



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

(21) BR 112019016705-6 A2



(22) Data do Depósito: 12/02/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 07/04/2020

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇA ASSOCIADA À PERMEABILIDADE DO EPITÉLIO INTESTINAL

(51) **Int. Cl.:** A61K 38/08; A61P 9/10; C07K 7/06.

(30) **Prioridade Unionista:** 10/02/2017 US 62/457.279.

(71) **Depositante(es):** INNOVATE BIOPHARMACEUTICALS, INC.; NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY.

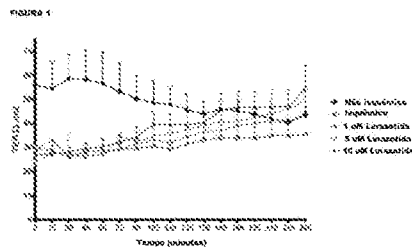
(72) **Inventor(es):** JAY MADAN; ANTHONY BLIKSLAGER.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2018017813 de 12/02/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2018/148655 de 16/08/2018

(85) **Data da Fase Nacional:** 12/08/2019

(57) **Resumo:** A presente invenção fornece métodos para tratar distúrbios associados com disfunção da barreira intestinal e permeabilidade intestinal elevada. A invenção envolve administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida a um sujeito ou um paciente em necessidade do mesmo.



**“COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇA ASSOCIADA À
PERMEABILIDADE DO EPITÉLIO INTESTINAL”**

PRIORIDADE

[001] Este pedido reivindica a prioridade e o benefício do Pedido Provisório US 62/457.279.

CAMPO DA INVENÇÃO

[002] A presente invenção proporciona composições e métodos para o tratamento de doenças e distúrbios associados à disfunção da barreira intestinal.

FUNDAMENTOS

[003] O epitélio intestinal é a camada de células que forma a superfície luminal dos intestinos delgado e grosso do trato gastrointestinal (GI) e representa a maior interface (mais de 400 m²) entre o ambiente externo e o meio interno. O epitélio intestinal tem duas funções importantes: absorver nutrientes e fornecer uma barreira contra substâncias nocivas ao meio ambiente, como bactérias, vírus, toxinas e alergênicos alimentares.

[004] As propriedades de barreira do epitélio intestinal são reguladas por estruturas especializadas da membrana plasmática conhecidas como junções estreitas. Alterações nas junções estreitas podem resultar em rupturas das funções da barreira intestinal e aumento da permeabilidade intestinal. Uma barreira intestinal intacta impede a penetração de agentes patogênicos, antígenos, endotoxinas e outras substâncias pró-inflamatórias no organismo, enquanto a desintegração intestinal permite sua entrada, o que pode desencadear inflamação ou doença local ou sistêmica.

[005] Por conseguinte, existe uma necessidade de tratamentos eficazes para a disfunção da barreira intestinal para tratar, melhorar e abrandar a progressão da doença.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[006] A presente invenção fornece métodos para tratar distúrbios associados com disfunção da barreira intestinal e permeabilidade

intestinal elevada. A invenção envolve administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou de um derivado de larazotida a um sujeito ou um paciente em necessidade do mesmo, para reparar o epitélio intestinal danificado e/ou reduzir o vazamento intestinal que pode desencadear ou exacerbar a doença.

[007] A disfunção da barreira intestinal e o aumento da permeabilidade intestinal podem estar ligados a várias doenças, desde distúrbios intestinais, como enterocolite (enterocolite necrosante), colite isquêmica, sepse e doença hepática, incluindo doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD) e esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e cirrose (por exemplo, cirrose alcoólica).

[008] Em várias modalidades, uma quantidade eficaz de larazotida ou derivado de larazotida é administrada a um sujeito com ou em risco de enterocolite necrosante ou colite isquêmica. Após tratamento com larazotida ou derivado de larazotida, a melhoria da função da barreira intestinal pode ser obtida com a melhoria dos sintomas da doença.

[009] Em várias modalidades, a presente invenção proporciona o tratamento de doença hepática. Por exemplo, em algumas modalidades, o sujeito pode ter uma doença do fígado gorduroso incluindo, mas não limitado a doença hepática de ácido graxo não alcoólica (NAFLD), esteato-hepatite não alcoólica (NASH). Em algumas modalidades, melhorias na função da barreira intestinal limitam a quantidade de toxinas, tais como os LPS, que entram na circulação e que podem, em último caso, exacerbar a doença ou promover a progressão da doença.

[0010] Em várias modalidades, a invenção envolve composições farmacêuticas compreendendo larazotida ou derivados da mesma, incluindo formulações de liberação sustentada ou liberação controlada que evitam a acumulação de fragmentos inativos que podem atuar como inibidores competitivos. Por exemplo, a formulação de liberação sustentada pode fornecer e/ou funcionalmente liberar a partir de cerca de 0,5 a cerca de 5 mg de larazotida ao longo de, pelo menos, cerca de 2 horas. Em algumas

modalidades, a composição libera pelo menos 1 mg de larazotida ao longo de pelo menos cerca de 3 horas, como pode ser determinado, por exemplo, utilizando fluido intestinal simulado.

[0011] Em várias modalidades, a presente invenção proporciona composições farmacêuticas compreendendo larazotida ou derivados da mesma em várias formulações para administração oral ao GI, incluindo comprimidos, pílulas, peletes e cápsulas, e incluindo cápsulas contendo partículas revestidas com peptídeos, líquidos, emulsões ou géis. Em algumas modalidades, a composição compreende cápsulas contendo partículas de liberação retardada, géis ou outra matriz biodegradável.

[0012] Em algumas modalidades, o paciente pode receber terapia adjunta, que em algumas modalidades é sinérgica com o tratamento com larazotida. Em algumas modalidades, o agente terapêutico adicional é um agente antibacteriano, tal como um antibiótico, um agente antiviral e/ou um probiótico, que pode melhorar a disbiose associada de uma forma sinérgica com o tratamento com larazotida.

[0013] Outros aspectos e modalidades da invenção serão evidentes a partir da seguinte descrição detalhada.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0014] A FIGURA 1 mostra que os tecidos lesionados por isquemia tratados apenas com larazotida mostraram um aumento dependente da dose e significativo ($P < 0,05$) na recuperação de TER em comparação com tecidos isquêmicos não tratados.

[0015] A FIGURA 2 é um estudo de resposta à dose adicional que mostra que os tecidos lesionados por isquemia tratados com larazotida isoladamente mostraram um aumento dependente da dose e significativo ($P < 0,05$) na recuperação de TER em comparação com tecidos isquêmicos não tratados.

[0016] A FIGURA 3 e a FIGURA 4 mostram que o efeito de larazotida foi bloqueado com os fragmentos GVLVQPG (SEQ ID NO:

2) e VLVQPG (SEQ ID NO: 3).

[0017] A FIGURA 5 mostra que a recuperação da função de barreira induzida por larazotida está também associada a reduções na permeabilidade de lipopolissacarídeos através do tecido em recuperação.

[0018] A FIGURA 6 mostra uma localização aumentada da proteína ocludina de vedação de junção estreita em tecidos tratados com larazotida.

[0019] A FIGURA 7A mostra a proteína claudina 2 de junção estreita formando poros (vazamento) em tecidos isquêmicos e não isquêmicos. A FIGURA 7B mostra a proteína claudina 2 de junção estreita formando poros (vazamento) em tecidos tratados com larazotida.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0020] A presente invenção fornece métodos para tratar distúrbios associados com disfunção da barreira intestinal e permeabilidade intestinal elevada. A invenção envolve administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida a um sujeito ou um paciente em necessidade do mesmo.

[0021] A disfunção da barreira intestinal e o aumento da permeabilidade intestinal podem estar ligados a várias doenças, desde distúrbios intestinais, como enterocolite (enterocolite necrosante), colite isquêmica, sepse e doença hepática, incluindo doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD) e esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e cirrose (por exemplo, cirrose alcoólica).

[0022] Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona o tratamento de enterocolite necrosante (NEC). A enterocolite necrosante é uma condição médica vista principalmente em bebês prematuros e é caracterizada por danos variáveis ao revestimento intestinal, variando de lesão da mucosa a necrose e perfuração de espessura total. A presença e a gravidade da enterocolite necrosante são classificadas utilizando o sistema de estadiamento de Bell et al., *J. Ped. Surg.* 15: 569 (1980):

Fase I (NEC suspeita)	<ul style="list-style-type: none">• Manifestações sistêmicas - instabilidade de temperatura, letargia, apneia, bradicardia• Manifestações gastro-intestinais - má alimentação, aumento dos resíduos da pré-gavagem, emese (pode ser biliosa ou teste positivo para sangue oculto), distensão abdominal leve, sangue oculto nas fezes (sem fissura)• Sinais radiológicos não específicos ou normais
Fase II (NEC definida)	<ul style="list-style-type: none">• Os sinais e sintomas acima mais hemorragia gastrointestinal oculta ou grave persistente, distensão abdominal acentuada• Radiografias abdominais que mostram distensão intestinal significativa com íleo, separação do intestino delgado (edema na parede do intestino ou líquido peritoneal), alças intestinais “rígidas” persistentes ou imutáveis, pneumatose intestinal, gás venoso portal
(NEC)	<ul style="list-style-type: none">• Alterações laboratoriais (trombocitopenia, acidose metabólica)
Fase III	<ul style="list-style-type: none">• Os sinais e sintomas acima mais deterioração dos sinais vitais, evidência de choque séptico ou hemorragia gastrointestinal acentuada, hipotensão, distensão abdominal acentuada, peritonite
(NEC avançada)	<ul style="list-style-type: none">• Radiografias abdominais mostrando pneumoperitônio além das descobertas listadas para a Fase II

- Alterações laboratoriais adicionais (acidose metabólica e respiratória, coagulação intravascular disseminada)

[0023] Em várias modalidades, uma quantidade eficaz de larazotida ou derivado de larazotida é administrada a um sujeito com NEC de fase 1 (suspeita de NEC), ou NEC de fase II, ou NEC de fase III, ou NEC avançada. Após tratamento com uma quantidade eficaz de larazotida ou derivado de larazotida, a melhoria da função da barreira intestinal pode ser obtida com a melhoria dos sintomas da doença.

[0024] Em algumas modalidades, a invenção proporciona composições e métodos para o tratamento de um distúrbio intestinal isquêmico, incluindo choque associado, sépsis, formação de coágulos no intestino e volvo do intestino. A colite isquêmica é uma condição médica na qual a inflamação e a lesão do intestino grosso resultam de suprimento inadequado de sangue. A colite isquêmica ocorre com maior frequência nos idosos. As causas do fluxo sanguíneo reduzido podem incluir alterações na circulação sistêmica (por exemplo, pressão arterial baixa) ou fatores locais, como constrição dos vasos sanguíneos ou coágulo sanguíneo. Em algumas modalidades, o sujeito tem colite isquêmica ligeira a moderada ou, em outras modalidades, colite isquêmica grave.

[0025] Em várias modalidades, a presente invenção proporciona o tratamento de uma doença hepática. Por exemplo, em algumas modalidades, o sujeito tem uma doença de fígado gorduroso, incluindo, mas não se limitando a doença de fígado de ácido graxo não alcoólica (NAFLD), esteato-hepatite não alcoólica (NASH) ou uma doença de fígado gorduroso resultante da hepatite, obesidade, diabetes, resistência à insulina, hipertrigliceridemia, abetalipoproteinemia, doença de armazenamento de glicogênio, doença Weber-Christian, doença Wolmans, fígado gorduroso agudo

da gravidez e lipodistrofia. Em algumas modalidades, melhorias na função da barreira intestinal limitam a quantidade de toxinas, tais como os LPS, que entram na circulação e que podem, em último caso, exacerbar a doença ou promover a progressão da doença. Em algumas modalidades, o sujeito tem NASH.

[0026] Numa modalidade, a presente invenção proporciona o tratamento de um paciente com NAFLD. A NAFLD representa um espectro de doença que ocorre na ausência de abuso de álcool. É caracterizada pela presença de esteatose (gordura no fígado) e pode representar uma manifestação hepática da síndrome metabólica (incluindo obesidade, diabetes e hipertrigliceridemia). A gravidade da NAFLD varia da esteatose macrovesicular predominantemente isolada relativamente benigna (isto é, fígado gorduroso não alcoólico ou NAFL) à esteato-hepatite não alcoólica (NASH). A NASH é caracterizada pela presença histológica de esteatose, balão citológico, inflamação dispersa e fibrose pericelular. A fibrose hepática resultante da NASH pode progredir para cirrose do fígado ou insuficiência hepática e, em alguns casos, pode levar ao carcinoma hepatocelular. Em algumas modalidades, os métodos da invenção reduzem, melhoram ou eliminam um ou mais sintomas de NAFLD ou NASH, incluindo qualquer um dos sintomas aqui descritos (por exemplo, cirrose hepática ou fibrose hepática). Em algumas modalidades, o método da invenção previne ou abranda a progressão de NAFLD ou NASH para carcinoma hepatocelular.

[0027] Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona o tratamento de um paciente com hepatite. Em modalidades exemplificativas, a hepatite pode ser causada por vírus, álcool, drogas e semelhantes. Numa modalidade, a presente invenção proporciona o tratamento de um paciente com hepatite A, hepatite B, hepatite C, hepatite D ou hepatite E. Numa outra modalidade, a presente invenção proporciona o tratamento de hepatite alcoólica. Numa outra modalidade, a presente invenção proporciona o tratamento de hepatite autoimune. Os sintomas da hepatite

incluem fadiga, sintomas semelhantes aos da gripe, urina escura, fezes claras, dor abdominal, perda de apetite, perda de peso inexplicada e icterícia. A hepatite crônica também está associada à cirrose e ao carcinoma hepatocelular. Em várias modalidades, os métodos da invenção reduzem, melhoram ou eliminam um ou mais sintomas de hepatite, incluindo qualquer um dos sintomas aqui descritos.

[0028] Em algumas modalidades, o sujeito tem ou está em risco de sepse. Sepse é uma condição com risco de vida que surge quando a resposta do organismo à infecção causa lesões em seus próprios tecidos e órgãos. Melhorias na função da barreira intestinal limitam a quantidade de bactérias e toxinas, como LPS, que entram na circulação e que podem, em última análise, exacerbar a doença.

[0029] Em várias modalidades, os métodos da invenção são úteis no tratamento de um sujeito mamífero, incluindo um sujeito humano. Em algumas modalidades, os métodos da invenção referem-se ao tratamento de um sujeito humano pediátrico (incluindo para a prevenção ou tratamento de enterocolite necrosante). Em várias modalidades, o sujeito humano pediátrico pode ter cerca de 1 semana a 12 anos de idade. Em algumas modalidades, o sujeito pediátrico é um lactente, tal como um lactente prematuro, que pode ser afetado por enterocolite necrosante. Em algumas modalidades, o bebê prematuro nasce com menos de 37 semanas de idade gestacional. Em outras modalidades, o sujeito pediátrico é um lactente a termo completo, por exemplo, um bebê que nasce mais tarde do que cerca de 37 semanas de idade gestacional. Em algumas modalidades, o sujeito pediátrico pode exibir uma ou mais de asfixia pré-natal, choque, sepse ou doença cardíaca congênita. Em várias modalidades, o sujeito pediátrico é de baixo peso ao nascer.

[0030] Em outras modalidades, os métodos da invenção referem-se ao tratamento de um sujeito humano adulto incluindo um sujeito humano geriátrico, incluindo para o tratamento de uma condição

intestinal isquêmica (por exemplo, colite isquêmica), sepse ou doença hepática.

[0031] Em várias modalidades os métodos da invenção compreendem o tratamento de um sujeito com larazotida ou derivado do mesmo. A larazotida é um agente peptídico que promove a integridade da junção estreita no trato gastrointestinal (GI). A larazotide tem a sequência de aminoácidos: Gly Gly Val Leu Val Gln Pro Gly (SEQ ID NO:1), e pode ser formulada para liberação sistêmica ou direcionada em porções afetadas do GI (por exemplo, intestino delgado e/ou intestino grosso). Em ensaios clínicos, a larazotida demonstrou benefício na redução dos sintomas da doença celíaca, particularmente em doses mais baixas (por exemplo, dose de 0,5 mg). Ver US 2016/0022760, que é aqui incorporado por referência em sua totalidade. Doses mais altas (por exemplo, doses de 1 mg e 2 mg) mostraram uma atenuação de atividade, ou nenhuma atividade. De acordo com esta divulgação, acredita-se que uma aminopeptidase localizada dentro das bordas da superfície do lúmen pode criar fragmentos derivados de larazotida, incluindo fragmentos que não têm resíduos de glicina N-terminais. Por exemplo, os fragmentos GVLVQPG (SEQ ID NO: 2) e VLVQPG (SEQ ID NO: 3) são inativos como reguladores de junção estreita. Além disso, quando estes dois fragmentos são misturados com larazotida de comprimento total, a atividade é completamente abolida. A acumulação local destes fragmentos de larazotida inativos (devido à larazotida excessiva) pode de fato competir e bloquear a função do peptídeo. Isso explicaria as observações clínicas de que doses baixas de larazotida funcionam melhor evitando o reservatório de fragmentos inativos concorrentes. Assim, em algumas modalidades, são empregadas formulações de liberação controlada ou de liberação sustentada para aumentar a eficácia da larazotida ou derivado.

[0032] Em algumas modalidades, o agente ativo é um derivado de larazotida, por exemplo, com uma ou mais modificações de aminoácidos, tais como substituições, deleções e/ou inserções de aminoácidos. Por exemplo, o derivado pode ter 1, 2, 3 ou 4 modificações de aminoácidos

selecionadas independentemente de deleções, inserções e/ou substituições de aminoácidos em relação a SEQ ID NO:1. Derivados de larazotida exemplificativos são descritos em US 8.785.374, US 8.957.032 e US 9.279.807, que são aqui incorporadas por referência na sua totalidade. Em algumas modalidades, o derivado tem um ou mais aminoácidos não codificados geneticamente, ou um ou mais (ou todos) D-aminoácidos. O termo "larazotida" ou "tratamento com larazotida" refere-se ao tratamento com larazotida ou um derivado que promove a integridade da junção estreita.

[0033] A larazotida ou derivado pode ser administrado em qualquer forma adequada, incluindo como um sal. Por exemplo, a larazotida ou o derivado podem ser administrados como um sal de acetato. Os sais de larazotida, incluindo o sal acetato e o sal cloridrato, são descritos em US 2013/0281384, que é aqui incorporada por referência na sua totalidade. Sais alternativos podem ser empregados, incluindo qualquer sal farmacologicamente aceitável do peptídeo, tal como os listados em *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2-19 (1977) and *The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use*. P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002, que estão incorporados por meio deste em sua totalidade por referência.

[0034] Em várias modalidades, a larazotida é administrada numa formulação de liberação sustentada ou liberação controlada. A liberação sustentada ou formulação de liberação controlada evita o acúmulo de fragmentos inativos que podem atuar como inibidores competitivos. Por exemplo, a formulação pode distribuir e/ou funcionalmente liberar de 0,5 a cerca de 5 mg de larazotida ou derivado, ou de cerca de 0,5 a cerca de 4 mg de larazotida ou derivado, ou de cerca de 0,5 a cerca de 3 mg de larazotida ou derivado, ou de cerca de 0,5 a cerca de 2 mg de larazotida ou derivado, ou de cerca de 0,5 a cerca de 1 mg de larazotida ou derivado. Em várias modalidades, a formulação de liberação sustentada ou liberação controlada contém pelo menos 1 mg ou pelo menos 2 mg de larazotida ou

derivado. Por exemplo, a formulação pode conter de cerca de 1 mg a cerca de 5 mg de larazotida ou derivado, ou cerca de 1 mg a cerca de 3 mg de larazotida ou derivado.

[0035] A formulação de liberação sustentada ou controlada pode liberar funcionalmente o peptídeos ao longo de pelo menos cerca de 2 horas, ou ao longo de pelo menos cerca de 2,5 horas, ou ao longo de pelo menos cerca de 3 horas, ou ao longo de pelo menos cerca de 4 horas, ou ao longo de pelo menos cerca de 5 horas. O termo "liberação funcional" refere-se à liberação de larazotida ou derivado de tal forma que o peptídeo pode interagir com células do epitélio intestinal para promover a junção estreita. Em várias modalidades, a larazotida é formulada como uma pluralidade de partículas que liberam larazotida em diferentes tempos no fluido intestinal, ou em locais diferentes no intestino. Em outras modalidades, a formulação libera larazotida em uma forma que fornece uma liberação sustentada local em um ou mais locais, incluindo a liberação sustentada de partículas, géis, emulsões ou matriz biodegradável. Em algumas modalidades, a composição de liberação sustentada ou controlada (por exemplo, compreendendo partículas contendo peptídeos, géis, emulsões ou matriz biodegradável) começa a liberar peptídeo começando dentro de cerca de 5 a cerca de 30 minutos de exposição a fluido intestinal simulado, com liberação de peptídeo continuando durante pelo menos cerca de 180 minutos, ou pelo menos cerca de 210 minutos, ou pelo menos cerca de 240 minutos, ou pelo menos cerca de 280 minutos de exposição a fluido intestinal simulado. Perfis de liberação podem ser preparados, por exemplo, usando partículas com diferentes camadas de polímeros entéricos e/ou diferentes espessuras dos revestimentos poliméricos. Partículas exemplificativas são aqui descritas.

[0036] Numa modalidade, a composição compreendendo peptídeo permanece essencialmente intata, ou pode ser essencialmente insolúvel, no fluido gástrico. A estabilidade de um revestimento resistente ao estômago pode ser dependente do pH. Revestimentos de

liberação retardada que são dependentes do pH serão substancialmente estáveis em ambientes ácidos (pH 5 ou menor), e substancialmente instáveis em ambientes quase neutros a alcalinos (pH maior que 5). Por exemplo, pode ser utilizado um revestimento de liberação retardada que se desintegra ou dissolve essencialmente em ambientes quase neutros a alcalinos, tais como os encontrados no intestino delgado. Exemplos de fluido gástrico simulado e fluido intestinal simulado incluem, mas não se limitam a, as divulgadas na Farmacopeia 23NF/28USP de 2005 em Soluções de Teste e/ou em outros fluidos gástricos simulados e em fluidos intestinais simulados conhecidos dos versados na técnica, por exemplo, fluido gástrico simulado e/ou fluido intestinal preparado sem enzimas.

[0037] Alternativamente, a estabilidade do revestimento de liberação retardada pode ser dependente da enzima. Os revestimentos de liberação retardada que são dependentes de enzima vai ser substancialmente estável no líquido que não contenha uma enzima particular e substancialmente instável no fluido contendo a enzima. O revestimento de liberação retardada irá essencialmente desintegrar ou dissolver em fluido contendo a enzima apropriada. O controle dependente da enzima pode ser obtido, por exemplo, utilizando materiais que liberam o ingrediente ativo apenas por exposição a enzimas no intestino, tais como galactomananos.

[0038] Podem ser utilizados vários métodos para formular e/ou administrar a larazotida ou derivado a uma localização de interesse. Em algumas modalidades, a larazotida ou derivado é formulada para distribuição sistêmica. Em outras modalidades, a larazotida é formulada para distribuição direcionada. Por exemplo, as composições aqui descritas podem ser formuladas para distribuição direcionada ao trato gastrointestinal incluindo o estômago, intestino delgado, intestino grosso e reto, incluindo todas as subseções dos mesmos. Ao direcionar a liberação de larazotida ou derivado na(s) região(ões) afetada (por exemplo, duodeno, jejuno e íleo, cólon transversal, cólon descendente, cólon ascendente, cólon sigmoide e ceco), a

integridade da junção estreita em várias porções do GI pode ser melhorada.

[0039] Em algumas modalidades, a composição é formulada para liberar no intestino delgado, incluindo um ou mais do duodeno, jejuno e/ou o íleo. Alternativamente ou adicionalmente, a composição é formulada para liberar no intestino grosso, incluindo um ou mais do ceco, o cólon ascendente, o cólon transverso, o cólon descendente e/ou o cólon sigmoide. Por exemplo, em modalidades relacionadas com o tratamento da colite isquêmica, a larazotida ou derivado pode ser formulada para incluir a distribuição no intestino grosso.

[0040] Em várias modalidades, a composição pode ser formulada para ter perfis de liberação sustentada, isto é, liberação lenta da larazotida no corpo (por exemplo, trato GI) durante um período de tempo prolongado. Em várias modalidades, a composição pode ser formulada para ter um perfil de liberação retardada, isto é, não liberar imediatamente a Larazotida após ingestão; em vez disso, o adiamento da liberação até a composição é menor no trato gastrointestinal; por exemplo, para liberação no intestino delgado (por exemplo, um ou mais duodeno, jejuno, íleo) e/ou no intestino grosso (por exemplo, uma ou mais de porções de ceco, ascendente, transverso, descendente ou sigmoide do cólon, e reto). Numa modalidades, a composição farmacêutica é formulada para ter um perfil de liberação retardada como descrito, por exemplo, na Patente US 8.168.594, cujo conteúdo total é aqui incorporado por referência.

[0041] Por exemplo, a larazotida ou derivado pode ser administrado ao duodeno, jejuno e íleo do paciente, como uma dosagem oral, composição de liberação retardada que contém esferas revestidas com larazotida (ou derivado) que são estáveis no fluido gástrico e instáveis em fluido intestinal, de modo a liberar substancialmente o peptídeo no duodeno. A composição pode ainda compreender uma segunda população de esferas com um revestimento dependente do pH para afetar a liberação do peptídeo no jejuno do paciente. Por exemplo, a segunda população de esferas pode liberar

a larazotida ou derivado cerca de 30 minutos após as esferas que liberam o péptido no duodeno. A composição pode ainda compreender uma terceira população de esferas com um revestimento dependente do pH para afetar a liberação do peptídeo no íleo do paciente. Por exemplo, a terceira população de esferas pode liberar a larazotida ou derivado, pelo menos, cerca de 30 minutos após as esferas que liberam o peptídeo no jejuno. A composição de dosagem oral pode estar na forma de uma cápsula ou comprimido. O revestimento dependente do pH em algumas modalidades é um copolímero de ácido metacrílico e acrilato de etil 1:1, em que a espessura da camada determina o perfil de liberação de cada esfera. As esferas podem ter um ou mais revestimentos adicionais, tais como um revestimento de base, uma camada de separação e uma camada de revestimento.

[0042] Numa composição de dosagem oral exemplificativa, uma quantidade eficaz de larazotida (por exemplo, como o sal de acetato) é fornecida em primeiras partículas de liberação retardada que são capazes de liberar larazotida ou derivado no duodeno de um paciente e segundas partículas de liberação retardada que são capaz de liberar larazotida ou derivado no jejuno de um paciente e, opcionalmente, uma terceira partícula de liberação retardada capaz de liberar larazotida ou derivado no íleo de um paciente. Cada partícula pode ter uma partícula central, um revestimento compreendendo larazotida ou derivado sobre a partícula central, e um revestimento de liberação retardada (por exemplo, um copolímero de acrilato e metacrilato 1:1) fora do revestimento compreendendo larazotida ou derivado. Considerando que as primeiras partículas de liberação retardada liberam pelo menos 70% da larazotida ou derivado nas primeiras partículas de liberação retardada por cerca de 60 minutos de exposição ao fluido intestinal simulado com um pH maior que 5; as segundas partículas de liberação retardada liberam pelo menos 70% da larazotida ou derivado em cerca de 30 e cerca de 90 minutos de exposição a fluido intestinal simulado com um pH superior a 5. A terceira partícula de liberação retardada libera pelo menos 70% da larazotida

ou derivado em cerca de 120 minutos a cerca de 240 minutos (por exemplo, cerca de 120 minutos a cerca de 180 minutos) da exposição ao fluido intestinal simulado.

[0043] Em algumas modalidades em que o dano no cólon está envolvido, a larazotida ou derivado pode ser administrado ao cólon de um paciente, como uma dosagem oral, composição de liberação modificada. Podem ser utilizadas várias abordagens de distribuição específicas do cólon. Por exemplo, a formulação de liberação modificada podem ser formuladas usando um sistema de distribuição de drogas específicas do cólon (CODES), como descrito por exemplo, em Li *et al.*, AAPS PharmSciTech (2002), 3(4):1-9, cujo conteúdo integral é incorporado por referência neste documento. A liberação da droga em tal sistema é desencadeada pela microflora colônica acoplada a revestimentos poliméricos sensíveis ao pH. Por exemplo, a formulação pode ser concebida como um comprimido central com três camadas de polímero. O primeiro revestimento é um polímero solúvel em ácido (por exemplo, EUDRAGIT E), o revestimento externo é entérico, juntamente com uma camada de barreira de hidroxipropil metilcelulose interposta no meio. Em outra modalidade, a distribuição do cólon pode ser obtida formulando a larazotida ou derivado com polímeros específicos que se degradam no cólon como, por exemplo, a pectina. A pectina pode ser adicionalmente gelificada ou reticulada com um cátion, tal como um cátion de zinco. Formulações adicionais específicas do cólon incluem, mas não estão limitadas a, sistemas de distribuição de drogas controlados por pressão (preparados com, por exemplo, etilcelulose) e sistemas de distribuição de drogas controlados osmóticos (isto é, ORDS-CT).

[0044] Em várias modalidades, as composições da presente invenção podem usar um ou mais revestimentos de liberação modificada, tais como revestimentos de liberação retardada, para proporcionar uma distribuição eficaz, retardada, mas substancial, da larazotida ou derivado para o trato GI. Por exemplo, uma composição pode ser revestida

entericamente para atrasar a liberação da larazotida ou derivado até atingir o intestino delgado ou o intestino grosso.

[0045] Numa modalidade, a composição pode permanecer essencialmente intata, ou pode ser essencialmente insolúvel, no fluido gástrico. Em algumas modalidades, a estabilidade do revestimento de liberação retardada pode ser dependente do pH. Revestimentos de liberação retardada que são dependentes do pH serão substancialmente estáveis em ambientes ácidos (pH de cerca de 5 ou menor), e substancialmente instáveis em ambientes quase neutros a alcalinos (pH maior que cerca de 5). Por exemplo, o revestimento de liberação retardada pode essencialmente desintegrar ou dissolver em ambientes quase neutros a alcalinos, como os encontrados no intestino delgado (por exemplo, um ou mais duodeno, jejuno e íleo) e/ou intestino grosso (por exemplo, um ou mais do ceco, cólon ascendente, cólon transverso, cólon descendente e cólon sigmoide).

[0046] Em algumas modalidades, o revestimento de liberação retardada (incluindo para formulações de liberação sustentada e de liberação controlada) inclui um agente entérico que é substancialmente estável em ambientes ácidos e substancialmente instável em ambientes quase neutros a alcalinos. Numa modalidade, o revestimento de liberação retardada contém um agente entérico que é substancialmente estável no fluido gástrico. O agente entérico pode ser selecionado de, por exemplo, soluções ou dispersões de copolímeros de ácido metacrílico, ftalato de acetato de celulose, ftalato de hidroxipropilmetil celulose, ftalato de acetato de polivinil, carboximetiletilcelulose e polímero do tipo EUDRAGIT® (poli(ácido metacrílico, metilmetacrilato), succinato de acetato de hidroxipropil metilcelulose, trimelitato de acetato de celulose, goma-laca ou outros polímeros de revestimento entérico adequados. O polímero do tipo EUDRAGIT® inclui, por exemplo, EUDRAGIT® FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P, RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5, e S 12,5 P. Em algumas modalidades, um ou mais

de EUDRAGIT® FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5 e S 12,5 P é utilizado. O agente entérico pode ser uma combinação das soluções ou dispersões anteriores.

[0047] Numa outra modalidade, o revestimento de liberação retardada pode degradar em função do tempo quando em solução aquosa, sem levar em conta o pH e/ou a presença de enzimas na solução. Um tal revestimento pode compreender um polímero insolúvel em água. Sua solubilidade em solução aquosa é, portanto, independente do pH. O termo “independente do pH”, como aqui utilizado, significa que a permeabilidade à água do polímero e a sua capacidade para liberar ingredientes farmacêuticos não é uma função do pH e/ou é apenas muito ligeiramente dependente do pH. Tais revestimentos podem ser utilizados para preparar, por exemplo, formulações de liberação sustentada. Polímeros insolúveis em água adequados incluem polímeros não tóxicos farmacêuticamente aceitáveis que são substancialmente insolúveis em meio aquoso, por exemplo, água, independentemente do pH da solução. Polímeros adequados incluem, mas não estão limitados a, éteres de celulose, ésteres de celulose, ou ésteres de éter de celulose, isto é, um derivado de celulose no qual alguns dos grupos hidroxil na espinha dorsal de celulose são substituídos por grupos alquila e alguns são modificados com grupos alcianoil. Exemplos incluem etil celulose, acetil celulose, nitrocelulose e semelhantes. Outros exemplos de polímeros insolúveis incluem, mas não estão limitados a, verniz, e polímeros de ésteres acrílicos e/ou metacrílicos, polímeros ou copolímeros de acrilato ou metacrilato com um baixo teor de amônio quaternário, ou mistura dos mesmos e semelhantes. Outros exemplos de polímeros insolúveis incluem EUDRAGIT RS®, EUDRAGIT RL®, EUDRAGIT NE®, ésteres de polivinil, polivinil acetato, ésteres de ácido poliacrílico, copolímeros de butadieno estireno e semelhantes.

[0048] Em algumas modalidades, a estabilidade da composição farmacêutica pode ser dependente da enzima. Os revestimentos

de liberação retardada que são dependentes de enzima vai ser substancialmente estável no líquido que não contenha uma enzima particular e substancialmente instável no fluido contendo a enzima. O revestimento de liberação retardada irá essencialmente desintegrar ou dissolver em fluido contendo a enzima apropriada. O controle dependente da enzima pode ser obtido, por exemplo, utilizando materiais que liberam o ingrediente ativo apenas por exposição a enzimas no intestino. Em certas modalidades, a estabilidade da composição pode ser dependente da presença de uma enzima microbiana presente na flora intestinal. Por conseguinte, em várias modalidades, o revestimento de liberação retardada é degradado por uma enzima microbiana presente na flora intestinal. Numa modalidade, o revestimento de liberação retardada é degradado por uma bactéria presente no intestino delgado. Numa outra modalidade, o revestimento de liberação retardada é degradado por uma bactéria presente no intestino grosso.

[0049] A presente invenção também proporciona composições que liberam doses múltiplas da larazotida ou derivado ao longo do trato gastrointestinal. Por exemplo, a composição e/ou a formulação pode liberar doses múltiplas da larazotida ou derivado em diferentes localizações ao longo do intestino, em momentos diferentes, e/ou a pH diferente. O perfil de liberação global de tal formulação pode ser ajustado usando, por exemplo, múltiplos tipos de partículas ou múltiplas camadas. Por exemplo, numa modalidade, uma primeira dose de larazotida ou derivado pode ser formulada para liberação, por exemplo, no intestino delgado (por exemplo, um ou mais de duodeno, jejuno, íleo), enquanto que uma segunda dose formulada para liberação retardada, por exemplo, no intestino grosso (por exemplo, uma ou mais porções de ceco, ascendente, transverso, descendente ou sigmoide do cólon e reto). Em várias modalidades, a composição e/ou formulação pode liberar pelo menos três doses, pelo menos quatro doses, ou pelo menos cinco doses da larazotida ou derivado em locais diferentes ao longo dos intestinos, em momentos diferentes e/ou a pH diferente.

[0050] A larazotida ou derivado pode ser administrada em formas de dosagem unitária (por exemplo, comprimidos, cápsulas ou soluções). Por exemplo, a larazotida ou derivado (ou sal do mesmo) pode ser administrado de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg, ou de cerca de 0,1 mg a cerca de 2 mg, ou de cerca de 0,25 mg a cerca de 1 mg, ou a partir de 0,5 mg a cerca de 1 mg ou a cerca de 0,25 a cerca de 0,75 mg. Em várias modalidades, a dose unitária contém pelo menos 1 mg de larazotida ou derivado, ou contém pelo menos 1,5 mg ou pelo menos 2 mg de larazotida ou derivado.

[0051] De acordo com certas modalidades da invenção, a larazotida ou derivado é administrado mais do que uma vez por dia para promover a integridade da junção estreita do GI. Por exemplo, a larazotida ou derivado podem ser administrados cerca de duas vezes ao dia, cerca de três vezes ao dia, cerca de quatro vezes ao dia, ou cerca de cinco vezes por dia.

[0052] Em várias modalidades, o regime de larazotida ou derivado é administrado durante um período prolongado. Por exemplo, o regime de larazotida ou derivado pode ser administrado durante pelo menos 1 semana, pelo menos 2 semanas, pelo menos 3 semanas, pelo menos 4 semanas, pelo menos 8 semanas, pelo menos 10 semanas, ou pelo menos cerca de 12 semanas. Em algumas modalidades, o regime de larazotida ou derivado é administrado durante pelo menos cerca de 1 mês, pelo menos cerca de 2 meses, pelo menos cerca de 4 meses e pelo menos cerca de 8 meses. Por exemplo, o regime de larazotida ou derivado é administrado durante pelo menos cerca de 6 meses.

[0053] Em algumas modalidades, o paciente pode receber terapia adjuvante, que em algumas modalidades é sinérgica com o tratamento com larazotida, incluindo melhora da disbiose e/ou crescimento bacteriano no intestino delgado. Em algumas modalidades, uma terapia antibiótica é administrada, seguida por terapia probiótica para gerenciar disbiose.

[0054] Em algumas modalidades, o agente terapêutico adicional é um agente antibacteriano, tal como um antibiótico.

Antibióticos adequados para utilização na presente invenção incluem, mas não estão limitados a, antibióticos de cefalosporina (cefalexina, cefuroxima, cefadroxil, cefazolina, cefalotina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil e ceftobiprol); antibióticos fluoroquinolonas (cipro, levaquina, floxina, tequina, avelox e norflox); antibióticos de tetraciclina (tetraciclina, minociclina, oxitetraciclina e doxiciclina); antibióticos de penicilina (amoxicilina, ampicilina, penicilina V, dicloxacilina, carbenicilina, vancomicina e meticilina); antibióticos monobactâmicos (aztreonam); e antibióticos carbapenêmicos (ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina e meropenem).

[0055] Em algumas modalidades, o sujeito recebe um agente antiviral, incluindo para pacientes com hepatite viral. Agentes antivirais exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, Abacavir, Aciclovir, Adefovir, Amprenavir, Atazanavir, Cidofovir, Darunavir, Delavirdina, Didanosina, Docosanol, Efavirenz, Elvitegravir, Emtricitabina, Enfuvirtida, Etravirina, Famciclovir e Foscarnet.

[0056] Em algumas modalidades, o sujeito recebe um probiótico, opcionalmente após terapia antibiótica. Os probióticos adequados para utilização na presente invenção incluem, mas não estão limitados a, *Saccharomyces boulardii*; *Lactobacillus rhamnosus* GG; *Lactobacillus plantarum* 299v; *Clostridium butyricum* M588; *Clostridium difficile* VP20621 (cepa de *C. difficile* não toxigênica); combinação de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* (Bio-K + CL1285); combinação de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* (Actimel); combinação de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* (Florajen3); combinação de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus bulgaricus casei*, *Lactobacillus bulgaricus plantarum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (VSL#3)).

EXEMPLOS

[0057] A integridade da junção estreita do epitélio

intestinal é crucial para manter uma barreira intestinal intacta contra o conteúdo luminal nocivo. A larazotida facilita a montagem de junções estreitas interepiteliais. A mucosa porcina lesionada por lesão de isquemia/reperfusão é anormalmente permeável até que as junções estreitas interepiteliais sejam remontadas.

[0058] Nós avaliamos se a larazotida aumentaria a recuperação da função de barreira no jejuno porcino por lesão isquêmica. Os porcos Yorkshire-cross com 6-8 semanas de idade foram anestesiados, seguidos de laparotomia de linha média e criação de uma série de alças intestinais de 10 cm que se iniciaram proximalmente ao íleo, ligando o lúmen intestinal. A vasculatura mesentérica local foi ligada para selecionar alças de tratamento por 45 min, enquanto outras alças foram deixadas como controles não isquêmicos. Os laços foram subsequentemente ressecados, e os tecidos da mucosa foram removidos em Ringer oxigenados (95% de O₂ / 5% de CO₂) das camadas musculares em preparação para incubação ex vivo em câmaras de Ussing. Os tecidos foram monitorados medindo a resistência transepitelial (TER) por 240 minutos. No final de um período de recuperação de 240 min, os tecidos foram colhidos para avaliação histológica e de imunofluorescência de proteínas de junção estreita.

[0059] Os tecidos lesados isquêmicos tratados apenas com larazotida mostraram um aumento dependente da dose e significativo ($P < 0,05$) na recuperação de TER em comparação com tecidos isquêmicos não tratados, com a dose ideal de 1 micromol de larazotida (Figuras 1 e 2).

[0060] A larazotida estimula consistentemente o reparo em 1 μ M, mas não em 0,1 ou 10 μ M. Este efeito pode ser devido à geração de fragmentos de Larazotida que atuam como inibidores competitivos. Por exemplo, o efeito de Larazotida foi bloqueado com os fragmentos GVLVQPG (SEQ ID NO: 2) e VLVQPG (SEQ ID NO: 3) (Figuras 3 e 4). Presume-se que estes fragmentos sejam os primeiros que apareceriam no

lúmen intestinal na presença das amino peptidases.

[0061] A recuperação da função de barreira induzida por larazotida também está associada a reduções na permeabilidade de lipopolissacarídeos ao recuperar tecido (Figura 5), o que provavelmente é benéfico em pacientes com doenças associadas a condições induzidas por LPS, como NASH e sepse. O mecanismo da larazotida na mucosa intestinal gotejante parece estar relacionado a uma ação específica em junções estreitas, com base no aumento da localização da proteína ocludina de vedação da junção estreita (Figura 6) e reduções na proteína claudina 2 da junção estreita formando poros (vazamento). (Figura 7A, B).

EQUIVALENTES

[0062] Embora a invenção tem sido descrita em conexão modalidades específicas da mesma, será compreendido que ela é também capaz de ainda outras modificações, e este pedido tem a intenção de cobrir quaisquer variações, usos, ou adaptações da invenção que segue, em geral, os princípios da invenção e incluindo tais divergências da presente divulgação como conhecido e de costume na técnica da qual a invenção é pertinente, e como pode ser aplicado às características essenciais na técnica conhecida aqui apresentada anteriormente, e como segue no escopo das reivindicações anexadas.

[0063] Aqueles versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de verificar, usando não mais do que a experimentação de rotina, que inúmeros equivalentes às modalidades específicas são descritos especificamente neste documento. Pretende-se que tais equivalentes sejam abrangidos no escopo das seguintes reivindicações.

INCORPORAÇÃO POR REFERÊNCIA

[0064] Todas as patentes e publicações referenciadas aqui são por meio deste incorporadas por referência em suas totalidades.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratar um sujeito tendo ou em risco de enterocolite necrosante (NEC), **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida ao sujeito.

2. Método para tratar um sujeito tendo uma condição intestinal isquêmica, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida ao sujeito.

3. Método para tratar um sujeito tendo ou em risco de sepse, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida ao sujeito.

4. Método para tratar um sujeito tendo ou em risco de uma condição do fígado selecionada de doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD), esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e cirrose (por exemplo, cirrose alcoólica), **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida ao sujeito.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a NEC é de estágio I, NEC de estágio II, NEC de estágio III ou NEC avançada.

6. Método, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que o sujeito tem colite isquêmica ou vôlvulo intestinal.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que a colite isquêmica é suave a moderada.

8. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que a colite isquêmica é severa.

9. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que o sujeito tem uma doença do fígado gordo resultante de hepatite, obesidade, diabetes, resistência a insulina, hipertrigliceridemia, abetalipoproteinemia, doença de armazenamento de

glicogênio, doença de Weber-Christian, doença de Wolmans, fígado gordo agudo da gravidez e lipodistrofia.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou sal da mesma.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma quantidade eficaz de um derivado de larazotida ou sal da mesma.

12. Método, de acordo com a reivindicação 10 ou 11, **caracterizado** pelo fato de que a larazotida ou derivado é administrado numa formulação de liberação sustentada ou liberação controlada.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que a formulação de liberação sustentada ou liberação controlada libera de 0,5 a cerca de 5 mg de larazotida ou derivado durante o curso de pelo menos cerca de 2 horas.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que a formulação de liberação sustentada ou liberação controlada contém pelo menos 1 mg de larazotida ou derivado.

15. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato de que a formulação de liberação sustentada ou liberação controlada libera larazotida ou derivado durante pelo menos 210 minutos de exposição para fluido intestinal simulado.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizado** pelo fato de que a composição compreendendo larazotida ou derivado é administrada ao intestino delgado.

17. Método, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que a larazotida ou o derivado é liberado em um ou mais do duodeno, jejuno e íleo.

18. Método, de acordo com a reivindicação 16 ou 17, **caracterizado** pelo fato de que a larazotida ou o derivado é liberado em um ou

mais do transverso do cólon, cólon descendente, cólon ascendente, sigmoide do cólon e ceco.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, **caracterizado** pelo fato de que a composição compreendendo larazotida ou derivado é administrada mais de uma vez ao dia.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda administrar terapia de antibiótico.

21. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda administrar terapia de antiviral.

22. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda administrar probiótico.

FIGURA 1

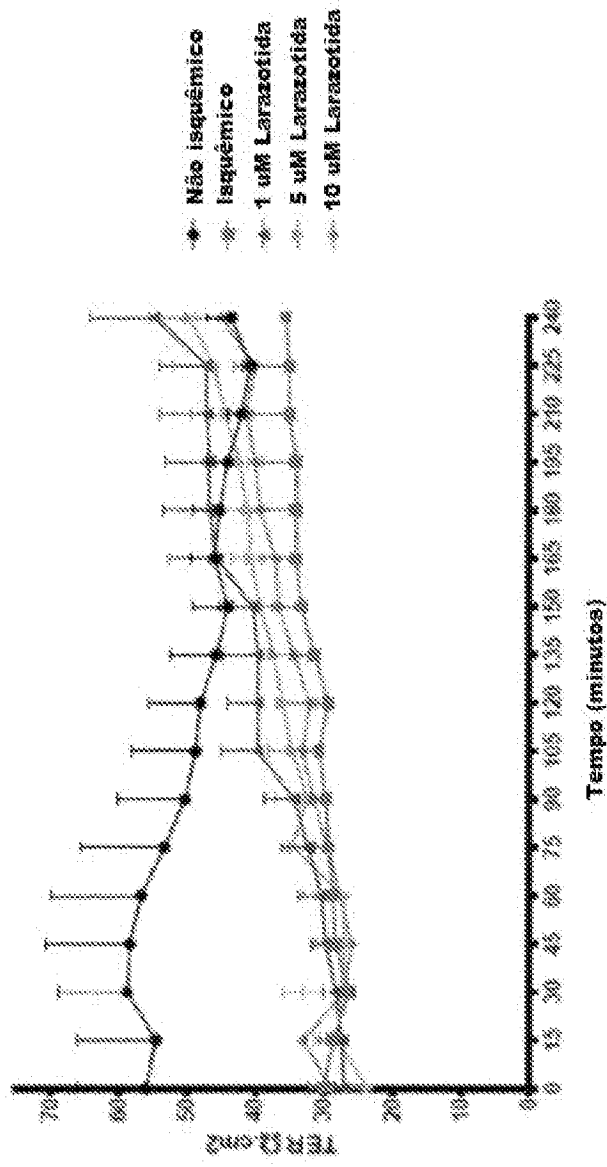


FIGURA 2

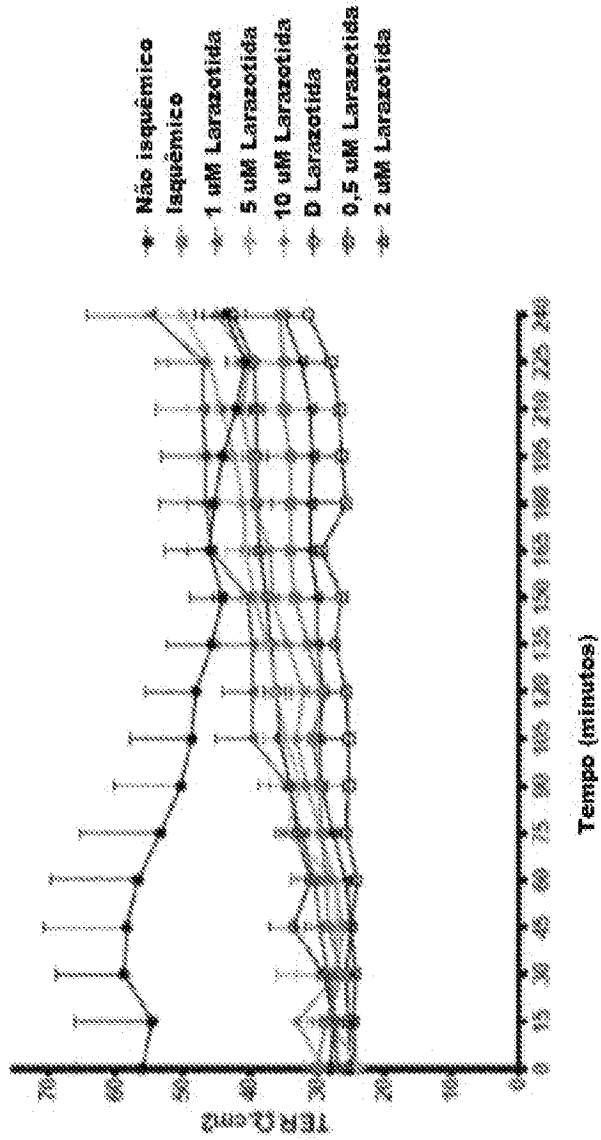


FIGURA 3

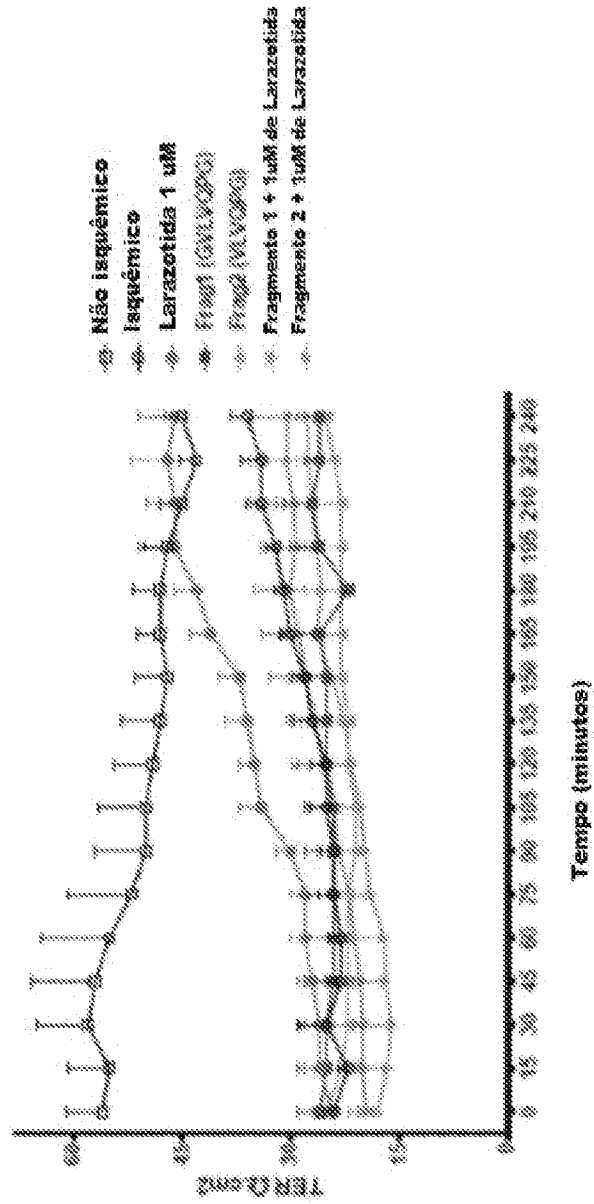


FIGURA 4

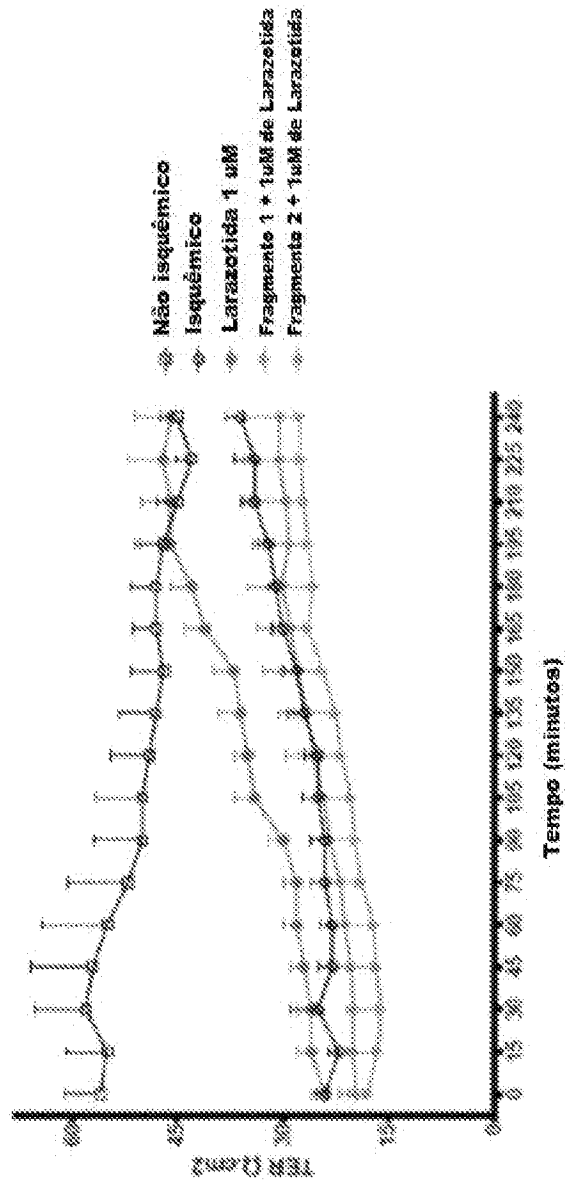


FIGURA 5

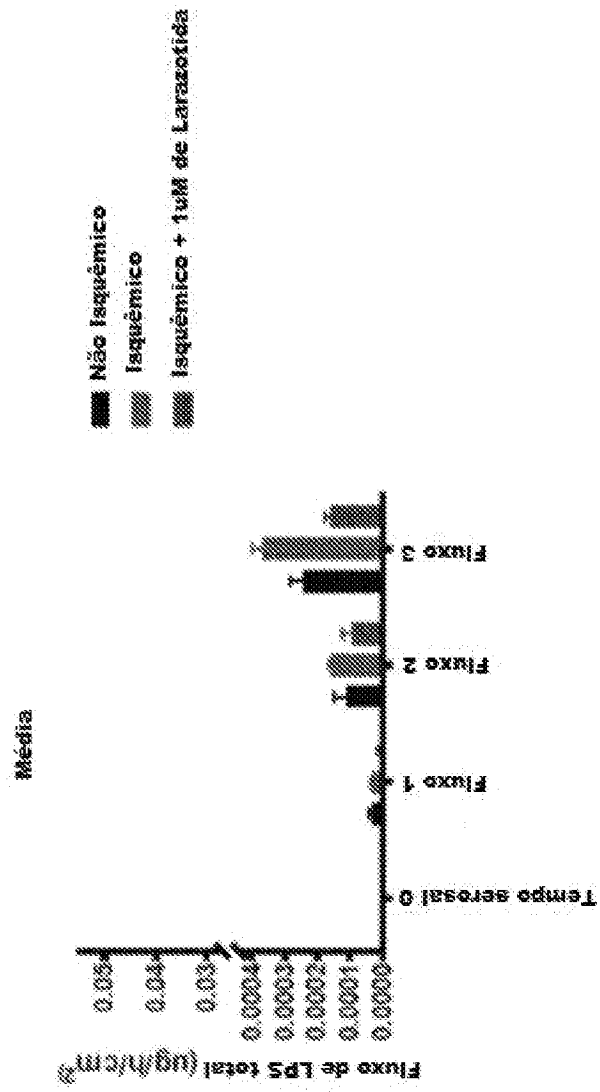
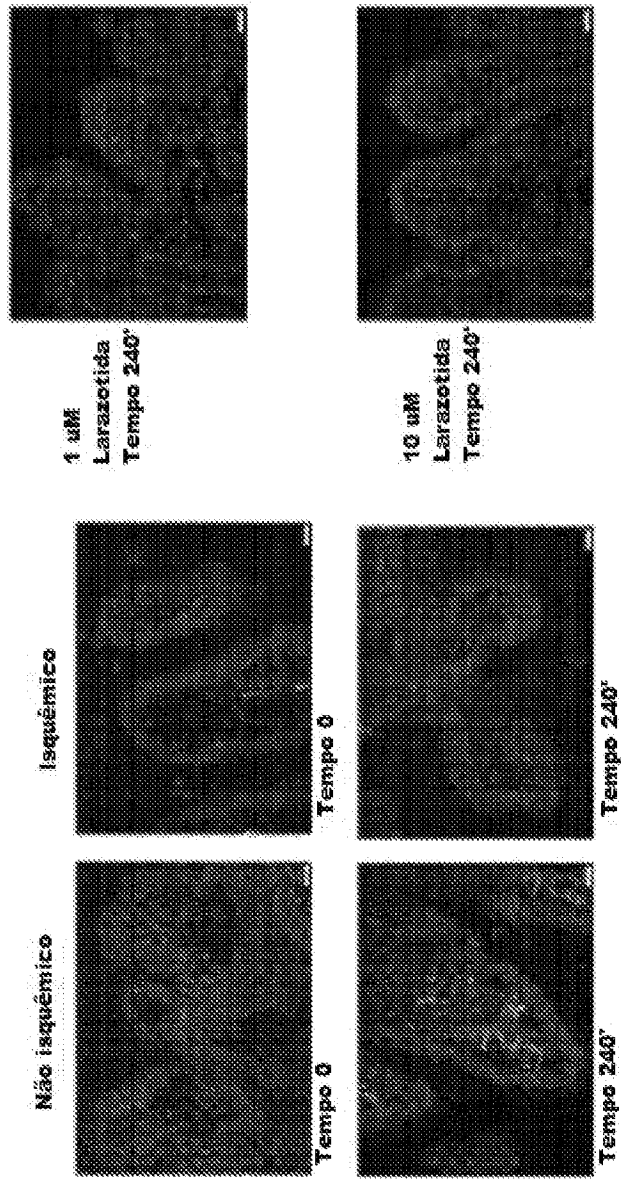


FIGURA 5



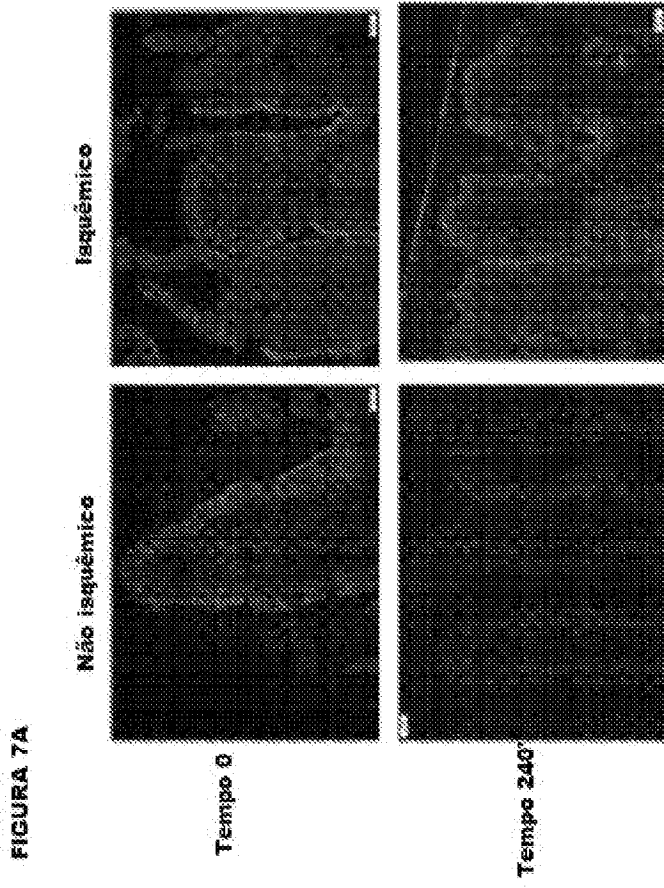
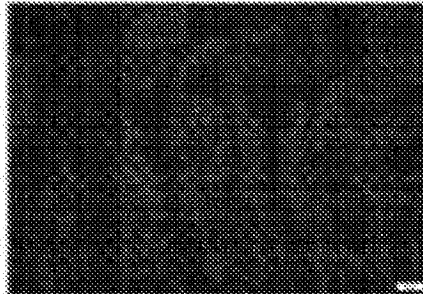
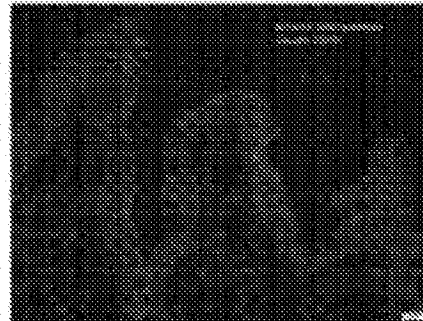


FIGURA 7B

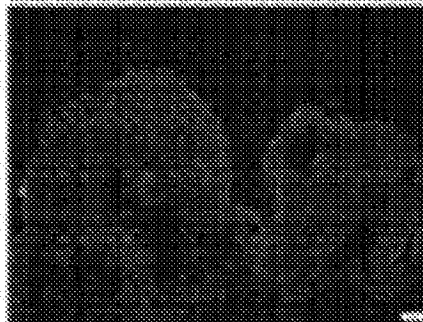
Controle Negativo
No 1° Ab/DAPI



1 μ M Larazotida
Tempo 240'



10 μ M Larazotida
Tempo 240'



RESUMO

**“COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇA ASSOCIADA À
PERMEABILIDADE DO EPITÉLIO INTESTINAL”**

A presente invenção fornece métodos para tratar distúrbios associados com disfunção da barreira intestinal e permeabilidade intestinal elevada. A invenção envolve administrar uma quantidade eficaz de larazotida ou um derivado de larazotida a um sujeito ou um paciente em necessidade do mesmo.