésteres, amidas, enantiômeros, isômeros, tautômeros, polimorfos, pró-drogas, e derivados podem ser preparados utilizando procedimentos padrão conhecidos daqueles versados na técnica de química orgânica sintética. Vide, por exemplo, March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*, 4ª Ed. (New York: Wiley-Interscience, 1992); Leonard et al., *Advanced Practical Organic Chemistry*, (1992); Howarth et al.; *Core Organic Chemistry* (1998); e Weisermel et al., *Industrial Organic Chemistry* (2002).

Um tautômero de um aril-imidazol bicíclico substituído inclui sem limitação tautômeros de omeprazol tais como aqueles revelados nas Patentes US 6.262.085; 6.262.086; 6.268.385; 6.312.723; 6.316.020; 6.326.384; 6.369.087; e 6.444.689; e Publicação US 02/0156103. Um

exemplo de um isômero de um aril-imidazol bicíclico substituído é um isômero de omeprazol incluindo, mas não limitado a um isômero revelado em Oishi et al., Acta Cryst. (1989), C45, 1921-1923; Patente US 6.150.380; Publicação de  
 5 Patente US 02/0156284; e Publicação US WO 02/085889.

Uma amida de um composto de aril-imidazol bicíclico pode ser preparada utilizando-se técnicas conhecidas daqueles versados na arte ou descritas na literatura pertinente. Por exemplo, uma amida pode ser  
 10 preparada a partir de ésteres, utilizando reagentes de amida adequados, ou elas podem ser preparadas a partir de um anidrido ou de um cloreto ácido mediante reação com um grupo amina, por exemplo, amônia ou um alquil amina inferior.

15 Polimorfos adequados incluem, mas não são limitados aos polimorfos descritos na Publicação PCT N° 4.045.563; 4.182.766; 4.508.905; 4.628.098; 4.636.499; 4.689.333; 4.758.579; 4.783.974; 4.786.505; 4.808.596; 4.853.230; 5.026.560; 5.013.743; 5.035.899; 5.045.321;  
 20 5.045.552; 5.093.132; 5.093.342; 5.433.959; 5.464.632; 5.536.735; 5.576.025; 5.599.794; 5.629.305; 5.639.478; 5.690.960; 5.703.110; 5.705.517; 5.714.504; 5; 5.731.006; 5.879.708; 5.900.424; 5.948.773; 5.948.789; 5.997.903; 6.017.560; 6.123.962; 6.147.103; 6.150.380; 6.166.213;  
 25 6.191.148; 5.187.340; 6.268.385; 6.262.086; 6.262.085; 6.296.875; 6.316.020; 6.328.994; 6.326.384; 6.369.085; 6.369.087; 6.380.234; 6.384.059.6.428.810; 6.444.689; 6.462.058; 6.903.122; 6.933.389; e 6.939.971.

Em aspectos da invenção, um inibidor de bomba de  
 30 próton adequado para uso na invenção é um composto de

benzimidazol, por exemplo, um composto de benzimidazol descrito nos documentos de patente a seguir: Patentes US 4.045.563; 4.255.431; 4.359.465; 4.472.409; 4.508.905; 4.628.098; 4.738.975; 5.045.321; 4.786.505; 4.853.230; 5 5.045.552; e 5.312.824; EP-A-295603; EP-A-166287; EP-A-519365; EP5129; EP 174.726; EP 166.287; GB 2.163.747; e JP-A-59181277.

Em modalidades da invenção o inibidor de bomba de prótons é leminoprazol, nepaprazol, tenatoprazol, 10 omeprazol, isomeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol, pariprazol, (-)pantoprazol, soraprazan, ilaprazol, AZD-0865, hidroximeprazol, dontoprazol, habeprazol, periprazol, ransoprazol, pariprazol, ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, éster, amida, 15 enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, metabólito ou pró-droga dos mesmos.

Em modalidades específicas da invenção, o inibidor de bomba de próton é um ou mais de omeprazol, hidroximeprazol, esomeprazol, tenatoprazol, lansoprazol, 20 pantoprazol, rabeprazol, dontoprazol, habeprazol, periprazol, ransoprazol, pariprazol, leminoprazol; ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, éster, amida, enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, metabólito ou pró-droga dos mesmos.

25 Em outras modalidades específicas da invenção, o inibidor de bomba de próton é um ou mais de tenatoprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, dontoprazol, habeprazol, periprazol, ransoprazol, pariprazol, leminoprazol; ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, 30 éster, amida, enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo,

metabólito ou pró-droga dos mesmos.

Em aspectos específicos da invenção um inibidor de bomba de próton compreende ou é selecionado do grupo consistindo em omeprazol, hidroxiomeprazol, esomeprazol, 5 tenatoprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, dontoprazol, habeprazol, periprazol, ransoprazol, pariprazol, leminoprazol; ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, éster, amida, enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, ou pró-droga dos mesmos.

10 Inibidores de bomba de próton preferidos são esomeprazol (Nexium), lansoprazol (Zoton), pantoprazol (Protium), rabeprazol sódio (Pariet), ou um seu sal ou isômero farmaceuticamente aceitável.

Um "antagonista de receptor de histamina-2" ou 15 "antagonista H-2" se refere a um composto que bloqueia os receptores H-2, porém não tem atividade significativa no bloqueio dos receptores de histamina-1. Antagonistas de H-2 seletivos incluem compostos que são revelados nas Patentes US 5.294.433; 5.364.616, e Pedido de Patente US 20 20050042283, incluindo sem limitação cimetidina [Merck Index, 11ª edição (1989), pág. 354 (registro nº 2279) e Physicians' Desk Reference, 46ª edição (1992), pág. 2228]; etintidina (Patente US 4.112.234); ranitidina ou seu sal de hidrocloreto (AH-19065) [Patente US 4.128.658, Merck Index, 25 11ª edição (1989), pág. 1291 (registro nº 8126), e Physicians' Desk Reference, 46ª edição (1992), pág. 1063]; hidroximetil ranitidina; citrato de ranitidina bismuto (GR-122311, GR-122311X); AH-18801; N-ciano-N'-(2-(((5-((dimetilamino)metil)-2-furanil)metil)tio)etil)-N"-metil- 30 guanidina; tiotidina (Patente US 4.165.378); ORF-17578

(Patente US 4.203.909); lupitidina (SKF-93479) (Patente US 4.234.588); donetidina (SKF-3574); famotidina (YM-11170, MK-208) [Merck Index, 11ª edição (1989), pág. 617 (registro no. 3881), e Physicians' Desk Reference, 46ª edição (1992), pág. 1524]; acetato de roxatidina ou rozatidina [Patente US 4.293.557, Merck Index, 11ª edição (1989), pág. 1316 (registro no. 8252)]; pifatidina; lamtidina (Patente US 4.318.913); BL-6548; BMY-25271; zaltidina (Patente US 4.374.843); nizatidina [Patente US 4.375.547, Merck Index, 11ª edição (1989), pág. 1052 (registro no. 6582), e Physicians' Desk Reference, 46ª edição (1992), pág. 1246)]; mifentidina e seu sal de hidrocloreto [(Patente US 4.386.099, Merck Index, 11ª edição (1989), pág. 973 (registro no. 6108)]; ICIA-5165 (Patente US 4.165.377); BMY-25368 (SKF-94482) (Patente US 4.390.701); SYF-94482; ICI-162846 (Patente US 4.451.463); ramixotidina (Patente US 4.474.790); BL-6341A (BMY-26539) (Patente US 4.394.508); Wy-45727 (Patente US 4.490.527); SR-58042 (Patente US 4.514.408); BMY-25405 (Patentes US 4.528.377 e 4.600.779); loxtidina (Patente US 4.536.508); DA-4634 (Patentes US 4.548.944 e 4.645.841); bisfentidina (Patente US 4.649.150); sufotidina (Patente US 4.670.448); ebrotidina (Patente US 4.728.755) HE-30-256 (Patente US 4.738.960); D-16637 (Patente US 4.738.983); FRG-8813 (Patentes US 4.912.101 e 4.977.267); FRG-8701 (Patente US 4.837.316); impromidina (Relatório descritivo de Patente No. 1.531.237); L-643728 (Pedido de Patente Européia No. 0.040.696); MK-208 (Patente US 4.283.408); HB-408 (Pedido de Patente Européia No. 0.186.275); burimamida; e, metiamida.



Um "composto receptor ativado por proliferador de peroxisoma" ou (composto PPAR) se refere a um receptor ativado por proliferador de peroxisoma, especificamente receptor ativado por proliferador de peroxisoma  $\alpha$  ou  $\gamma$ , ou seu agonista, incluindo um ligante de PPAR, especificamente, ligantes sintéticos de PPAR, tais como compostos de fibrato ou tiazolidinadionas. Exemplos de compostos de PPAR são fenofibrato, fenofibrato micronizado, bezafibrato, gemfibrazil e ciprofibrato, ou os sais farmacologicamente aceitáveis de tal composto. Os compostos PPAR são revelados em The Merck Index, 13ª Edição, (2001), cujo conteúdo é incorporado aqui como referência em sua totalidade como se fosse aqui completamente apresentado.

"Condição(ões) e/ou doença(s)" se refere a um ou mais sintomas patológicos ou síndromes para os quais ambos, um inibidor de DPP-IV ou um composto de gastrina proporcionam um efeito benéfico ou terapêutico. A condição e/ou doença pode exigir a redução dos níveis de glicose do sangue, inibição de secreção de ácido gástrico, inibição de apoptose de células- $\beta$ , estímulo da proliferação ou diferenciação de células- $\beta$ , e redução do peso corpóreo. Exemplos de condições e/ou doenças incluem, mas não são limitados a dislipidemia, hiperglicemia, episódios hipoglicêmicos graves, derrame, hipertrofia ventricular esquerda, arritmia, bacteremia, septicemia, síndrome de intestino irritável, dispepsia funcional, diabetes, mudanças catabólicas após cirurgia, hiperglicemia induzida por tensão, síndrome de distúrbio respiratório, úlceras gástricas, infartação do miocárdio, tolerância prejudicada à glicose, hipertensão, insuficiência cardíaca crônica,

estados de retenção de fluido, síndrome metabólica e doenças e distúrbios relacionados, obesidade, complicações diabéticas assim como sintomas de outras doenças nas quais o tecido é danificado devido aos níveis elevados de glicose, incluindo Mal de Alzheimer, Mal de Parkinson, e outras doenças degenerativas de tecido, relacionadas à idade, assim como os efeitos arterogênicos de leptina elevada, por exemplo, em pacientes com tolerância à glicose prejudicada e pacientes não-diabéticos obesos.

Em aspectos da invenção a condição e/ou doença é a diabetes, especificamente o diabetes melito do Tipo II, condições de tolerância prejudicada à glicose (IGT), condições de glicose de plasma prejudicada, acidose metabólica, citose, artrite, obesidade e osteoporose, doença inflamatória do intestino, Colite Ulcerosa, Morbus Crohn, e/ou síndrome metabólica ou proteção de célula-B. Preferivelmente as composições, conjugados e métodos da invenção são utilizados para tratamento e/ou profilaxia de diabetes melito não-dependente de insulina e/ou tolerância prejudicada à glicose.

O termo "diabetes" conforme aqui usado significa quaisquer sintomas de diabetes manifestados em qualquer mamífero incluindo modelos de animais experimentais, e incluindo as formas humanas tal como a diabetes do Tipo I e do Tipo II, diabetes no estágio prematuro, e a condição pré-diabética caracterizada por níveis de insulina brandamente diminuídos ou níveis de glicose do sangue brandamente elevados. Processos da doença diabetes podem ser derivados de múltiplos fatores causadores e são caracterizados por níveis elevados de glicose de plasma ou

hiperglicemia no estado de tolerância ou após administração de glicose durante um teste de tolerância à glicose oral. Morbidez e mortalidade aumentadas e prematuras são associadas à hiperglicemia persistente, ou não controlada.

5 Homeostase de glicose anormal pode ser associada diretamente e indiretamente às alterações de lipídio, lipoproteína e metabolismo de apolipoproteína e outras doenças metabólicas e hemodinâmicas. Pacientes com diabetes melito do Tipo II, portanto podem estar sobre risco  
10 aumentado de complicações macrovasculares e microvasculares, incluindo doença cardíaca coronárias, derrame, doença vascular periférica, hipertensão, nefropatia, neuropatia, e retinopatia.

Uma "condição pré-diabética" descreve um  
15 indivíduo demonstrando um sintoma em termos de nível de insulina ou glicose, e/ou demonstrando uma suscetibilidade ao diabetes ou uma condição relacionada devido ao histórico familiar, predisposição genética, ou obesidade no caso do diabetes Tipo II, e inclui um indivíduo que previamente  
20 teve diabetes ou uma condição relacionada e está sujeito ao risco de recorrência.

As condições e/ou doenças associadas ao diabetes, particularmente diabetes melito do Tipo II, incluem, porém, não são limitadas a nefropatia diabética, retinopatia  
25 diabética e neuropatia diabética, degeneração macular, doença cardíaca coronária, infartação do miocárdio, cardiomiopatia diabética, morte de célula miocárdial, doenças de artérias coronarianas, doenças de artérias periféricas, derrame, isquemia de membros, restenose  
30 vascular, ulcerações dos pés, disfunção endotelial e/ou

aterosclerose.

Em aspectos da invenção, uma condição e/ou doença pode ser selecionada do grupo consistindo em (a) diabetes melito do Tipo I ou do Tipo II e doenças relacionadas, 5 distúrbios ou condições (incluindo, porém não limitados a nefropatia diabética, retinopatia diabética e neuropatia diabética); (b) resistência à insulina e síndrome X, obesidade e doenças relacionadas, distúrbios ou condições (incluindo, mas não limitado a Resistência à Insulina, 10 Diabetes Melito Tipo II, Distúrbios Reprodutivos, Doença Cardiovascular, Doença Pulmonar, colecistite induzida por Gallstones e Fasting, Cânceres e Doença Cutânea), Síndrome de Cushing, Hipotireoidismo, Insulinoma, Craniofaringioma e outros distúrbios envolvendo o Hipotálamo; (c) 15 insuficiência cardíaca congestiva, hipertrofia ventricular esquerda, sobrevivência pós-infartação do miocárdio (MI), doenças de artérias coronárias, aterosclerose, angina de peito, trombose, (d) hipertensão incluindo hipertensão nos mais idosos, hipertensão dislipidêmica familiar e 20 hipertensão sistólica isolada (ISH); formação de colágeno aumentada, fibrose, e remodelação após hipertensão (efeito antiproliferativo da combinação); complacência vascular prejudicada, derrame; todas essas doenças ou condições associadas com ou sem hipertensão, (e) insuficiência renal, 25 especificamente insuficiência renal crônica, glomerulosclerose, nefropatia; (f) hipotireoidismo; (g) disfunção endotelial com ou sem hipertensão, (h) hiperlipidemia, hiperlipoproteïnemia, hipertrigliceridemia, e hipercolesterolemia, (i) degeneração macular, catarata, 30 glaucoma, (j) distúrbios de tecido conectivo e pele, e (k)

restenose após angioplastia transluminal percutânea, e restenose após cirurgia de desvio de artéria coronária; doença vascular periférica.

5 "Atividade insulínica" se refere a uma capacidade de uma substância em estimular a secreção de insulina em resposta aos níveis elevados de glicose para produzir uma admissão de glicose aumentada pelas células e níveis de glicose de soro ou de glicose sanguínea diminuídos. Métodos conhecidos na técnica podem ser empregados para ensaio para atividade insulínica. Por exemplo, métodos in vitro e in vivo podem ser usados que medem os níveis de insulina ou C-peptídeo. Compostos, composições ou conjugados aqui descritos têm atividade insulínica se as células de ilhotas secretam insulina na presença dos compostos, composições, ou conjugados acima dos níveis antecedentes ou níveis na ausência dos compostos, composições ou conjugados. Um composto pode ser administrado a um animal e a concentração de insulina pode ser monitorada com o passar do tempo.

20 "Neogênese de ilhotas" significa a formação de novas células beta mediante diferenciação, que podem ou não ter as características das células-tronco que têm a capacidade de se reproduzir de uma maneira ilimitada.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES DA INVENÇÃO

25 A invenção é relacionada às composições, conjugados, e métodos que utilizam um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina. Especificamente, a invenção se refere às composições, conjugados e métodos para a prevenção, intervenção e/ou tratamento de uma condição e/ou doença discutida aqui compreendendo pelo menos um inibidor

30

de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina. Em aspectos da invenção, as composições, conjugados e métodos da invenção proporcionam efeitos benéficos, especificamente, efeitos benéficos aperfeiçoados, mais particularmente  
5 efeitos benéficos sustentados em relação a um inibidor de DPP-IV e/ou um composto de gastrina isoladamente. Os efeitos benéficos podem ser complementares, aditivos ou efeitos sinérgicos.

Em aspectos da invenção, onde a condição e/ou  
10 doença é a diabetes, efeitos benéficos, especificamente efeitos benéficos sustentados de uma composição, tratamento combinado, ou conjugado da invenção podem se manifestar como um ou mais dos seguintes:

a) Um aumento nos níveis de insulina  
15 pancreática em relação aos níveis medidos na ausência dos compostos ativos ou para composto isoladamente após administração a um indivíduo com sintomas de diabetes. Preferivelmente os compostos juntos induzem pelo menos um aumento de aproximadamente 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2%, 5%,  
20 10%, 15%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, ou 50% em níveis de insulina pancreática em um indivíduo.

b) Uma redução de uma ausência de sintomas de inflamação de ilhotas após administração a um indivíduo com sintomas de diabetes.

25 c) Uma diminuição nos níveis de glicose sanguínea em relação aos níveis medidos na ausência dos compostos ou para cada composto isoladamente em indivíduos com sintomas de diabetes. Preferivelmente, os compostos induzem pelo menos aproximadamente uma diminuição de 1%,  
30 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% ou 90%

nos níveis de glicose sanguínea. Mais preferivelmente, os compostos produzem níveis de glicose sanguínea aproximadamente ou próximo dos níveis comuns em um indivíduo normal.

5                   d) Um aumento em níveis de C-peptídeo em relação aos níveis medidos na ausência dos compostos ou para cada composto isoladamente em indivíduos com sintomas de diabetes. Preferivelmente, os compostos em conjunto induzem pelo menos um aumento de aproximadamente 0,05%,  
10   0,1%, 0,5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, ou 50% em níveis de C-peptídeo.

                  e) Manutenção dos níveis de glicose sanguínea aproximadamente normais, especificamente por um período de tempo prolongado.

15                   f) Manutenção da hemoglobina A1c ou hemoglobina glicada em níveis aproximadamente normais por um período de tempo prolongado, especificamente, mantendo uma percentagem de hemoglobina A1c entre 6-8%, mais particularmente em aproximadamente 7%.

20                   g) Uma redução na destruição das células beta. Preferivelmente os compostos induzem uma redução de pelo menos aproximadamente 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% ou 90%.

                  h) Um aumento na função das células beta.  
25   Preferivelmente os compostos induzem um aumento de pelo menos aproximadamente 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% ou 90% na função das células beta.

                  i) Uma diminuição no fornecimento ou utilização de insulina em comparação com a ausência dos compostos ou  
30   para cada composto isoladamente em indivíduos diabéticos.

Preferivelmente, os compostos proporcionam uma redução de pelo menos aproximadamente 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%, 30-100%,  
 5 30-80%, ou 35-75%, no fornecimento ou utilização de insulina.

j) Uma diminuição na exigência de injeção/admissão de insulina em pelo menos 5-99%, 5-95%, 10-98%, 10-95%, 10-90%, 10-80%, 10-70%, 10-60%, 10-50%, 10-40%, 10-30%, 10-20%, 20-100%, 20-75%, 30-100% 30-90%, 30-80%, 30-75%, 35-90%, 35-80%, ou 35-75%.

k) Uma redução, prevenção, ou desaceleração da taxa de progressão da doença em um indivíduo com diabetes.

l) Uma redução ou prevenção do desenvolvimento  
 15 de hiperglicemia e cetoacidose grave com sintoma de diabetes.

m) Um aumento na sobrevivência em um indivíduo com sintomas de diabetes.

Em modalidades da invenção, efeitos benéficos ou  
 20 efeitos benéficos sustentados compreendem ou consistem essencialmente em dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze ou treze de a) a m). Em modalidades específicas, os efeitos benéficos ou os efeitos benéficos sustentados compreendem ou consistem  
 25 essencialmente em a), b), e c); a), b), c), e d); a), b), c), d), e e); a), b), c), d), e), e f); a), b), c), d), e), f), e g); a), b), c), d), e), f), g), e h); a), b), c), d), e), f), g), h), e i); a), b), c), d), e), f), g), h), i) e j); a), d), e e); a), d), e), e h); a), d), e), h), e i);  
 30 a), d), e), h), i), e j); a), b), c), d), e), h), i), e j);



a), b), c), d), e), h), i), j), e k); b), c), d), e e); b), c), d), e), h), i), e j); b), h), i) e j); a) a e); a) a f); a) a g); a) a h); a) a i); a) a j); a) a k); a) a l); e a) a m).

5 Um ou mais desses efeitos benéficos ou efeitos benéficos sustentados podem ser demonstrados em um indivíduo diabético ou modelo de doença, por exemplo, um camundongo não-obeso (NOD) com sintomas de diabetes, utilizando métodos padrão conhecidos daqueles versados na  
10 técnica. Por exemplo, métodos e kits comercialmente disponíveis podem ser usados para ensaio de níveis de insulina pancreática, níveis de glicose, níveis de C-peptídeo e hemoglobina Alc.

Um composto de gastrina pode ser selecionado para  
15 modalidades específicas na presente invenção e para prover um efeito(s) benéfico específico com base nas características incluindo sua atividade insulínica, a capacidade de aumentar a atividade de um inibidor de DPP-IV, e/ou aumento da estabilidade física ou química de um  
20 inibidor de DPP-IV. Um composto de gastrina também pode ser selecionado com base em sua capacidade de estimular a proliferação/diferenciação de células beta, e sua meia vida in vivo.

Em aspectos da invenção um composto de gastrina  
25 compreende uma sequência de aminoácido compreendendo, a partir do terminal amino, Z-Y<sub>m</sub>-X<sub>n</sub>-AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub>, em que AA<sub>1</sub> é Tyr ou Phe, AA<sub>2</sub> é Gly, Ala, ou Ser, AA<sub>3</sub> é Trp, Val, ou Ile, AA<sub>4</sub> é Met ou Leu, AA<sub>5</sub> é Asp ou Glu, e AA<sub>6</sub> é Phe ou Tyr; Z é um polímero opcional e quando o polímero é uma  
30 proteína Z é uma sequência de aminoácido; Y<sub>m</sub> é uma região de

espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, porém, não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva de resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou resíduos 1-17 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub> é Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe.

Em aspectos da invenção, um composto de gastrina usado nos métodos, composições e conjugados aqui revelados é a gastrina 17 e seus análogos e derivados, opcionalmente associados a um polímero. Em um aspecto específico, o composto de gastrina é gastrina I humana sintética tendo 17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição 15 de aminoácido [SEQ ID N° 4].

Em outros aspectos da invenção, um composto de gastrina usado nos métodos, composições e conjugados aqui revelados é a gastrina 34 e seus análogos e derivados. Em um aspecto específico, o composto de gastrina é uma gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID N°: 1 ou 2].

Em modalidades adicionais da invenção, um composto de gastrina usado nos métodos, composições e conjugados da invenção é gastrina 34 ou gastrina 17 ou porções da mesma, interagindo diretamente ou indiretamente ou associada a uma proteína de soro, especificamente, albumina ou uma imunoglobulina, mais particularmente albumina de soro humano.

Em aspectos da invenção, um composto de gastrina compreende gastrina humana sintética 34 tendo 2-34 resíduos de aminoácido de SEQ ID N°: 1 ou 2, e opcionalmente uma cisteína de N-terminal e/ou um carreador; gastrina humana

sintética tendo 1-17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição 15 de aminoácido [SEQ ID N° 4] e opcionalmente um resíduo de cisteína de N-terminal; e uma gastrina sintética humana tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N: 3 ou 4, opcionalmente com um resíduo de cisteína de N-terminal e/ou um carreador (por exemplo, albumina de soro humano ou PEG) ligado por intermédio de um espaçador [por exemplo, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala, isto é, (GA)<sub>5</sub>] [SEQ ID N°2], especificamente, uma gastrina sintética humana tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N° 3 ou 4, com um polímero de albumina de soro humano (HSA) ligado por intermédio de um espaçador Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala [isto é, (GA)<sub>5</sub>], e opcionalmente um resíduo de cisteína de N-terminal.

Um inibidor de DPP-IV pode ser selecionado para aplicações específicas na presente invenção com base em uma ou mais das seguintes características: estender a ação da insulina; suprimir a liberação de glucagons; aumentar a produção de célula beta; e/ou e inibidor a morte programada de célula (apoptose).

Em aspectos da invenção, o inibidor de DPP-IV compreende ou é selecionado a partir dos inibidores referidos na Tabela 1.

Em aspectos específicos da invenção o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

Em modalidades da invenção o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina, Vildagliptina, ou Saxagliptina, especificamente Vildagliptina (Galvus®).

Composições farmacêuticas da invenção podem ser  
5 selecionadas que proporcionam efeitos benéficos, especificamente efeitos benéficos estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados, em comparação com um inibidor de DPP-IV ou um composto de gastrina isoladamente. Preferivelmente, há pelo menos um  
10 efeito benéfico, por exemplo, um melhoramento mútuo do efeito de um inibidor de DPP-IV na forma de um sal livre ou farmaceuticamente aceitável e pelo menos um composto de gastrina, efeitos adicionais vantajosos, menos efeitos colaterais, um efeito terapêutico combinado em uma dosagem  
15 não-eficaz de um ou de cada um dos componentes, e especialmente um efeito sinérgico, por exemplo, um efeito mais do que aditivo, entre um inibidor de DPP-IV na forma de sal livre ou farmaceuticamente aceitável, e um composto de gastrina. Os efeitos benéficos com relação a uma  
20 condição diabética podem ser evidenciados por um ou mais dos efeitos benéficos descritos aqui, especificamente, um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais dos efeitos benéficos descritos acima em a) a m).

Certos aspectos da invenção se referem a uma  
25 combinação para uso simultâneo, separado ou seqüencial. Preferivelmente a combinação é uma composição farmacêutica compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-IV na forma de sal livre ou farmaceuticamente aceitável, e pelo menos um composto de gastrina na forma de sal livre ou  
30 farmaceuticamente aceitável. Preferivelmente a composição

farmacêutica é uma preparação combinada ou uma combinação fixa. Preferivelmente a composição farmacêutica é uma preparação combinada para uso simultâneo, separado ou seqüencial. Uma preparação combinada também é considerada a  
5 qual compreende um inibidor de DPP-IV na forma de sal livre ou farmacêuticamente aceitável e pelo menos um composto de gastrina na forma de sal livre ou farmacêuticamente aceitável e opcionalmente pelo menos um, isto é, um ou mais, por exemplo, dois carreadores farmacêuticamente  
10 aceitáveis para uso simultâneo, separado ou seqüencial.

Uma composição farmacêuticamente aceitável com efeitos benéficos, mais preferivelmente efeitos benéficos estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados, é provida compreendendo um inibidor de DPP-IV  
15 preferivelmente selecionado do grupo consistindo em um ou mais inibidores de DPP-IV revelados em uma referência relacionada na Tabela 1, especificamente, Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil  
20 tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, e L-alo-isoleucil pirrolidina descritos na Patente US 6.001.155, WO 99/61431, WO 99/67278, WO 99/67279, DE 198 34 591, WO 97/40832, DE 196 16 486C<sub>2</sub>, WO 98/19998, WO 00/07617, WO 99/38501, e WO  
25 99/46272, e US20050222221, e um ou mais compostos de gastrina (por exemplo, SEQ ID N° 1, 2, 3 ou 4).

Uma composição farmacêutica especificamente com efeitos benéficos, mais particularmente efeitos benéficos estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados, é provida compreendendo um ou mais inibidor de  
30

DPP-IV selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência relacionada na Tabela 1, especificamente, Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, e L-alo-isoleucil pirrolidina descritos na Patente US 6.001.155, WO 99/61431, WO 99/67278, WO 99/67279, DE 198 34 591, WO 97/40832, DE 196 16 486C<sub>2</sub>, WO 98/19998, WO 00/07617, WO 99/38501, e WO 99/46272, e US20050222221, e um ou mais compostos de gastrina tendo uma seqüência de aminoácido compreendendo, a partir do terminal amino, Z-Y<sub>m</sub>-X<sub>n</sub>-AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub>, em que AA<sub>1</sub> é Tyr ou Phe, AA<sub>2</sub> é Gly, Ala, ou Ser, AA<sub>3</sub> é Trp, Val, ou Ile, AA<sub>4</sub> é Met ou Leu, AA<sub>5</sub> é Asp ou Glu, e AA<sub>6</sub> é Phe ou Tyr; Z é um polímero opcional e quando o polímero é uma proteína Z é uma seqüência de aminoácido; Y<sub>m</sub> é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, porém, não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva dos resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou resíduos 1-11 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub> é Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe. Em uma modalidade específica, Z é uma proteína de soro, especificamente albumina de soro humano.

Em um aspecto, uma composição farmacêutica com efeitos benéficos estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados é provida compreendendo um ou mais inibidores de DPP-IV e um ou mais de um composto de gastrina de qualquer uma das SEQ ID N° 1 a 9 ou suas

modificações, especificamente gastrina-34(Leu) [SEQ ID N° 2] ou gastrina-17(Leu) [SEQ ID N° 4].

Em um aspecto, uma composição farmacêutica com efeitos benéficos estatisticamente significativos ou  
5 efeitos benéficos sustentados é provida compreendendo um ou mais inibidor de DPP-IV selecionado do grupo consistindo em Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil  
10 tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, e L-alo-isoleucil pirrolidina e um ou mais de um composto de gastrina de qualquer uma das SEQ ID N°s 1 a 9 ou suas modificações, especificamente gastrina-34(Leu) [SEQ ID N° 2] ou gastrina-17(Leu) [SEQ ID N° 4].

15 Em um aspecto, uma composição farmacêutica com efeitos benéficos estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados é provida compreendendo um ou mais inibidores de DPP-IV selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência  
20 relacionada na Tabela 1, especialmente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina- e  
25 gastrina-17(Leu) [SEQ ID N° 4].

Em um aspecto, uma composição farmacêutica com efeitos benéficos estatisticamente significativos ou  
efeitos benéficos sustentados é provida compreendendo um ou mais inibidores de DPP-IV selecionado do grupo consistindo  
30 em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência listada

na Tabela 1 especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina e um ou mais agonista de gastrina selecionado do grupo consistindo em esomeprazol, tenatoprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, dontoprazol, habeprazol, periprazol, ransoprazol, pariprazol, leminoprazol; ou uma base livre, ácido livre, sal, hidrato, éster, amida, enantiômero, isômero, tautômero, polimorfo, metabólito ou pró-droga dos mesmos.

Em certos aspectos da invenção, sais farmaceuticamente aceitáveis de um inibidor de DPP-IV e/ou sais farmaceuticamente aceitáveis de um composto de gastrina são utilizados.

A invenção em aspectos específicos provê uma composição farmacêutica a qual foi adaptada para administração a um indivíduo para prover efeitos benéficos sustentados para tratar uma condição e/ou doença, especificamente o diabetes. Em uma modalidade para a prevenção e/ou tratamento de diabetes, a composição está em uma forma tal que a administração a um indivíduo resulta em níveis de glicose sanguínea que são aproximadamente normais, e especificamente níveis que persistem no indivíduo por um período de tempo prolongado após cessação do tratamento.

Esta invenção provê um conjugado compreendendo um inibidor de DPP-IV vinculado ou interagindo com um composto de gastrina em que a interação é, por exemplo, por intermédio de um grupo amino ou um grupo carboxil. A



invenção também se refere a conjugados covalentes isolados da invenção, e composições compreendendo conjugados covalentes da invenção. Um inibidor de DPP-IV pode ser conjugado a uma espécie por intermédio de uma ligação de éster entre um OH e um COOH. Conjugados de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem ser conjugados com um espaçador ou ligador intermediário. Um espaçador ou ligador adequado pode ser um mono- ou dissacarídeo, um aminoácido, um sulfato, um succinato, um acetato, ou um espaçador ou ligador polimérico oligomérico compreendendo uma ou mais de tais frações.

A invenção também provê métodos de preparar conjugados que resultam em conjugados com propriedades farmacocinéticas aperfeiçoadas, e efeitos benéficos. Os métodos compreendem incubar o inibidor de DPP-IV com um composto de gastrina sob condições que permitem a formação de uma ligação covalente entre os compostos. A invenção, portanto, considera um processo para preparar um conjugado covalente compreendendo um inibidor de DPP-IV ligado ou vinculado covalentemente a um composto de gastrina, o processo compreendendo: incubar o inibidor de DPP-IV com um composto de gastrina sob condições e em um pH e por um tempo suficiente para a formação de uma ligação ou articulação covalente entre o inibidor de DPP-IV e o composto de gastrina; e isolar o conjugado covalente. O processo acima para preparar um conjugado compreendendo um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina pode prover um conjugado com uma quantidade substancial de um inibidor de DPP-IV ligado covalentemente ao inibidor de DPP-IV.

Proteínas de fusão N-terminal ou C-terminal ou

proteínas quiméricas, compreendendo um inibidor de DPP-IV de peptídeo conjugado com um composto de gastrina, opcionalmente com um espaçador ou ligador, também podem ser preparadas mediante fusão, através de técnicas recombina-  
5 recombina-tes, a seqüência N-terminal ou C-terminal de um inibidor de DPP-IV de peptídeo e a seqüência de um composto de gastrina.

A invenção se refere a um conjugado preparado por intermédio de um processo aqui descrito. A invenção também se refere à formulação ou composição farmacêutica  
10 se refere à formulação ou composição farmacêutica compreendendo conjugados da invenção e um carreador, excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

A invenção se refere adicionalmente a uma formulação ou composição farmacêutica de conjugados covalentes substancialmente puros compreendendo um inibidor  
15 covalentes substancialmente puros compreendendo um inibidor de DPP-IV ligado covalentemente a um composto de gastrina o qual provê efeitos benéficos preferivelmente efeitos benéficos sustentados em comparação com o inibidor de DPP-IV isoladamente. Em uma modalidade, uma formulação farmacêutica é provida compreendendo ou consistindo  
20 farmacêutica é provida compreendendo ou consistindo essencialmente em conjugados covalentes compreendendo um inibidor de DPP-IV ligado covalentemente sem um espaçador ou ligador intermediário a um composto de gastrina. Em outra modalidade, uma formulação farmacêutica é provida compreendendo ou consistindo essencialmente em conjugados covalentes compreendendo um inibidor de DPP-IV ligado covalentemente com um espaçador ou ligador intermediário a um composto de gastrina.  
25 compreendendo ou consistindo essencialmente em conjugados covalentes compreendendo um inibidor de DPP-IV ligado covalentemente com um espaçador ou ligador intermediário a um composto de gastrina.

Em aspectos da invenção, uma composição ou conjugado compreendendo um inibidor de DPP-IV e um composto  
30 conjugado compreendendo um inibidor de DPP-IV e um composto

de gastrina tem atividade insulínótropica sustentada superior após o tratamento em comparação com a atividade de um inibidor de DPP-IV ou composto de gastrina isoladamente.

A invenção provê métodos para a prevenção,  
5 tratamento e/ou intervenção de uma condição e/ou doença em um indivíduo compreendendo administrar pelo menos um composto de gastrina e pelo menos um inibidor de DPP-IV, ou uma composição farmacêutica da invenção para prover um efeito benéfico, especificamente, um efeito benéfico  
10 sustentado.

Em aspectos dos métodos da invenção, pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina são administrados. Em aspectos específicos, o inibidor de DPP-IV é um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência  
15 listada na Tabela 1, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

Em certos métodos da invenção, Sitagliptina,  
20 Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina são  
25 administrados. Em modalidades dos métodos da invenção, Sitagliptina, Vildagliptina, ou Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, preferivelmente Vildagliptina, são administrados.

Em aspectos da invenção um composto de gastrina é  
30 administrado compreendendo uma sequência de aminoácido

compreendendo, a partir do terminal amino, Z-Y<sub>m</sub>-X<sub>n</sub>-AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub>, em que AA<sub>1</sub> é Tyr ou Phe, AA<sub>2</sub> é Gly, Ala, ou Ser, AA<sub>3</sub> é Trp, Val, ou Ile, AA<sub>4</sub> é Met ou Leu, AA<sub>5</sub> é Asp ou Glu, e AA<sub>6</sub> é Phe ou Tyr; Z é um polímero opcional e quando o  
 5 polímero é uma proteína Z é uma seqüência de aminoácido; Y<sub>m</sub> é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, mas não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva de resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou  
 10 resíduos 1-17 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub> é Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe.

Em certos métodos da invenção provendo efeitos benéficos, especificamente efeitos benéficos  
 15 estatisticamente significativos ou efeitos benéficos sustentados, um inibidor de DPP-IV é selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência listada na Tabela 1, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-  
 20 (glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina e um composto de gastrina compreende uma seqüência de aminoácido compreendendo, a partir do  
 25 terminal amino, Z-Y<sub>m</sub>-X<sub>n</sub>-AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub>, em que AA<sub>1</sub> é Tyr ou Phe, AA<sub>2</sub> é Gly, Ala, ou Ser, AA<sub>3</sub> é Trp, Val, ou Ile, AA<sub>4</sub> é Met ou Leu, AA<sub>5</sub> é Asp ou Glu, e AA<sub>6</sub> é Phe ou Tyr; Z é um polímero opcional e quando o polímero é uma proteína Z é uma seqüência de aminoácido; Y<sub>m</sub> é uma região de espaçador  
 30 opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um

aminoácido neutro pequeno incluindo, mas não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva de resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou resíduos 1-17 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-AA<sub>3</sub>-AA<sub>4</sub>-AA<sub>5</sub>-AA<sub>6</sub> é Tyr-  
 5 Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe. Em uma modalidade específica, Z é uma proteína de soro, especificamente albumina de soro humano.

Em aspectos específicos da invenção, um composto de gastrina é administrado em combinação com um inibidor de  
 10 DPP-IV, em que o composto de gastrina compreende gastrina sintética humana 34 tendo 2-34 resíduos de aminoácido de SEQ ID N° 1 ou 2, e opcionalmente uma cisteína N-terminal e/ou um carreador; gastrina humana sintética tendo 1-17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15  
 15 [SEQ ID N° 4] e opcionalmente um resíduo de cisteína N-terminal; e uma gastrina humana sintética tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N° 3 ou 4, opcionalmente com um resíduo de cisteína N-terminal e/ou carreador (por exemplo, albumina de soro humano ou PEG) ligado por  
 20 intermédio de um espaçador [por exemplo, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala, isto é, (GA)<sub>5</sub>] [SEQ ID N°12], especificamente, uma gastrina humana sintética tendo resíduos de aminoácido 2 a 17 ou 5-17 de SEQ ID N° 3 ou 4, com um polímero de albumina de soro humano (HSA) ligado por  
 25 intermédio de um espaçador Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala [isto é, (GA)<sub>5</sub>], e opcionalmente um resíduo de cisteína de N-terminal.

Em uma modalidade dos métodos da invenção, uma gastrina 17 ou um seu análogo ou derivado, especificamente  
 30 gastrina humana sintética I tendo 17 resíduos de aminoácido

com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15 [SEQ ID N° 4], é administrado, em combinação com um inibidor de DPP-IV, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-  
5 cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

Em outras modalidades de métodos da invenção, uma gastrina 34 ou um seu análogo ou derivado, em um aspecto  
10 específico, gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID N° 1 ou 2] é administrada em combinação com um inibidor de DPP-IV, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-  
15 isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

Em certos aspectos dos métodos da invenção, sistemas farmacologicamente aceitáveis de um inibidor de DPP-IV e/ou  
20 composto de gastrina são utilizados.

A invenção provê um método para a prevenção e/ou intervenção de uma condição e/ou doença discutida aqui em um indivíduo compreendendo administração de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina. Um  
25 inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem ser administrados diretamente a um indivíduo, ou contatados com células (por exemplo, células-tronco ou células progenitoras) e administrados a um indivíduo.

A invenção também provê um tratamento combinado  
30 para prevenir e/ou tratar uma condição e/ou doença aqui

discutida em um indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para prover efeitos benéficos. Em um aspecto a  
5 invenção provê um tratamento combinado ou intervenção que provê efeitos benéficos sustentados após o tratamento.

Especificamente, a invenção provê um tratamento combinado para tratar ou prevenir uma condição e/ou doença em um indivíduo compreendendo administrar ao indivíduo uma  
10 quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para produzir efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados.

A invenção também se refere a um método de  
15 tratamento compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV em combinação com a administração de pelo menos um composto de gastrina o qual a partir da administração a um indivíduo com sintomas de diabetes, produz efeitos benéficos,  
20 preferivelmente efeitos benéficos sustentados, manifestados como níveis reduzidos de glicose sanguínea, preferivelmente até níveis aproximadamente normais, e/ou insulina pancreática aumentada.

Em um aspecto da invenção quantidades  
25 terapeuticamente eficazes de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina são combinados antes da administração a um indivíduo. Em uma modalidade, quantidades terapeuticamente eficazes e um ou mais inibidores de DPP-IV e um ou mais compostos de gastrina são  
30 misturados em um pH fisiologicamente aceitável.

Em outros aspectos a invenção se refere a um método para o tratamento e/ou profilaxia de doenças que são associadas ao DPP-IV tal como diabetes, particularmente diabetes melito não dependente de insulina, tolerância prejudicada à glicose, doença inflamatória dos intestinos, Colite Ulcerosa, Morbus Crohn, obesidade, e/ou síndrome metabólica ou proteção de célula-B, preferivelmente para o tratamento e/ou profilaxia de diabetes melito não dependente de insulina e/ou tolerância prejudicada à glicose, cujo método compreende administrar pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina a um indivíduo especificamente um ser humano ou animal.

Adicionalmente, a invenção se refere a um método para o tratamento e/ou profilaxia conforme definido acima, em que a doença é hipertensão ou em que um agente diurético tem um efeito benéfico. Além disso, a invenção se refere ao uso de compostos conforme definido acima para a preparação de medicamentos para o tratamento e/ou profilaxia de doenças que são associadas ao DPP-IV tal como diabetes, particularmente diabetes melito não dependente de insulina, tolerância prejudicada à glicose, doença inflamatória dos intestinos, Colite Ulcerosa, Morbus Crohn, obesidade, e/ou síndrome metabólica ou, proteção de célula-B, preferivelmente para o tratamento e/ou profilaxia de diabetes melito não dependente de insulina e/ou tolerância prejudicada à glicose. Além disso, a invenção se refere ao uso, conforme definido acima, em que a doença é hipertensão ou ao uso para a preparação de agentes diuréticos.

No contexto com os métodos e usos definidos acima, as doenças a seguir se referem a aspectos



específicos: diabetes, particularmente diabetes melito não dependente de insulina, tolerância prejudicada à glicose, obesidade, e/ou síndrome metabólica ou proteção de célula-B, preferivelmente diabetes melito não dependente de  
5 insulina e/ou tolerância prejudicada à glicose.

Em uma modalidade, a invenção provê um método para estimular a proliferação de célula beta em um indivíduo compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da  
10 invenção, ou administrar em combinação um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

Em outra modalidade, a invenção provê um método para aumentar o número e/ou tamanho de células beta em um indivíduo compreendendo administrar uma quantidade  
15 terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da invenção ou administrar em combinação um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

Em uma modalidade adicional, a invenção provê um método para prevenir ou tratar o diabetes do Tipo I ou do  
20 Tipo II compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da invenção, ou administrar em combinação um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

Em uma modalidade ainda adicional, a invenção  
25 provê um método para minorar a progressão da doença ou obter um estágio menos grave da doença em uma pessoa sofrendo de diabetes do Tipo II compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da invenção, ou administrar em combinação um  
30 inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

A invenção se refere a um método de retardar a progressão de tolerância prejudicada à glicose ou diabetes do Tipo II não exigindo insulina para diabetes do Tipo II exigindo insulina compreendendo administrar uma quantidade  
5 terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da invenção, ou administrar em combinação um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

A invenção também se refere a um método de aumentar a capacidade de síntese da insulina de um  
10 indivíduo compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição ou conjugado da invenção, ou administrar em combinação um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina.

A invenção se refere adicionalmente a induzir a  
15 neogênese de ilhotas em um indivíduo compreendendo contatar as células precursoras de ilhotas com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, composição, ou conjugado da invenção em uma quantidade suficiente para aumentar a proliferação de células precursoras de ilhotas no indivíduo  
20 desse modo induzindo a neogênese de ilhotas.

A invenção considera um método de expandir uma massa de células beta, funcional de transplantes de ilhotas pancreáticas em um paciente diabético, o método compreendendo administrar ao paciente uma quantidade  
25 terapeuticamente eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, ou uma composição ou conjugado da invenção.

Em um aspecto, a invenção provê métodos para tratar o diabetes melito em um paciente precisando dos  
30 mesmos mediante administração de uma composição

compreendendo um composto de gastrina e um inibidor de DPP-IV em uma quantidade suficiente para realizar a diferenciação das células precursoras de ilhotas pancreáticas do paciente das células de secreção de insulina maduras e/ou para estimular a síntese de insulina nas células de ilhotas existentes. A composição em alguns aspectos pode ser administrada sistemicamente ou expressa in situ pelas células hospedeiras contendo uma ou mais construções de ácidos nucleicos em um vetor de expressão em que a construção de ácido nucleico compreende uma seqüência de codificação para um composto de gastrina ou uma seqüência de codificação para um inibidor de DPP-IV de peptídeo ou para ambos os compostos, junto com regiões reguladoras de transcrição e translação funcional em células precursoras de ilhotas pancreáticas.

A invenção provê métodos para tratar células, preferivelmente células em cultura utilizando um inibidor de DPP-IV e composto de gastrina da invenção, ou composições ou conjugados da invenção. A invenção também provê métodos de tratamento à base de células utilizando um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina da invenção, ou composições, ou conjugados da invenção. [Vide PCT/CA03/33595 para uma descrição dos métodos de tratamento à base de célula e cultura geral].

Em um aspecto, a invenção se refere a um método para expandir e diferenciar as células-tronco ou células progenitoras em células de secreção de insulina compreendendo contatar as células-tronco ou células progenitoras com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina ou uma composição ou conjugado da invenção em

quantidades suficientes para expandir e diferenciar as células-tronco ou células progenitoras. A quantidade de expansão e diferenciação pode ser significativamente diferente em comparação com o que é conseguido na ausência dos compostos; composições ou conjugados, especificamente a quantidade pode ser significativamente maior em comparação com uma quantidade conseguida com um inibidor de DPP-IV ou um composto de gastrina isoladamente. Em uma modalidade, as células-tronco ou células progenitoras são contatadas com os compostos, composição, ou conjugado na cultura. Em outra modalidade, as células-tronco ou células progenitoras são contatadas com os compostos, composição, ou conjugado em um indivíduo. Os compostos, composição ou conjugado podem ser administrados a um indivíduo antes, durante, ou após implantação das células-tronco no indivíduo para expandir e diferenciar as células-tronco no indivíduo. As células-tronco podem ser obtidas a partir de ilhotas pancreáticas, cordões umbilicais, embriões, ou linhas de células-tronco. O método adicionalmente pode compreender administrar um agente imunossupressor.

A invenção também se refere a um método para melhorar a proliferação de células de secreção de insulina em cultura compreendendo contatar as células com um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, composição ou conjugado da invenção em quantidades suficientes para melhorar a proliferação das células. A quantidade de proliferação pode ser significativamente diferente em comparação com aquela conseguida na ausência dos compostos, composições ou conjugado.

A invenção se refere ainda a um método para

sustentar células de ilhota ou células precursoras em cultura compreendendo o cultivo das células na presença de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, composição ou conjugado da invenção em uma quantidade suficiente para  
5 sustentar as células em cultura. As células podem ser sustentadas em cultura por um período de tempo significativamente mais longo em comparação com as células cultivadas na ausência dos compostos, composição ou conjugado, ou na presença de um inibidor de DPP-IV ou um  
10 composto de gastrina isoladamente. Cultivar células na presença de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina ou uma composição ou conjugado da invenção será particularmente útil na preparação e manutenção das células destinadas a transplante.

15               Em um aspecto, a invenção provê um método de tratar uma condição e/ou doença compreendendo administrar um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, uma composição ou conjugado da invenção com uma pluralidade de células a um indivíduo precisando das mesmas para desse  
20 modo produzir um efeito benéfico, preferivelmente um efeito benéfico sustentado.

Um método para tratar um indivíduo com uma condição e/ou doença aqui descrita compreende contatar ex vivo uma pluralidade de células com um inibidor de DPP-IV e  
25 um composto de gastrina, ou uma composição ou conjugado da invenção, cultivando opcionalmente as células, e administrando as células ao indivíduo precisando das mesmas.

Em modalidades dos métodos terapêuticos baseados  
30 em célula anteriormente mencionados, as células são células

ductais pancreáticas e a quantidade de compostos/composição/conjugado usada no método é geralmente eficaz para aumentar a quantidade de células de secreção de insulina no indivíduo. As células podem ser autólogas (isto  
5 é, a partir do mesmo indivíduo), ou podem ser de outro indivíduo da mesma espécie, ou de uma espécie diferente.

A invenção também considera um método para tratar a diabetes em um indivíduo compreendendo transplantar uma preparação de ilhotas pancreáticas para o indivíduo e  
10 administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, ou uma composição ou conjugado da invenção.

Nos métodos baseados em célula da invenção o número de células administradas a um indivíduo afligido com  
15 uma condição e/ou doença variará de acordo com a gravidade da condição e/ou doença, o modo de administração, e/ou o local da administração. Geralmente, uma quantidade terapeuticamente eficaz das células é uma quantidade segura e eficaz, e especificamente uma quantidade necessária para  
20 prover um ou mais efeitos benéficos, especificamente um efeito benéfico sustentado, ou um efeito sinérgico.

As células podem ser administradas aos indivíduos utilizando uma variedade de meios evidentes para aqueles versados na técnica. Métodos adequados incluem injeção das  
25 células em um local alvo em um indivíduo. As células podem ser inseridas em um dispositivo de fornecimento para facilitar injeção ou implante nos indivíduos. Exemplos de dispositivos de fornecimento incluem tubos, por exemplo, cateteres, para injetar as células e fluidos no corpo de um  
30 indivíduo. As células podem ser preparadas para

fornecimento em uma variedade de diferentes formas. Por exemplo, as células podem ser suspensas em uma solução ou gel, ou misturadas com um carreador farmacologicamente aceitável, excipiente, ou diluente no qual as células permanecem viáveis. Carreadores, excipientes e diluentes farmacologicamente aceitáveis incluem soluções salinas, soluções aquosas de tampão, solventes e/ou meios de dispersão. O uso de tais carreadores e diluentes é conhecido na técnica. A solução geralmente é estéril, e freqüentemente será isotônica. Uma solução de células é preferivelmente selecionada a qual é estável sob as condições de fabricação e armazenamento e preservada contra a ação de contaminação de microorganismos através do uso, por exemplo, de parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, e semelhantes.

Modos de administração das células incluem sem limitação, injeção intracardíaca sistêmica, intracoronariana, intravenosa, intradérmica, ou intra-arterial e injeção diretamente no tecido ou órgão no local pretendido de atividade, ou próximo ao local de atividade. Uma preparação de células pode ser administrada mediante qualquer via conveniente, por exemplo, mediante infusão ou injeção de aglomerado e pode ser administrada junto com outros agentes biologicamente ativos. A administração em alguns aspectos é preferivelmente sistêmica. Uma preparação de célula pode ser administrada mediante qualquer via conveniente, por exemplo, mediante infusão ou injeção de aglomerado e pode ser administrada junto com outros agentes biologicamente ativos.

Métodos da invenção podem compreender ainda medir

ou monitorar um ou mais dos seguintes marcadores: glicose sanguínea, glicose de soro, hemoglobina glicosilada de sangue, massa de células beta pancreáticas, insulina de soro, níveis de insulina de soro, massa de células beta morfometricamente determinada, quantidade de células de secreção de insulina, e resposta à glicose das células de secreção de insulina.

A invenção também considera o uso de uma composição compreendendo uma combinação de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para a preparação de um medicamento proporcionando efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados no tratamento de uma condição e/ou doença. Em um aspecto, a invenção se refere ao uso de uma quantidade terapêuticamente eficaz de pelo menos um DPP-IV, e pelo menos um composto de gastrina para a preparação de um medicamento para prover efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados, no tratamento de uma condição e/ou doença. Em uma modalidade a invenção provê o uso de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para a preparação de um medicamento para aumentar (preferivelmente aumento sustentado) o número e/ou tamanho das células beta em um indivíduo após tratamento. Em outra modalidade a invenção provê o uso do inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina para a preparação de um medicamento para estimulação (preferivelmente estimulação sustentada) da proliferação de células beta após tratamento. Em uma modalidade ainda adicional a invenção provê o uso de um inibidor de DPP-IV e gastrina para a preparação de um medicamento para tratamento de uma condição e/ou doença



aqui revelada, especificamente o diabetes do Tipo I ou do Tipo II.

5 A invenção adicionalmente provê usos de uma composição farmacêutica e de um conjugado da invenção na preparação de medicamentos para efeitos benéficos, preferivelmente efeitos benéficos sustentados, no tratamento de condições e/ou doenças.

10 A eficácia e a toxicidade terapêutica dos compostos; composições e conjugados da invenção; podem ser determinadas mediante procedimentos farmacêuticos padrão, em culturas de células ou com animais experimentais tal como mediante cálculo de um parâmetro estatístico tal como a estatística  $ED_{50}$  (a dose que é terapeuticamente eficaz em 50% da população) ou  $LD_{50}$  a dose letal para 50% da  
15 população). O índice terapêutico é a relação de dose de efeitos terapêuticos/efeitos tóxicos e pode ser expressa como a relação de  $ED_{50}/LD_{50}$ . Composições farmacêuticas que apresentam grandes índices terapêuticos são preferidas.

20 As composições da presente invenção ou frações das mesmas compreendem tipicamente diluentes farmacêuticos adequados, excipientes, veículos ou carreadores selecionados com base na forma de administração pretendida, e consistentes com as práticas farmacêuticas convencionais. Os carreadores, veículos, etc. podem ser adaptados para  
25 prover uma quantidade aditiva, sinergicamente efetiva ou terapeuticamente efetiva dos compostos ativos. Diluentes farmacêuticos adequados, excipientes, veículos e carreadores são descritos no texto padrão da Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company. Como  
30 exemplo, para administração oral na forma de uma cápsula ou

comprimido, o componente ativo pode ser combinado com um  
carreador inerte oral, não-tóxico farmacologicamente  
aceitável tal como lactose, amido, sacarose, metil  
celulose, estearato de magnésio, glicose, cálcio, sulfato,  
5 fosfato de dicálcio, manitol, sorbital, e semelhantes. Para  
administração oral em uma forma líquida, os componentes da  
droga podem ser combinados com qualquer carreador inerte  
oral, não-tóxico, farmacologicamente aceitável tal como  
etanol, glicerol, água, e semelhantes. Aglutinantes  
10 adequados (por exemplo, gelatina, amido, adoçantes de  
milho, açúcares naturais incluindo glicose, gomas naturais  
e sintéticas, e ceras), lubrificantes (por exemplo, oleato  
de sódio, estearato de sódio, estearato de magnésio,  
benzoato de sódio, acetato de sódio, e cloreto de sódio),  
15 agentes de desintegração (por exemplo, amido,  
metilcelulose, ágar, bentonita, e goma xantana), agentes de  
flavorização, e agentes corantes também podem ser  
combinados nas composições ou componentes dos mesmos.

Em um aspecto da invenção uma composição  
20 farmacêutica tem um pH a partir de aproximadamente 7 a 10.

Formulações para administração parenteral de uma  
composição da invenção podem incluir soluções aquosas,  
xaropes, suspensões aquosas ou de óleo e emulsões com óleo  
comestível tal como óleo de linhaça, óleo de coco ou óleo  
25 de amendoim. Agentes de dispersão ou suspensão que podem  
ser usados para as suspensões aquosas incluem gomas  
sintéticas ou naturais, tal como goma tragacanto, alginato,  
acácia, dextrana, carboximetilcelulose de sódio, gelatina,  
metilcelulose, e polivinilpirrolidona.

30 Composições para administração parenteral podem

incluir solventes estéreis aquosos ou não-aquosos, tal como água, solução salina isotônica, solução de glicose isotônica, solução de tampão, ou outros solventes convenientemente usados para administração parenteral de  
5 agentes terapeuticamente ativos. Uma composição destinada à administração parenteral também pode incluir aditivos convencionais tais como estabilizadores, tampões, ou conservantes, por exemplo, antioxidantes como metil hidroxibenzoato ou aditivos similares.

10           Em uma modalidade, é provida uma composição farmacêutica na forma sólida (por exemplo, comprimidos, cápsulas, na forma em pó ou na forma pulverizada) compreendendo um inibidor de DPP-IV, cristalino ou amorfo, e um composto de gastrina cristalino ou amorfo.

15           Em outra modalidade, a invenção se refere a uma formulação de droga líquida compreendendo sais farmaceuticamente aceitáveis de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, e às formulações de drogas liofilizadas que podem ser reconstituídas para prover  
20 suspensões que são estáveis e adequadas para administração parenteral.

          Em uma modalidade específica, a invenção se refere a uma composição aquosa compreendendo sais farmaceuticamente aceitáveis de um inibidor de DPP-IV e um  
25 composto de gastrina, e um sistema de solvente que realiza a solubilização. A invenção também provê uma droga compreendendo uma formulação aquosa de sais farmaceuticamente aceitáveis de um inibidor de DPP-IV e um composto e gastrina com pelo menos um solubilizador.

30           Uma composição da invenção pode ser esterilizada

mediante, por exemplo, filtração através de um filtro de retenção de bactérias, adição de agentes de esterilização à composição, irradiação da composição, ou aquecimento da composição. Alternativamente, os compostos, conjugados e composições da presente invenção podem ser providos como 5 preparações sólidas estéreis, por exemplo, pó liofilizado, as quais são dissolvidas prontamente em solvente estéril imediatamente antes do uso. Após as composições farmacêuticas terem sido preparadas, elas podem ser 10 colocadas em um recipiente apropriado e rotuladas para tratamento de uma condição indicada. Para administração de uma composição da invenção, tal rotulagem incluiria quantidade, frequência e método de administração.

Além das formulações aqui descritas, as 15 composições também podem ser formuladas como uma preparação de depósito. Tais formulações de longa ação podem ser administradas mediante implante (por exemplo, subcutaneamente ou intramuscularmente) ou mediante injeção intramuscular. Desse modo, por exemplo, as frações podem 20 ser formuladas com materiais poliméricos ou hidrofóbicos, adequados (por exemplo, como uma emulsão em um óleo aceitável), ou resinas de troca de íons; ou como derivados escassamente solúveis, por exemplo, como um sal escassamente solúvel.

25 As composições da invenção e os seus componentes podem compreender polímeros solúveis como carreadores de drogas que podem ser visadas.

Os compostos, composições, medicamentos e conjugados da presente invenção podem ser administrados 30 mediante qualquer meio que produza contato do agente(s)

ativo com os locais de ação do agente no corpo de um indivíduo ou paciente. Os ingredientes ativos podem ser administrados simultaneamente ou seqüencialmente, e em qualquer ordem em diferentes momentos, para prover os  
5 efeitos benéficos desejados. Cada ingrediente pode ser administrado independentemente em qualquer número efetivo de vezes, incluindo mais do que uma vez, como pode ser indicado por um médico ou veterinário.

Os compostos, conjugados e composições podem ser  
10 formulados para liberação sustentada, para fornecimento localmente ou sistemicamente. Está incluso na capacidade de um médico ou veterinário habilitado selecionar uma forma e via de administração que otimize os efeitos das composições, conjugados e tratamentos da presente invenção.

15 As composições podem ser administradas nas formas de dosagens orais tais como comprimidos, cápsulas (cada uma das quais inclui formulações de liberação sustentada ou de liberação regulada em tempo), pílulas, pós, grânulos, elixires, tinturas, suspensões, xaropes e emulsões. Elas  
20 também podem ser administradas nas formas intravenosas (agregado ou infusão), intraperitoneal, subcutânea ou intramuscular, todas utilizando formas de dosagem conhecidas por aqueles versados nas técnicas farmacêuticas. As composições da invenção podem ser administradas por via  
25 intranasal mediante uso tópico de veículos intranasais adequados, ou por intermédio de uma via transdérmica, por exemplo, utilizando emplastros de pele, transdérmicos convencionais. Um protocolo de dosagem para administração utilizando um sistema de fornecimento transdérmico pode ser  
30 contínuo mais propriamente do que intermitente por todo o

regime de dosagem.

Uma via específica de administração é a administração parenteral, preferivelmente administração parenteral periférica. A administração parenteral  
5 geralmente é entendida como se referindo à injeção de uma forma de dosagem no corpo por intermédio de uma seringa esterilizada ou algum outro dispositivo mecânico tal como uma bomba de infusão. Para o propósito da presente invenção as vias parenterais incluem vias de administração  
10 intravenosas, intramusculares, subcutâneas, e intraperitoneais. Para administração parenteral, os compostos ou conjugados aqui descritos podem ser combinados com água destilada em um pH apropriado.

A presente invenção inclui tratamentos combinados  
15 proporcionando atividade aditiva ou sinérgica, fornecendo um aditivo ou quantidade sinergicamente eficaz, ou uma quantidade para prover uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina, ou um conjugado ou composição da  
20 invenção. Portanto, as composições farmacêuticas adequadas para uso na presente invenção incluem composições em que os ingredientes ativos são contidos em uma quantidade terapeuticamente eficaz, mais particularmente uma quantidade sinergicamente eficaz.

25 O regime de dosagem da invenção variará dependendo de fatores conhecidos tal como as características farmacodinâmicas dos agentes e seu modo e via de administração; as espécies, idade, sexo, saúde, condição médica, e peso do paciente, a natureza e extensão  
30 dos sintomas, o tipo de tratamento simultâneo, a frequência

de tratamento, a via de administração, a função renal e hepática do paciente, e o efeito desejado. A quantidade eficaz de uma droga exigida para prevenir, neutralizar ou deter a progressão de uma condição pode ser facilmente  
5 determinada por um médico ou veterinário versado na técnica. Um inibidor de DPP-IV e um composto e gastrina ou uma composição da invenção podem ser administrados em uma única dose diária, ou a dosagem diária total pode ser administrada em doses divididas de duas, três ou quatro  
10 vezes diariamente.

Um protocolo de dosagem para a administração pode compreender a administração contínua de um inibidor de DPP-IV com administração intermitente de um composto de gastrina.

15 Uma composição medicamento, ou tratamento da invenção pode compreender uma dosagem unitária de pelo menos um inibidor de DPP-IV e uma dosagem unitária de pelo menos um composto de gastrina. Uma "dosagem unitária" se refere a uma unidade, isto é, uma única dose, a qual é  
20 capaz de ser administrada a um paciente, e a qual pode ser facilmente manipulada e embalada, permanecendo como uma dose unitária física e quimicamente estável compreendendo os agentes ativos como tais ou uma mistura com um ou mais excipientes, carreadores ou veículos líquidos  
25 farmacêuticos.

Uma composição, medicamento ou tratamento da invenção pode compreender uma dosagem subótima terapeuticamente eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina que são mais eficazes na diminuição ou  
30 redução dos níveis de glicose por um período sustentado

após tratamento em comparação com uma dosagem seja de um composto de gastrina ou de inibidor de DPP-IV individualmente. Uma composição farmacêutica aperfeiçoada também é considerada compreendendo quantidades subótimas  
5 terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto e gastrina em uma forma para terapia crônica ou aguda de uma condição e/ou doença, especificamente a diabetes.

Em um aspecto, uma composição ou tratamento  
10 farmacêutico é provido compreendendo pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina em doses que são iguais a, ou pelo menos 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 vezes inferior às doses de cada composto exigido para prover os efeitos benéficos, preferivelmente efeitos  
15 benéficos sustentados, para tratar uma condição e/ou doença.

Em um aspecto a invenção provê uma composição farmacêutica compreendendo entre 0,5 a 6000, 100-1500, 100-6000, 1000-6000, 2000-6000, e 3000-6000 microgramas de  
20 inibidor de DPP-IV por unidade simples e 0,5 a 6000, 100-3000, 100-6000, 1000-6000, 2000-6000, e 3000-6000 microgramas de composto de gastrina por unidade simples.

Em um aspecto a invenção provê uma composição farmacêutica compreendendo entre 0,01 a 1000; 0,01 a 500;  
25 0,01 a 400; 0,01 a 300; 0,01 a 200; 0,01 a 100; 0,01 a 50; 0,01 a 30; 0,01 a 20; 0,1 a 20; 0,1 a 30; 0,1 a 40; 0,1 a 50; e 0,1 a 60 microgramas/kg/dia de um inibidor de DPP-IV e 0,01 a 1000; 0,01 a 500; 0,01 a 400; 0,01 a 300; 0,01 a 200; 0,01 a 100; 0,01 a 50; 0,01 a 30; 0,01 a 20; 0,1 a 20;  
30 0,1 a 30; 0,1 a 40; 0,1 a 50; e 0,1 a 60 microgramas/kg/dia



de um composto de gastrina.

Em aspectos específicos da invenção, as faixas de dosagem para um composto são geralmente de aproximadamente 0,01 microgramas a aproximadamente 500 microgramas de  
5 composto de gastrina por quilograma de peso corpóreo por dia, por exemplo, aproximadamente 0,01 microgramas a aproximadamente 1 micrograma/kg, aproximadamente 0,1 micrograma/kg a aproximadamente 10 microgramas/kg, ou aproximadamente 1 micrograma/kg a aproximadamente 50  
10 microgramas/kg.

Em outro aspecto específico a invenção provê uma composição farmacêutica compreendendo 0,1 a 30, 0,1 a 40, 0,1 a 50, e 0,1 a 60 microgramas/kg/dia de composto de gastrina.

15 Em modalidades da invenção proporcionando efeitos benéficos sustentados, a faixa de dosagem para administração de um composto de gastrina é de 1-30 microgramas/kg de peso corpóreo, especificamente 3-30 microgramas/kg de peso corpóreo, mais especificamente 5-20  
20 microgramas/kg de peso corpóreo.

A proporção de inibidor de DPP-IV/composto de gastrina em uma composição da invenção pode ser selecionada para aumentar a atividade do inibidor de DPP-IV e/ou composto de gastrina e para prover efeitos benéficos,  
25 preferivelmente efeitos benéficos sustentados. Um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem estar em uma proporção selecionada para aumentar a atividade de um ou de ambos os compostos para produzir efeitos benéficos, especificamente, um efeito benéfico sustentado, e/ou para  
30 produzir um efeito sinérgico ou aditivo. Nas modalidades,

a razão de um inibidor de DPP-IV/composto de gastrina pode ser de 1:1 a 1:110, 1:1 a 1:100, 1:1 a 1:75, 1:1 a 1:50, 1:1 a 1:25, 1:1 a 1:10, 1:1 a 1:5, e 1:1. Em outras modalidades específicas, a relação de um composto de gastrina para um inibidor de DPP-IV pode ser de 1:1 a 1:110, 1:1 a 1:100, 1:1 a 1:75, 1:1 a 1:50, 1:1 a 1:25, 1:1 a 1:10, e 1:1 a 1:5.

Um inibidor de DPP-IV pode ser usado em combinação com um composto de gastrina em relações de peso terapeuticamente eficazes de entre aproximadamente 1:1 a 1:150, especificamente 1:1 a 1:50. Em outra modalidade, um composto de gastrina pode ser usado em combinação com um inibidor de DPP-IV em relações de peso terapeuticamente eficazes de entre aproximadamente 1:1 a 1:150, especificamente 1:1 a 1:50.

Uma composição ou formulação da invenção pode ser administrada a um indivíduo continuamente por 2 semanas a 12 meses, 2 semanas a 6 meses, 2-16 semanas, 2 semanas a 12 semanas, e/ou 2-8 semanas, ou periodicamente.

A presente invenção também inclui composições, conjugados, tratamentos e métodos da invenção em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais incluindo sem limitação agentes imunossuppressores, agentes anti-obesidade, agentes anti-diabéticos incluindo sem limitação insulina, melhoradores de sensibilidade à insulina, agentes de diminuição de glicose, agentes de secreção de insulina e modulador de via de sinalização de insulina, agentes reguladores de apetite, agentes anti-hipertensivos, agentes para o tratamento e/ou prevenção de complicações resultantes de uma condição e/ou doença ou associada à

mesma, especificamente diabetes e obesidade, medicamentos anti-náusea, medicamentos anti-dor de cabeça, e medicamentos em geral que tratam ou previnem os efeitos colaterais.

5                   Em aspectos da invenção, um composto anti-diabético é um modulador de via de sinalização de insulina, tal como inibidores de fosfatase de proteína tirosina (PTPases), compostos não-miméticos de pequenas moléculas e inibidores de amidotransferase de glutamina-frutose-6-  
10   fosfato (GFAT), compostos influenciando uma produção desregulada de glicose hepática, como os inibidores de glicose-6-fosfatase, inibidores de frutose-1,6-bifosfatase, inibidores de fosforilase de glicogênio, antagonistas de receptores de glucagon e inibidores de fosfoenolpirovato  
15   carboxicinase, inibidores de piruvato dehidrogenase cinase, melhoradores de sensibilidade à insulina, melhoradores de secreção de insulina, inibidores de alfa-glucosidase, inibidores de esvaziamento gástrico, insulina, e antagonistas alfa 2-adrenérgicos. Em aspectos específicos,  
20   o composto terapêutico adicional é nateglinida, um composto PPAR, repaglinida, metformim, rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona, glisoxepid, gliburida, glibenclamida, acetohexamida, cloropropamida, glibornurida, tolbutamida, tolazamida, glipizida, carbutamida, gliquidona,  
25   glihexamida, fenbutamida, tolciclāmida, glimepirida e gliclazida, um composto alfa receptor ativado por proliferador de peroxissoma, ou o um sal farmaceuticamente aceitável de tal composto.

                  Em aspectos da invenção o agente terapêutico  
30   adicional é um composto PPAR.

Como a presente invenção se refere a um método de tratamento compreendendo uma combinação de agentes ativos que podem ser administrados separadamente ou como conjugados, a invenção também provê um kit compreendendo  
5 pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina, uma composição farmacêutica ou conjugado na forma de kit. A invenção também se refere a um kit farmacêutico compreendendo uma garrafa com um inibidor de DPP-IV e outra garrafa com um composto de gastrina em uma  
10 caixa. Um kit pode compreender uma embalagem que aloja um recipiente o qual contém um conjugado ou composição da invenção e também aloja instruções para administração do conjugado ou composição a um indivíduo.

Em modalidades da invenção, um pacote ou kit  
15 farmacêutico é provido compreendendo um ou mais recipientes cheios com um ou mais dos ingredientes de uma composição farmacêutica da invenção para prover um efeito benéfico, especificamente, um efeito benéfico sustentável. Associados ao tal recipiente(s) podem estar vários materiais escritos  
20 tais como instruções para uso, ou um aviso na forma prescrita por uma agência governamental regulando a rotulagem, fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos ou biológicos, cujo aviso reflete aprovação pela agência da fabricação, uso, ou venda para  
25 administração a seres humanos.

Em um aspecto, a invenção se refere a um "kit de partes", por exemplo, os componentes, um inibidor de DPP-IV na forma de sal livre ou farmaceuticamente aceitável e composto de gastrina na forma de sal livre ou  
30 farmaceuticamente aceitável, pode ser dosado

independentemente ou por intermédio do uso de diferentes combinações fixas com quantidades distintas dos componentes, isto é, em diferentes tempos ou simultaneamente. Partes de um kit podem ser administradas  
5 simultaneamente ou cronologicamente alternadas, isto é, em momentos diferentes e com intervalos de tempo iguais ou diferentes para qualquer componente de um kit. Os intervalos de tempo podem ser selecionados de tal modo que o efeito sobre a condição e/ou doença no uso combinado as  
10 partes é superior ao efeito que seria obtido por intermédio do uso de apenas qualquer um dos componentes.

A presente invenção desse modo também se refere a um kit de partes compreendendo (a) uma quantidade de um inibidor de DPP-IV ou um seu sal farmaceuticamente  
15 aceitável em uma primeira forma de dosagem unitária; (b) uma quantidade de pelo menos um composto de gastrina ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, na forma de duas ou mais unidades separadas dos componentes (a) e (b).

A invenção adicionalmente se refere a um pacote  
20 comercial compreendendo uma combinação ou composição de acordo com a presente invenção junto com instruções para uso simultâneo, separado ou seqüencial.

Em um aspecto um pacote comercial compreendendo como ingredientes ativos pelo menos um inibidor de DPP-IV e  
25 pelo menos um composto de gastrina é provido na forma de duas ou mais unidades separadas dos componentes, junto com instruções para seu uso simultâneo, separado ou seqüencial, ou qualquer combinação dos mesmos, no retardo da progressão ou tratamento de uma condição e/ou doença aqui revelada.

30 A invenção será descrita em mais detalhe por

intermédio de exemplos específicos. Os exemplos seguintes são oferecidos com propósitos de ilustração, e não pretendem limitar de forma alguma a invenção. Aqueles versados na técnica reconhecerão prontamente uma variedade de parâmetros não-críticos que podem ser alterados ou modificados para produzir essencialmente os mesmos resultados.

### Exemplo 1

#### **Efeitos de Gastrina na Combinação com um Inibidor de DPP-IV em Camundongos NOD Agudamente-Diabéticos**

Esse exemplo descreve métodos e composições para reverte a diabetes em camundongos NOD diabéticos mediante estimulação de neogênese de célula- $\beta$  in vivo após tratamento sistêmico com um inibidor de DPP-IV e gastrina.

Camundongos NOD fêmeas com idades de 12-16 semanas serão tratados por 18 dias apenas com o veículo (PBS), um inibidor de DPP-IV, ou um inibidor de DPP-IV e gastrina, mediante injeção intraperitonealmente duas vezes diariamente dentro de 2 dias após o início da diabetes. O início da diabetes será determinado mediante níveis de glicose sanguínea em jejum (FBG) (19-15 mM em comparação com FGB normal <6,0 mM). Os camundongos serão monitorados diariamente em termos de glicose na urina e semanalmente em termos de níveis de FBG.

No início dos tratamentos, os níveis de glicose sanguínea e jejum serão medidos o que pode geralmente estar na faixa de 11-14 mM. Após 18 dias de tratamento a terapia será interrompida e FBG será monitorado semanalmente por 6 semanas adicionais.

Um curso curto de um tratamento combinado de

inibidor de DPP-IV e gastrina, para os camundongos NOD diabéticos, deve normalizar a hiperglicemia para efetivamente tratar a diabetes. A composição pode ter um efeito prolongado em níveis de glicose sanguínea em jejum  
5 indicando uma estimulação da neogênese de células beta e a produção de insulina.

### Exemplo 2

#### Efeitos de Gastrina (G1) na Combinação com um Inibidor de DPP-IV em Camundongos NOD Agudamente Diabéticos

10

#### **Objetivo:**

Os camundongos NOD desenvolvem espontaneamente a diabetes dependente de insulina como resultado da destruição auto-imune das células- $\beta$  de ilhotas pancreáticas. Esse estudo terá como objetivo corrigir a  
15 diabetes em camundongos NOD mediante regeneração das células- $\beta$  de ilhotas utilizando um inibidor de DPP-IV e gastrina (G1).

#### **Método:**

Camundongos NOD fêmeas com 12-16 semanas serão  
20 tratadas apenas por 18 dias, com veículo (PDS) ou com um inibidor de DPP-IV em combinação com Gastrina (G1) mediante injeção intraperitoneal (i.p.). Os animais serão injetados por 18 dias, duas vezes diariamente, dentro de 2 a 5 dias após o início da diabetes. Os níveis de glicose sanguínea  
25 (FBG) são de aproximadamente 9-15 mM no início da diabetes (FBG normal <6,0 mM). Os camundongos serão monitorados diariamente em termos dos níveis de glicose na urina e semanalmente em termos de níveis de FBG durante o tratamento, e por 6 semanas adicionais após o tratamento  
30 ser interrompido. Os níveis de insulina pancreática serão

determinados em cada grupo assim como análise biológica do tecido pancreático será realizada. Os tecidos pancreáticos serão fixados e coloridos em relação às células produtoras de insulina. A massa de células beta será determinada  
5 mediante análise morfométrica.

Uma combinação de inibidor de DPP-IV e composto de gastrina antecipa-se como sendo eficaz na restauração dos níveis normais de glicose sanguínea mesmo após 6 semanas após o tratamento; restaurando o teor de insulina pancreática a partir dos baixos níveis medidos após o  
10 início da diabetes e antes do tratamento até um nível similar àquele medido em camundongos normoglicêmico, e aumenta a massa de células beta em camundongos NOD até níveis próximos do normal.

15 **Exemplo 3**

**Compostos/conjugados de gastrina modificada da  
PCT/CA03/01778 em combinação com um Inibidor de DPP-IV na  
prevenção da progressão de diabetes em camundongos NOD com  
diabetes em início recente**

20 O efeito do tratamento por intermédio de uma combinação de um inibidor de DPP-IV e gastrina não-modificada e um inibidor de DPP-IV e compostos/conjugados de gastrina modificada serão examinados em camundongos NOD com diabetes em início recente, para determinar se a  
25 administração de ambos, um inibidor de DPP-IV e gastrina previne a hiperglicemia grave assim como aumenta o teor de insulina pancreática nos camundongos NOD com diabetes em início recente. Os compostos/conjugados de gastrina a serem usados são como a seguir: Composto A - gastrina como  
30 gastrina humana sintética I tendo 17 resíduos de aminoácido



com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15, Composto B - gastrina como gastrina humana sintética I tendo 2-17 resíduos de aminoácido, Composto C - como gastrina humana sintética I tendo 2-17 resíduos de aminoácido com um  
5 polímero HSA ligado por intermédio de (GA)<sub>5</sub> (isto é, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala).

Camundongos fêmeas diabéticos não-obesos (NOD), idades de 12-14 semanas, serão monitorados em relação ao desenvolvimento do início da diabetes (glicose sanguínea em  
10 jejum >8,0 a 15 mmol/l), e dentro de 48 horas após o início dos sintomas, quatro grupos de camundongos serão tratados como a seguir: um grupo será tratado apenas com veículo; e ao outro grupo será administrado um inibidor de DPP-IV, e os grupos restantes serão tratados com uma combinação de um  
15 inibidor DPP-IV e composto de gastrina, cada tratamento administrado por intermédio de via intraperitoneal diariamente.

A terapia será administrada por 14 dias a 18 dias. Os animais serão monitorados semanalmente em relação  
20 aos níveis de glicose sanguínea em jejum (FBG). Os níveis FBG serão medidos em aproximadamente 12 horas após o alimento ter sido retirado, e 24 horas o último peptídeo ou injeção de veículo. A partir da cessação da terapia, todos os camundongos serão monitorados em relação aos níveis de  
25 FBG pelas próximas 4 semanas (semanas 2-6) de modo a determinar se a prevenção de hiperglicemia persistiu após o término do tratamento terapêutico. Em 14 dias a 18 dias o tratamento será interrompido.

O protocolo inclui a amostragem desses  
30 camundongos para dados outra vez em 6 semanas, e coleta de

sangue para ensaio de FBG e peptídeo C de plasma, sacrificando-se os camundongos para determinações de insulina pancreática e escore de inflamação de ilhotas (insulite). A partir do término do tratamento, os camundongos nunca receberão tratamento de substituição de insulina bem imunossupressão. Os parâmetros a seguir serão avaliados: taxas de sobrevivência, níveis de insulina pancreática, presença de inflamação de ilhota e níveis de glicose sanguínea em jejum.

Um inibidor de DPP-IV em combinação com compostos/conjugados de uma gastrina modificada com meias vidas mais longas pode prover redução melhorada dos níveis de glicose sanguínea nos animais diabéticos.

#### Exemplo 4

#### **Terapia Combinada com Gastrina e um Inibidor de DPP-IV em Camundongos NOD Diabéticos**

Camundongos diabéticos não-obesos (NOD), um modelo de animal para diabetes humana do Tipo I (auto-imune) foram introduzidos no estudo dentro de aproximadamente 1 semana do início da diabetes (glicose sanguínea  $\geq 8$  mmol/l) e com uma glicose sanguínea de 10-15 mmol/l. Esses camundongos NOD agudamente diabéticos foram alocados em 10 grupos de 8 camundongos por grupo e tratados conforme mostrado na tabela abaixo.

GRUPO	TRATAMENTO
1	0 (linha de base)
2	Veículo para inibidor de DPP-4
3	Veículo para gastrina
4	Inibidor de DPP-4, 10 mg/kg
5	Inibidor de DPP-4, 50 mg/kg

- 6 Inibidor de DPP-4, 250 mg/kg
- 7 Gastrina, 15 ug/kg
- 8 Gastrina, 15 ug/kg + inibidor de DPP-4, 10 mg/kg
- 9 Gastrina, 15 ug/kg + inibidor de DPP-4, 50 mg/kg
- 5 10 Gastrina, 15 ug/kg + inibidor de DPP-4, 250mg/kg

O inibidor de DPP-4 administrado foi (1-[[3-hidroxi-1-adamantil)amino]acetil]-2-ciano-(S)-pirrolidina (Vildagliptina, Galvus®), e seu veículo é carboximetilcelulose a 0,5% e Tween - 80 a 0,2%. Inibidor de DPP-4 e veículo foram fornecidos uma vez diariamente por gavagem por 4 semanas. A gastrina administrada o estudo era gastrina humana I [17 Leu 15], e seu veículo é 100 mmol/l de NaCl e 50 mmol/l de NaPO<sub>4</sub>, PH 7,4. A gastrina e seu veículo foram injetados subcutaneamente duas vezes

15 diariamente por 4 semanas. Os camundongos foram monitorados semanalmente em termos de níveis de glicose sanguínea e pesos corpóreos. Todos os tratamentos foram interrompidos após 4 semanas e os camundongos foram monitorados

20 semanalmente em termos de níveis de glicose sanguíneo e peso corpóreo por 4 semanas adicionais. Na oitava semana do estudo, (isto é, após 4 semanas em tratamento + 4 semanas fora de tratamento), os camundongos foram sacrificados e o sangue e pâncreas foram coletados para os seguintes estudos:

- 25 1. Glicose sanguínea foi tirada a partir do rabo antes do sacrifício e foi medida mediante glucômetro (Ascencia Elite, Bayer).
- 2. Hemoglobina glicolada total foi medida mediante HPLC (Bio-Rad)
- 30 3. Peptídeo-C de plasma foi medido mediante RIA

(peptídeo-C de camundongo específico, Linco)

4. Teor de insulina pancreática foi medido mediante RIA  
(insulina de camundongo específica, Linco)

Os camundongos a partir de qualquer grupo que  
5 desenvolveram hiperglicemia grave (glicose sanguínea > 30  
mmol/l) e perda de peso antes de 8 semanas do estudo foram  
sacrificados e o sangue e o pâncreas foram coletados e  
examinados conforme descrito acima.

Os resultados são mostrados na Tabela 2. Um  
10 inibidor de DPP-IV em combinação com uma gastrina  
proporciona redução aumentada de níveis de glicose  
sanguínea até níveis normais em animais diabéticos em  
comparação com o inibidor de DPP-IV ou gastrina  
isoladamente.

15 A presente invenção não deve ser limitada em  
escopo pelas modalidades específicas aqui descritas, uma  
vez que se pretende que tais modalidades sejam apenas  
ilustrações individuais de um aspecto da invenção e  
quaisquer modalidades funcionalmente equivalentes estão  
20 abrangidas pelo escopo desta invenção. Na realidade,  
diversas modificações da invenção além daquelas mostradas e  
descritas aqui se tornarão evidentes para aqueles versados  
na técnica a partir da descrição anterior e dos desenhos  
anexos. Pretende-se que tais modificações sejam abrangidas  
25 pelo escopo das reivindicações anexas.

Todas as publicações, patentes e pedidos de  
patente, aqui referidos, são incorporados como referência  
integralmente na mesma amplitude como se cada publicação,  
patente ou pedido de patente individual fosse  
30 especificamente individualmente indicado para ser

incorporado mediante referência em sua totalidade. A citação de qualquer referência feita aqui não é uma admissão de que tal referência está disponível como técnica anterior em relação a presente invenção.

5

Tabela 1

Inibidor de DPP-IV	Fonte/Referência
Siagliptina (MK-0431) [(2R)-4-oxo-4-(3-[trifluorometil]-5,6-dihidro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazina-7[8H]-il)-1-(2,4,5-trifluorofenil)butana-2-amina)]	Merck & Co. EP 1412357, WO 03/04498, Patente US 6.699.871, e Weber et al, Diabetes (2004) 53(Suppl. 2):A151, 633-P (Abstract) US 2003100563 Villhauer et al, J Med Chem (2003) 46:2774-2789
Vildagliptina (Galvus®) (LAF237)	Novartis Patente US 6.166.063, WO 00/34241, EP 1137635 e JP 2002531547
1 - [[[2-[(5-cianopiridina-2-il)amino]etil]amino]acetil]-2- ciano-(S)-pirrolidina (NVP DPP728)	Novartis WO 98/19998 e JP 2000511559, Villhauer et al, J Med Chem (2002) 45:2362-2365
823093 815541 825964	GlaxoSmithKline
PSN9301	OSI Pharma Probiobdrug Prosidion
SYR322	Takeda/PPD
Saxagliptina (BM-477118)	Bristol-Myers Squibb
SYR619	Takeda/PPD
TA-6666	Tanabe
TS-021	TaishoPharmaceutical Co., Ltd Eli Lilly and Company

ALS 2-0426,	Alantos
PHX1149	Phenomix
SSR162369	Sanofi-Aventis
Inibidores de DPP-IV	Santhera
TRC-8XXX	Torrent
3-(L-Isoleucil) tiazolidina (isoleucina-tiazolidida)	JP 2001510442, WO 97/40832, Patente US 6.303.661 e DE 19616486  Pederson et al, Diabetes (1998) 47:1253- 1258
Inibidores de DPP-IV	WO 01/52825 (Novartis)
derivados de 4-pirimidona	WO 05/016911
Hexahidrodiazepinonas	WO 05/011581
Pirido-2,1 -A-isoquinolina	WO 05/000848
hexahidropiridoisoquinolina s	WO 05/000846
1 H-imidazo'4,5- dipiridazinas	WO 04/108730
Inibidores de DPP-IV	WO 05/056013
Inibidores de DPP-IV	WO 01/62266
Inibidores de DPP-IV	WO 05/075426
Inibidores de DPP-IV	WO 05/058849
Inibidores de DPP-IV	WO 05/056541
Inibidores de DPP-IV	WO 05/049022
Carbonitrilas de azolidina	WO 05/033106
Inibidores de DPP-IV	WO 05/033099
Inibidores de DPP-IV	WO 05/030751
derivados de 2- cianopirrolidina	WO 04/099185
Azetidinas substituídas	WO 04/071454

derivados de 2-cianopirrolidina	WO 04/048352
Inibidores de DPP-IV	WO 04/048352
Sais de hemisuccinato	WO 04/033455
Sais de succinato de inibidores heterocíclicos de DPP-IV	WO 04/033455
Derivados de fenacil xantina de inibidores de DPP-IV	WO 04/018467
Derivados de pirido [2,1-A] isoquinolina	WO 03/055881 and EP 1461337
Inibidores de DPP-IV	WO 97/40832
Inibidores de DPP-IV	WO 98/19998
Compostos de amida heterocíclica	WO 03/000180 (Merck & Co.)
Inibidores de DPP-IV	WO 03/000181 (Merck & Co.)
N- (N'-glicil substituído)-2-ciano pirrolidinas (por exemplo, Exemplo 1 DPP728 e LAF237)	WO 98/19998
N-adamantil substituído-amino-acetil-2-ciano-pirrolidinas	WO 00/34241
Aminoácido 2-cianopirrolidina amidas (por exemplo, FE-999011)	WO 95/15309
Inibidores de DPP-IV	WO 01/72290
Inibidores de DPP-IV	WO 01/52825

Inibidores de DPP-IV	WO 03/002553
ésteres borônicos de pralina	WO 93/10127
Inibidores de DPP-IV	WO 99/61431
Sulfostina	WO 99/25719
anéis heterocíclicos de N- substituído 4- a 8- elementos	WO 99/38501
compostos fosfóricos	WO 99/46272
pró-drogas de DPP-IV e inibidores da forma A-B-C onde C ou é um inibidor estável ou instável de DPP- IV	WO 99/67278
pró-drogas de DPP-IV e inibidores da forma A-B-C onde C ou é um inibidor estável ou instável de DPP- IV	WO 99/67279
N-Peptidil-O-aroil hidroxilaminos	WO 2004/052362 e PCT/EP2003/013963
Derivados heterocíclicos	WO 05/026148 e US 20050065145
Derivados de hexahidrodiazepinona	WO 04/037169 e US 7.101.871 (Merck & Co. Inc.)
<b>Inibidor de DPP-IV</b>	<b>Fonte/Referência</b>
Compostos de glicina nitrila	WO 04/037181 e US 6995180
Imidazo-piridinonas e imidazo-piridazinonas	WO 04/050658 e US 7109192 (Boehringer



	Ingelheim)
Inibidores IV de dipeptidil peptidase	WO 05/037779A3 (IMTM)
Compostos heterocíclicos de beta-amino	WO 04/032836 e US 20060014953
Polimorfos de anidrato cristalino de sal de fosfato de dihidrogênio de (2R)-4-oxo-4-(3-(trifluorometil)-5,6-dihidro(1,2,4)triazol(4,3-a)pirazina-7(8H-il)-1-(2,4,5-trifluorofenil)butana-2-amina	WO 05/020920
Inibidores à base de Adamantilglicina	WO 05/012249 e US 6995183
Novos derivados de hexahidrodiazepinona	WO 05/011581 (Merck & Co)
Derivados de 2-(horno)piperazino-3,5-dihidro-imidazol-(4,5-d)-piridazina-4-ona	WO 05/058901
Derivados de 7-butinil-8-aminoxantina	WO 06/029769
Derivados de 8-(3-amino-piperidino)-7-(but-2-inil)-xantina	WO 06/027204
Derivados de imidazopiridazinadiona	WO 05/087774

Compostos de cetona e compostos cíclicos	WO 05/082348
Derivados de 8-(3-amino-piperidina-1-il)xantina	WO 05/082906
Amidas cíclicas fluoradas, por exemplo, (2S)-2-amino-2-ciclohexil-1 -((3RS)-3-fluoro-pirrolidina-1 -il)-etanona	WO 04/046106 (Pfizer)
Inibidores IV de dipeptidil peptidase	WO 03/057666
Derivados de 2-(homo)piperazino-3,5-dihidro-imidazol-(4,5-d)-piridazina-4-ona	WO 05/058901
Derivados de hexahidrodiazepinona	WO 04/037169 (Merck & Co.)
Compostos heterocíclicos de beta-amino	WO 04/032836 (Merck & Co.)
Derivados de imidazol bicíclico	WO 05/063750
Derivados de xantina 1,7,8-trissubstituída	WO 04/046148 (Boehringer Ingelheim)
Inibidores de DPP-IV nos Pedidos de Patente Internacional	WO 2006/090244, WO 2006/078676, WO 2006/076231, WO 2006/058628, WO 2006/058064, WO 2006/040625, WO 2006/100181, WO 2006/097175, WO 2006/039325, WO 2006/023750,

	WO 2005/113510, WO 2006/013104, WO 2006/011035, WO 2006/000986, WO 2005/087235, WO 2005/082348, WO 2005/082849, WO 2005/079795, WO 2005/075426, WO 2005/072530, WO 2005/063750, WO 2005/058849, WO 2005/049022, WO 2005/047297, WO 2005/044195, WO 2005/042488, WO 2005/040095, WO 2005/037828, WO 2005/037779, WO 2005/034940, WO 2005/033099, WO 2005/032590, WO 2005/030751, WO 2005/030127, WO 2005/026148, WO 2005/025554, WO 2005/023762, WO 2005/020920, WO 2005/056003, WO 2005/019168, WO 05/12312, WO 05/12308, WO 05/12249, WO 05/11581, WO 05/09956, WO 05/03135,
	WO 05/00848, WO 05/00846, WO 04/112701, WO 04/111051, WO 04/111041, WO 04/110436, WO 04/110375, WO 04/108730, WO 04/104216, WO 04/104215, WO 04/103993, WO 04/103276, WO 04/99134, WO 04/96806, WO 04/92128, WO 04/87650, WO 04/87053, WO 04/85661, WO 04/85378, WO 04/76434, WO 04/76433, WO 04/71454, WO 04/69162,

WO 04/67509, WO 04/64778  
WO 04/58266, WO 04/52362,  
WO 04/52850, WO 04/50022,  
WO 04/50658, WO 04/48379,  
WO 04/46106, WO 04/43940,  
WO 04/41820, WO 04/41795,  
WO 04/37169, WO 04/37181,  
WO 04/33455, WO 04/32836,  
WO 04/20407, WO 04/18469,  
WO 04/18468, WO 04/18467,  
WO 04/14860, WO 04/09544,  
WO 04/07468, WO 04/07446,  
WO 04/04661, WO 04/00327,  
WO 03/106456, WO 03/104229,  
WO 03/101958, WO 03/101448,  
WO 03/99279, WO 03/95425,  
WO 03/84940, WO 03/82817,  
WO 03/80633, WO 03/74500,  
WO 03/72556, WO 03/72528,  
WO 03/68757, WO 03/68748,  
WO 03/57666, WO 03/57144,  
WO 03/55881, WO 03/45228,  
WO 03/40174, WO 03/38123,  
WO 03/37327, WO 03/35067,  
WO 03/35057, WO 03/24965,  
WO 03/24942, WO 03/22871,  
WO 03/15775, WO 03/04498,  
WO 03/04496, WO 03/02530,  
WO 03/02596, WO 03/02595,  
WO 03/02593, WO 03/02553,

	WO 03/02531, WO 03/00181, WO 03/00180, WO 03/00250, WO 02/83109, WO 02/83128, WO 02/76450, WO 02/68420, WO 02/62764, WO 02/55088, WO 02/51836, WO 02/38541, WO 02/34900, WO 02/30891, WO 02/30890, WO 02/14271, WO 02/02560, WO 01/97808, WO 01/96295, WO 01/81337, WO 01/81304, WO 01/68603, WO 01/55105, WO 01/52825, WO 01/34594, WO 00/71135, WO 00/69868, WO 00/56297,
	WO 00/56296, WO 00/34241, WO 00/23421, WO 00/10549, WO 99/67278, WO 99/62914, WO 99/61431, WO 99/56753, WO 99/25719, WO 99/16864, WO 98/50066, WO 98/50046, WO 98/19998, WO 98/18763, WO 97/40832, WO 95/29691, WO 95/15309, WO 93/10127, WO 93/08259, WO 91/16339
Inibidores de DPP-IV nos Pedidos de Patente US	200601452585, 20060135512, 2006021168,  2006021062, 2005007533, 2005007070, 2005059724, 2005059716, 2005043292, 2005038020, 2005032804, 2005004205, 2005120494, 2005121089, 20050065145,

	20050065148, 2005121131, 20050192324, 20050070535, 20050065144, 2005007053, 2005123685, 2004259903, 2004259902, 2004259883, 2004254226, 2004242898, 2004229926, 2004180925, 2004176406, 200413 8214, 2004116328, 2004110817, 2004106656, 2004097510, 2004087587, 2004082570, 2004077645, 2004072892, 2004063935, 2004034014, 2003232788, 2003225102, 2003216450, 2003216382, 2003199528, 2003195188, 2003162820, 2003149071, 2003134802, 2003130281, 2003130199, 2003125304, 2003119750, 2003119738, 2003105077, 2003100563, 2003087950, 2003078247, 2002198205, 2002183367, 2002103384, 2002049164, 2002006899
Inibidores de DPP-IV nas Patentes US	7.101.871, 6.869.947, 6.867.205, 6.861.440. 6.849.622, 6.803.357, 6.800.650, 6.727.261, 6.716.843, 6.710.040, 6.645.995, 6.617.340, 6.699.871, 6.573.287, 6.432.969, 6.395.767, 6.380.398, 6.242.422, 6.166.063, 6.100.234, 6.040.145
3,3,4,4- tetrafluoropirrolidina	US 6.812.350

W (glicil substituída)-4-ciano pirrolidinas	US 6.110.949
Inibidores de DPIV à base de glutaminil	US 6.946.480
Valil-tiazolidida e valil-pirrolidida	US 6.548.481
Derivados de xantina	US 7.074.798 (Eisai Co., Ltd)
Derivados de alfa aminoácido	US 6.706.742
Inibidores de DPIV à base de glutaminil	US 6.946.480
N-valil prolil, O-benzoil hidroxilamina	US 6.303.661
Valil-tiazolidida e valil-pirrolidida	US 6548481
val-pir, val-tiazolidida, isoleucil-tiazolidida, isoleucil-pirrolidida e sais fumar de isoleucil-tiazolidida e isoleucil-pirrolidida	DE 19616 486 A1
Inibidores de DPP-IV nos Pedidos de Patentes Canadenses	CA 2466870, CA 2433090, CA 2339537, CA 2289125, CA 2289124, CA 2123128
Inibidores de DPP-IV nos Pedidos de Patentes Européias	EP 1613304, EP 1604989, EP 1604980,  EP 1604662, EP 1598341, EP 1593671,  EP 1521148, EP 1702916, EP 1682540,

	EP 1664031, EP 1338595, EP 1638970, EP 1638968, EP 1541148, EP 1517907, EP 1513808, EP 1492777, EP 1490335, EP 1489088, EP 1480961, EP 1476435, EP 1476429, EP 1469873, EP 1465891, EP 1463727, EP 1461337, EP 1450794, EP 1446116, EP 1442049, EP 1441719, EP 1426366, EP 1412357, EP 1406873, EP 1406872, EP 1406622, EP 1404675, EP 1399420, EP 1399471, EP 1399470, EP 1399469, EP 1399433, EP 1399154, EP 1385508, EP 1377288, EP 1355886, EP 1354882, EP 1338592, EP 1333025, EP 1304327, EP 1301187, EP 1296974, EP 1280797, EP 1282600, EP 1261586, EP 1258476, EP 1254113, EP 1248604, EP 1245568, EP 1215207, EP 1228061, EP 1137635, EP 1123272, EP 1104293, EP 1082314, EP 1050540, EP 1043328, EP 0995440, EP 0980249, EP 0975359, EP 0731789, EP 0641347, EP 0610317, EP 0528858 DE 19834591, DE 19828113, DE 19823831, DE 19616486, DE 10333935, DE 10327439, DE 10256264, DE 10251927, DE 10238477, DE 10238470, DE 10238243, DE 10143840, DD 296075, FR 2824825, FR 2822826
Inibidores de DPP-IV em	JP 2005507261, JP 2005505531,



<p>Pedidos de Patentes</p> <p>Japonesas</p>	<p>JP 2005502624, JP 2005500321,</p> <p>JP 2005500308, JP 2005023038,</p> <p>JP 2004536115, JP 2004535445,</p> <p>JP 2004535433, JP 2004534836,</p> <p>JP 2004534815, JP 2004532220,</p> <p>JP 2004530729, JP 2004525929,</p> <p>JP 2004525179, JP 2004522786,</p> <p>JP 2004521149, JP 2004503531,</p> <p>JP 2004315496, JP 2004244412,</p> <p>JP 2004043429, JP 2004035574,</p> <p>JP 2004026820, JP 2004026678,</p> <p>JP 2004002368, JP 2004002367,</p> <p>JP 2003535898, JP 2003535034,</p> <p>JP 2003531204, JP 2003531191,</p> <p>JP 2003531118, JP 2003524591,</p> <p>JP 2003520849, JP 2003327532,</p> <p>JP 2003300977, JP 2003238566,</p> <p>JP 2002531547, JP 2002527504,</p> <p>JP 2002517401, JP 2002516318,</p> <p>JP 2002363157, JP 2002356472,</p> <p>JP 2002356471, JP 2002265439,</p> <p>JP 2000327689, JP 2000191616, JP</p> <p>1998182613, JP 1998081666, JP 1997509921,</p> <p>JP 1995501078, JP 1993508624</p>
Inibidor de DPP-IV	Fonte/Referência
Inibidores de DPP-IV	George R. Lankas et al, Diabetes 54:2988-2994, 2005
N-Peptidil-O-aroil	Mona Patel and Colt (Expert Opinion

hidroxilaminas	Investig Drugs. Abril de 2003; 12(4):623-33
Inibidores de DPP-IV	Diabetes, Vol. 47, pp.1253-1258 (1998)
LAF237	Villhauer et al., J Med Chem (2003) 46:2774-2789
Inibidores de DPP-IV	Ahren et al, J Clin Endocrinol Metab (2004) 89:2078-2084
NVP-DPP728	Villhauer et al., J Med Chem (2002) 45:2362-2365
NVP-DPP728	Ahren et al, Diabetes Care (2002) 25:869-875
Inibidores de DPP-IV	Caldwell et al, Bioorg Med Chem Lett (2004) 14:1265-1268
Inibidores de DPP-IV	Peters et al, Bioorg Med Chem Lett (2004) 14:1491-1493
Inibidores de DPP-IV	Edmondson et al., Bioorg Med Chem Lett (2004) 14:5151-5155
Valina-pirrolidida	Deacon et al, Diabetes (1998) 47:764-769
MK-0431	Weber et al, Diabetes (2004) 53 (Suppl. 2):A151,633-P (Resumo)
Inibidores de DPP-IV	Abe et al., J Nat Prod (2004) 67:999-1004

Tabela 2

**Efeitos de um Inibidor de DPP-4 ± Gastrina em Glicose Sanguínea em Camundongos Diabéticos Não-Obesos (NOD) - Um Modelo de Animal para Diabetes Humano do Tipo I**

			Blood Glucose (mmol/l)				
Grupo	Tratamento	n° de camundongos	0 semana	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
1	veículo (metilcelulose)	7	9,0 ± 0,4	9,8 ± 0,6	23,7 ± 3,4	28,7 ± 3,6	23,6 ± 4,8 <sup>a</sup>

2	Inibidor de DPP-4 250 mg/kg	8	9,7 ± 0,4	9,2 ± 0,3	8,7 ± 0,5	7,4 ± 0,4	7,8 ± 1,1
3	veículo (PBS)	6	9,3 ± 0,5	11,2 ± 1,0	20,1 ± 4,0	25,1 ± 3,6	32,1 ± 1,7 <sup>b</sup>
4	Gastrina 15ug/kg	9	9,5 ± 0,4	8,2 ± 0,4	7,2 ± 0,4	9,0 ± 2,3	11,9 ± 3,8
5	Inibidor de DPP-4 + Gastrina	8	9,6 ± 0,3	9,2 ± 0,2	5,7 ± 0,3	5,6 ± 0,3	5,9 ± 0,3

Camundongos-fêmeas NOD, idade 1012 semanas, foram tratados dentro de uma semana do início da diabetes (glicose sanguínea > 7,5 mmol/l) com: veículo (0,5% de metilcelulose + 0,2% de Tween 80 em água) (Grupo 1) ou um inibidor DPP-4 nesse veículo de metilcelulose (Grupo 2), ambos os tratamentos fornecidos mediante administração oral uma vez diariamente; um veículo PBS (Grupo 3) ou gastrina nesse veículo PBS (Grupo 4), ambos os tratamentos fornecidos mediante injeção subcutânea duas vezes diariamente; e o inibidor de DPP-4 + gastrina (Grupo 5).

<sup>a</sup> apenas 4 dos 7 camundongos originais sobreviveram a 4 semanas

<sup>b</sup> apenas 4 dos 6 camundongos originais sobreviveram a 4 semanas

## LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Waratah Pharmaceuticals Inc.  
 5 <120> USO COMBINADO DE INIBIDORES DE DPP IV E DE COMPOSTOS DE GASTRINA  
 <130> 179061-382232 (T01336-0016-WO)  
 10 <140> PCT/CA2006/001644  
 <141> 06-10-2006  
 <150> US 60/724,919  
 <151> 07-10-2005  
 15 <160> 14  
 <170> PatentIn versão 3.3  
 20 <210> 1  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 25 <220>  
 <223> Aminoácido humano sintético  
 <220>  
 30 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Let Xaa igual a um priroglutamato  
 <400> 1  
 35 Xaa Leu Gly Pro Gln Gly Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro Ser Lys  
 1 5 10 15  
 40 Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met  
 20 25 30  
 Asp Phe  
 45  
 <210> 2  
 <211> 34  
 50 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> Aminoácido humano sintético  
 55  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1)  
 60 <223> Let Xaa igual a um priroglutamato

<400> 2

Xaa Leu Gly Pro Gln Gly Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro Ser Lys  
1 5 10 15

5

Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Leu  
20 25 30

10

Asp Phe

15

<210> 3  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial

20

<220>  
<223> Aminoácido humano sintético

25

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> Let Xaa igual a um priroglutamato

30

<400> 3  
Xaa Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp  
1 5 10 15

35

Phe

40

<210> 4  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Artificial

45

<220>  
<223> Aminoácido humano sintético

50

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> Let Xaa igual a um priroglutamato

<400> 4

55

Xaa Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Leu Asp  
1 5 10 15

60

Phe

<210> 5  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 5 <213> Artificial

<220>  
 <223> Aminoácido humano sintético

10 <400> 5

Met Gln Arg Leu Cys Val Tyr Val Leu Ile Phe Ala Leu Ala Leu Ala  
 1 5 10 15

15 Ala Phe Ser Glu Ala Ser Trp Lys Pro Arg Ser Gln Gln Pro Asp Ala  
 20 25 30

20 Pro Leu Gly Thr Gly Ala Asn Arg Asp Leu Glu Leu Pro Trp Leu Glu  
 35 40 45

25 Gln Gln Gly Pro Ala Ser His His Arg Arg Gln Leu Gly Pro Gln Gly  
 50 55 60

30 Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro Ser Lys Lys Gln Gly Pro Trp Leu  
 65 70 75 80

Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp Phe Gly Arg Arg Ser  
 85 90 95

35 Ala Glu Asp Glu Asn  
 100

40 <210> 6  
 <211> 52  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Aminoácido humano sintético

<400> 6

50 Asp Leu Glu Leu Pro Trp Leu Glu Gln Gln Gly Pro Ala Ser His His  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Gln Leu Gly Pro Gln Gly Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro  
 20 25 30

Ser Lys Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly  
 35 40 45

60

Trp Met Asp Phe  
50

- 5 <210> 7  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Artificial
- 10 <220>  
<223> Aminoácido humano sintético  
  
<400> 7
- 15 Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp Phe  
1 5 10
- 20 <210> 8  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial
- 25 <220>  
<223> Aminoácido humano sintético  
  
<400> 8
- 30 Tyr Gly Trp Met Asp Phe  
1 5
- 35 <210> 9  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial
- 40 <220>  
<223> Aminoácido humano sintético  
  
<400> 9
- 45 Tyr Gly Trp Leu Asp Phe  
1 5
- 50 <210> 10  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificial
- <220>  
<223> Aminoácido humano sintético
- 55 <400> 10
- Tyr Gly Trp Met Asp Phe  
1 5
- 60 <210> 11

```

    <211> 6
    <212> PRT
    <213> Artificial

5    <220>
    <223> Aminoácido humano sintético

    <400> 11

10   Tyr Gly Trp Leu Asp Phe
    1           5

    <210> 12
15   <211> 10
    <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
20   <223> Espaçador artificial

    <400> 12

    Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
25   1           5           10

    <210> 13
    <211> 5
30   <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
    <223> Aminoácido humano sintético
35

    <220>
    <221> misc_feature
    <222> (5)..(5)
40   <223> Let Xbb igual NH2, um Phe amidado

    <400> 13

    Trp Met Asn Phe Xbb
45   1           5

    <210> 14
    <211> 5
50   <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
    <223> Aminoácido humano sintético
55

    <220>
    <221> misc_feature
    <222> (5)..(5)
60   <223> Let Xbb igual NH2, um Phe amidado

```



<400> 14

Trp Leu Asn Phe Xbb  
1 5

5

**REIVINDICAÇÕES**

1. Composição farmacêutica, caracterizada por compreender quantidades terapêuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina, e um  
5 carreador, excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por compreender doses do inibidor de DPP-IV e composto de gastrina que proporcionam  
10 níveis de glicose sanguínea, aproximadamente normais em um indivíduo.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que quantidades terapêuticamente eficazes de um inibidor  
15 de DPP-IV e um composto de gastrina em uma forma para terapia crônica ou aguda de um indivíduo precisando delas.

4. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que a quantidade terapêuticamente eficaz é suficiente  
20 para diminuir as exigências por insulina em um indivíduo diabético em relação às exigências por insulina no indivíduo quando o composto de gastrina e/ou um inibidor de DPP-IV não são administrados.

5. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3 ou 4, caracterizada pelo fato de que a quantidade terapêuticamente eficaz é suficiente para aumentar os níveis de insulina pancreática em pelo menos aproximadamente 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2%,  
25 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, ou 50%.

30 6. Composição farmacêutica de acordo com qualquer

uma das reivindicações 1, 2, 3, 4 ou 5, caracterizada pelo fato de que as quantidades terapeuticamente eficazes são subótimas em relação às quantidades de cada composto administrado isoladamente para tratamento da diabetes.

5                7. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, caracterizada pelo fato de que a razão de inibidor de DPP-IV/composto de gastrina é selecionada para aumentar a atividade do inibidor de DPP-IV ou composto de gastrina.

10              8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que a razão de um inibidor de DPP-IV/composto de gastrina é de aproximadamente 1:1 a 1:110, 1:1 a 1:100, 1:1 a 1:75, 1:1 a 1:50, 1:1 a 1:25, 1:1 a 1:10, 1:1 a 1:5, e 1:1.

15              9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que a razão de um composto de gastrina/um inibidor de DPP-IV é de aproximadamente 1:1 a 1:110, 1:1 a 1:100, 1:1 a 1:75, 1:1 a 1:50, 1:1 a 1:25, 1:1 a 1:10, 1:1 a 1:5.

20              10. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9, caracterizada pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é usado em combinação com o composto de gastrina em razões de peso terapeuticamente eficazes entre aproximadamente 1:1,5  
25 a 1:150, preferivelmente 1:2 a 1:50.

                11. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, caracterizada pelo fato de que o inibidor de DPP-IV e o composto de gastrina estão presentes em doses que são  
30 de pelo menos aproximadamente 1,1 a 1,4, 1,5, 2, 3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, ou 10 vezes inferior às doses de cada composto isoladamente exigido para tratar o diabetes.

12. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 5 10 ou 11, caracterizada por compreender uma quantidade aditiva do inibidor de DPP-IV e o composto de gastrina em um excipiente, carreador ou veículo farmacêuticamente aceitável.

13. Composição farmacêutica de acordo com 10 qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12, caracterizada por compreender uma quantidade sinergicamente eficaz do inibidor de DPP-IV e o composto de gastrina em um excipiente, carreador ou veículo farmacêuticamente aceitável.

15 14. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou 13, caracterizada pelo fato de prover efeitos benéficos em que os efeitos benéficos constituem um ou mais dos seguintes: inflamação de ilhotas reduzida ou ausente, 20 menor progressão da doença, maior sobrevivência, ou menos sintomas de uma doença ou condição.

15. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que os efeitos benéficos são efeitos benéficos sustentados que persistem 25 por um período de tempo prolongado após o término do tratamento.

16. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que os efeitos benéficos são sustentados por pelo menos aproximadamente 2, 30 4, 5, 6, ou 10 semanas, 2 a 4 semanas, 2 a 8 semanas, 2 a

12 semanas, 2 a 24 semanas, 2 semanas a 12 meses, e 2 semanas a 18 meses após tratamento.

17. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que os efeitos benéficos sustentados podem se manifestar como maior produção de C-peptídeo, maior produção de insulina pancreática, e/ou níveis de glicose sanguínea, aproximadamente normais ou baixos; por um período prolongado após o tratamento.

18. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ou 17, caracterizada por prover um efeito benéfico em que o efeito benéfico é uma diminuição de pelo menos aproximadamente 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, ou 90% em níveis de glicose sanguínea.

19. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que a diminuição nos níveis de glicose sanguínea é por um período de pelo menos 2, 4, 6, 8, ou 10 semanas, 2 a 4 semanas, 2 a 6 semanas, 2 a 8 semanas, 2 a 12 semanas, 2 semanas a 24 semanas, 2 semanas a 12 meses ou 2 semanas a 18 meses após tratamento.

20. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 ou 19, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 71 [SEQ ID NO. 5], gastrina 52 [SEQ ID NO. 6], gastrina 34 (gastrina grande) [SEQ ID NO. 1 ou 2], gastrina 17 (gastrina pequena) [SEQ ID NO. 3 ou 14], gastrina 14 [SEQ

ID NO. 7], gastrina 8, gastrina 6 [SEQ ID NO.8 ou 9], pentagastrina, ou tetragastrina.

21. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é um composto da fórmula  $Z-Y_m-X_n-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$ , em que  $AA_1$  é Tyr ou Phe,  $AA_2$  é Gly, Ala, ou Ser,  $AA_3$  é Trp, Val, ou Ile,  $AA_4$  é Met ou Leu,  $AA_5$  é Asp ou Glu, e  $AA_6$  é Phe ou Tyr o qual é preferivelmente amidado; Z é um carreador opcional, preferivelmente um polímero, mais preferivelmente uma proteína e quando o polímero é uma proteína Z é uma sequência de aminoácido;  $Y_m$  é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, porém, não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva dos resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou resíduos 1-11 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente  $AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$  é Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe.

22. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ou 21, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 17 ou seus análogos e derivados.

23. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 ou 22, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina sintética humana I tendo 17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15 [SEQ ID N° 4].

24. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 ou 23, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 34 ou seus análogos e derivados.

25. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24, caracterizada pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID N° 1 ou 2].

26. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ou 25, caracterizada pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência listada na Tabela 1, preferivelmente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

27. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 ou 26, caracterizada pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301 ou Saxagliptina.

28. Uso de uma composição, caracterizado por compreender uma combinação de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para a

preparação de um medicamento para tratamento de uma doença.

29. Uso de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que a doença é uma doença associada a DPP-IV, preferivelmente a diabetes, tolerância  
5 à glicose prejudicada, doença inflamatória dos intestinos, Colite Ulcerosa, Morbus Crohn, obesidade, e/ou síndrome metabólica ou, proteção de célula-B.

30. Uso de acordo com a reivindicação 28 ou reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que a doença é  
10 diabetes Tipo I.

31. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29 ou 30, caracterizado pelo fato de que a doença é diabetes Tipo II.

32. Uso de acordo com qualquer uma das  
15 reivindicações 28, 29, 30 ou 31, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 71 [SEQ ID NO. 5], gastrina 52 [SEQ ID NO. 6], gastrina 34 (gastrina grande) [SEQ ID NO. 1 ou 2], gastrina 17 (gastrina pequena) [SEQ ID NO. 3 ou 14], gastrina 14 [SEQ ID NO. 7], gastrina 8,  
20 gastrina 6 [SEQ ID NO.8 ou 9], pentagastrina, ou tetragastrina.

33. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31 ou 32, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 17 ou seus  
25 análogos e derivados.

34. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32 ou 33, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina humana sintética I tendo 17 resíduos de aminoácidos com um resíduo  
30 Leu na posição aminoácido 15 [SEQ ID N° 4].



35. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33 ou 34, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 34 ou seus análogos e derivados.

5           36. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 ou 35, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é uma gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID N° 1 ou 2].

10           37. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 ou 36, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência listada na Tabela I, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

20           38. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 ou 37, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301 ou Saxagliptina.

25           39. Kit, caracterizado por ser formado de uma composição ou conjugado como definido em qualquer uma das reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 ou 27.

caracterizado por compreender contatar as células-tronco com uma quantidade eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina ou uma composição de qualquer reivindicação precedente.

5           41. Método de aumentar, preservar, ou reduzir a taxa de perda em secreção de insulina, perda de função de célula- $\beta$  ou perda em número e/ou tamanho de células- $\beta$  em um indivíduo caracterizado por compreender a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de  
10 DPP-IV e um composto de gastrina a um indivíduo necessitando dos mesmos.

          42. Método de tratar doenças que se beneficiam de um aumento, preservação, ou redução na taxa de perda em secreção de insulina, perda de função de célula- $\beta$  ou perda  
15 em número e/ou tamanho de células- $\beta$  em um indivíduo caracterizado por compreender a administração de quantidades terapeuticamente eficazes de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina a um indivíduo necessitando dos mesmos.

20           43. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 ou 42, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 71 [SEQ ID NO. 5], gastrina 52 [SEQ ID NO. 6], gastrina 34 (gastrina grande) [SEQ ID NO. 1 ou  
25 2], gastrina 17 (gastrina pequena) [SEQ ID NO. 3 ou 14], gastrina 14 [SEQ ID NO. 7], gastrina 8, gastrina 6 [SEQ ID NO. 8 ou 9], pentagastrina, ou tetragastrina.

          44. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,  
30 39, 40, 41, 42 ou 43, caracterizado pelo fato de que o

composto de gastrina é um composto da fórmula  $Z-Y_m-X_n-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$ , em que  $AA_1$  é Tyr ou Phe,  $AA_2$  é Gly, Ala, ou Ser,  $AA_3$  é Trp, Val, ou Ile,  $AA_4$  é Met ou Leu,  $AA_5$  é Asp ou Glu, e  $AA_6$  é Phe ou Tyr o qual é opcionalmente amidado; Z é  
5 um carreador opcional, preferivelmente um polímero, mais preferivelmente uma proteína;  $Y_m$  é uma região de espaçador opcional compreendendo m resíduos de aminoácido de um aminoácido neutro pequeno incluindo, porém, não-limitado à serina e alanina, e X é qualquer porção consecutiva dos  
10 resíduos 1-28 de SEQ ID N°: 1 ou 2, ou resíduos 1-11 de SEQ ID N°: 3 ou 4, preferivelmente  $AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6$  é Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe ou Tyr-Gly-Trp-Leu-Asp-Phe.

45. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,  
15 39, 40, 41, 42, 43 ou 44, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 17 ou seus análogos e derivados.

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,  
20 39, 40, 41, 42, 43, 44 ou 45, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é uma gastrina humana sintética I tendo 17 resíduos de aminoácido com um resíduo Leu na posição de aminoácido 15 [SEQ ID N° 4].

47. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,  
25 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 ou 46, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 34 ou seus análogos e derivados.

48. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38,  
30

39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 ou 47, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é uma gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ IS N° 1 ou 2].

5           49. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 ou 48, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma  
10 referência listada na Tabela 1, preferivelmente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-  
15 isoleucil pirrolidina.

50. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 ou 49, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é Sitagliptina,  
20 Vildagliptina, PSN9301 ou Saxagliptina.

51. Uso de uma composição caracterizado por compreender uma combinação de pelo menos um inibidor de DPP-IV e pelo menos um composto de gastrina para a preparação de um medicamento para tratamento de uma doença.

25           52. Uso, de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que a doença é uma doença associada a DPP-IV, preferivelmente a diabetes, tolerância à glicose prejudicada, doença inflamatória dos intestinos, Colite Ulcerosa, Morbus Crohn, obesidade, e/ou síndrome  
30 metabólica ou, proteção de célula-B.

53. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51 ou 52, caracterizado pelo fato de que a doença é diabetes Tipo I.

54. Uso, de acordo com qualquer uma das  
5 reivindicações 51, 52 ou 53, caracterizado pelo fato de que a doença é diabetes Tipo II.

55. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51, 52, 53 ou 54, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 71 [SEQ ID NO. 5],  
10 gastrina 52 [SEQ ID NO. 6], gastrina 34 (gastrina grande) [SEQ ID NO. 1 ou 2], gastrina 17 (gastrina pequena) [SEQ ID NO. 3 ou 14], gastrina 14 [SEQ ID NO. 7], gastrina 8, gastrina 6 [SEQ ID NO. 8 ou 9], pentagastrina, ou tetragastrina.

15 56. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51, 52, 53, 54 ou 55, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 17 ou seus análogos e derivados.

57. Uso, de acordo com qualquer uma das  
20 reivindicações 51, 52, 53, 54, 55 ou 56, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina humana sintética I tendo 17 resíduos de aminoácidos com um resíduo Leu na posição aminoácido 15 [SEQ ID N° 4].

58. Uso, de acordo com qualquer uma das  
25 reivindicações 51, 52, 53, 54, 55, 56 ou 57, caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é gastrina 34 ou seus análogos e derivados.

59. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57 ou 58,  
30 caracterizado pelo fato de que o composto de gastrina é uma

gastrina humana sintética 34 com metionina ou leucina na posição 32 [SEQ ID N° 1 ou 2].

60. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 ou 59, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é selecionado do grupo consistindo em um inibidor de DPP-IV revelado em uma referência listada na Tabela I, especificamente Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301, Saxagliptina, N-(glicil N'-substituído)-2-  
10 cianopirrolidinas, L-treo-isoleucil tiazolidina (P32/98), L-alo-isoleucil tiazolidina, L-treo-isoleucil pirrolidina, ou L-alo-isoleucil pirrolidina.

61. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 ou 60, caracterizado pelo fato de que o inibidor de DPP-IV é  
15 Sitagliptina, Vildagliptina, PSN9301 ou Saxagliptina.

62. Kit caracterizado por ser formado de uma composição ou conjugado como reivindicado em qualquer reivindicação precedente.

**COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UMA COMPOSIÇÃO, E, KIT**

A invenção se refere às composições, conjugados e métodos para a prevenção e/ou tratamento de uma condição e/ou doença compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina. 5 A combinação de um inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina provê efeitos benéficos, especificamente, efeitos benéficos sustentados, na prevenção e/ou tratamento de condições e/ou doenças para os quais ou um inibidor de DPP- 10 IV ou um composto de gastrina demonstraram ter um efeito terapêutico, incluindo, mas não limitado a diabetes, hipertensão, insuficiência cardíaca crônica, estados de retenção de fluido, densidade, síndrome metabólica e doenças e distúrbios relacionados. Combinações de um 15 inibidor de DPP-IV e um composto de gastrina podem ser selecionadas para prover efeitos inesperadamente aditivos ou efeitos sinérgicos.