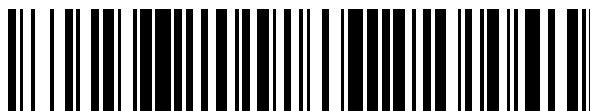


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 335**

51 Int. Cl.:

A61K 31/593 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2010** **E 10744767 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.10.2014** **EP 2461815**

54 Título: **Método para prevenir la enfermedad renal y tratar sus síntomas**

30 Prioridad:

03.08.2009 US 230861 P
21.10.2009 US 253667 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.12.2014

73 Titular/es:

WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION
(100.0%)
614 Walnut Street
Madison, WI 53705, US

72 Inventor/es:

CLAGETT-DAME, MARGARET;
PLUM, LORI;
DELUCA, HECTOR, F. y
KIM, JAMES, WONKEE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 524 335 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para prevenir la enfermedad renal y tratar sus síntomas

Campo de la invención

- 5 Esta invención se refiere a compuestos de vitamina D útiles para prevenir la enfermedad renal y tratar sus síntomas; más particularmente a compuestos de vitamina D útiles para prevenir y tratar síntomas de nefritis lúpica.

Antecedentes de la invención

- 10 La enfermedad renal se ha convertido en un problema sanitario cada vez más importante virtualmente en todos los países del mundo incluyendo países muy desarrollados tales como los Estados Unidos. Actualmente, hay 250.000 pacientes sometidos a diálisis renal que han perdido el uso casi completo de sus riñones. Son aproximadamente diez veces ese número de pacientes los que han perdido algún grado de función renal debido a enfermedad renal y están avanzando hacia el fallo renal completo. El fallo renal se evidencia por una disminución de la velocidad de filtración de los glomérulos (GFR, por sus siglas en inglés) desde un valor alto de 110 ml/minuto hasta 30 ml/minuto a menudo cuando se inicia la diálisis.

- 15 Muchos factores contribuyen al desarrollo de la enfermedad renal. La presión sanguínea elevada es uno de los factores contribuyentes significativos, como lo es tener diabetes tipo I y tipo II. Los tratamientos actuales para el fallo renal se limitan a la hemodiálisis, un procedimiento extremadamente costoso que actualmente es soportado por los gobiernos federales debido a que los pacientes no se pueden permitir este procedimiento por sí mismos. El coste anual de la enfermedad renal en los Estados Unidos está por encima de 42.000 millones de dólares. Según esto, métodos eficaces para prevenir la enfermedad renal y tratar sus síntomas no solo proporcionarían un beneficio sanitario importante sino también un beneficio económico importante.

- 20 Los sujetos que tienen enfermedad renal se tratan a menudo con compuestos de vitamina D para reducir su hiperparatiroidismo secundario que resulta como una consecuencia de la enfermedad renal. (Véanse, por ejemplo, las Solicitudes de Patente de Estados Unidos Publicadas número US 200510124591 y US 2006/0171983). Sin embargo, generalmente se cree que los compuestos de vitamina D contribuyen al fallo renal en lugar de representar un papel en el tratamiento o la prevención de la enfermedad renal.

El documento US2002/0028830 divulga un método para tratar síntomas de SLE que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de vitamina D. No se menciona la 2MD en el documento.

El documento US2005/0187201 divulga el uso de 2MD en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades en las que se desea la formación de hueso, en particular la osteoporosis.

- 30 El lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés) es un trastorno autoinmune no específico de un órgano, multigénico muy polimorfo. De media, afecta a 15-50 personas por 100.000 al año. Principalmente, afecta a las mujeres (aproximadamente 9 de cada 10 casos), y ciertas poblaciones étnicas parecen predisuestas a desarrollar la enfermedad, principalmente las poblaciones afrocaribeña, afroamericana e hispanoamericana.

- 35 Aunque no se conoce el origen del SLE, es una enfermedad multifactorial y se han identificado diferentes factores etiológicos. Como para los factores genéticos, la sensibilidad a la enfermedad es claramente multigénica. Se ha mostrado que varios genes están implicados en la sensibilidad genética, tales como los alelos DR2 y DR3 del sistema HLA. También se ha mostrado que otros genes no relacionados con el sistema HLA están implicados. Por otra parte, también se ha identificado que los factores medioambientales tienen un efecto causal sobre el SLE, tales como la radiación ultravioleta (naturaleza fotosensible de la erupción lúpica) y las hormonas sexuales (mujeres en períodos de actividad genital, papel de y durante el embarazo).

- 40 A nivel biológico, las características del SLE incluyen un síndrome inflamatorio generalizado durante las reacciones lúpicas, notablemente con una gran cantidad de secreción de TNF- α ; trastornos hematológicos y anomalías serológicas, predominantemente la existencia de anticuerpos antinucleares (ANA, por sus siglas en inglés) que pueden comprender anti-ADN, antihistonas, antinucleosomas, anti-Sm, anti-SSA o anti-SSB, y anticuerpos antirribonucleoproteínicos (RNP). Los pacientes también pueden producir anticuerpos dirigidos contra los elementos figurados de la sangre o fosfolípidos; algunos de estos autoanticuerpos son capaces de participar en la formación de complejos inmunitarios en circulación; e hipocomplementemia relacionada con el uso del complemento por los complejos inmunitarios (relacionado con un fallo renal grave que mejora durante las remisiones), y/o un déficit de constitución de C2 o C4 (predisposición a SLE).

- 50 La nefritis lúpica (LN, por sus siglas en inglés) es la manifestación del SLE en el riñón. La nefritis lúpica es una manifestación frecuente en aproximadamente 35-55% de los sujetos que tienen SLE y es uno de los principales factores de pronóstico en el diagnóstico del SLE. Se puede detectar probando la hematuria (presencia de sangre en la orina), la leucocituria (presencia de glóbulos blancos en la orina), la presión sanguínea elevada o, lo más comúnmente, la proteinuria (niveles elevados de proteína en la orina). La detección de una nefropatía es un momento crucial que influye en el pronóstico de la enfermedad renal, debido a que la LN a menudo puede avanzar
- 55

hasta el fallo renal crónico en de 5 a 10 años. En este caso, la supervivencia del paciente sólo se puede conseguir con diálisis o un trasplante de riñón.

El mecanismo principal del desarrollo de la LN se centra en la formación y la deposición de autoanticuerpos dentro de las estructuras del riñón. Una de las rutas clave de la patogénesis de la LN es el daño glomerular que activa una cascada de respuestas inflamatorias y humores locales que dan como resultado una degradación renal general.

Ha faltado el desarrollo de métodos para prevenir la enfermedad renal y tratar sus síntomas, incluyendo la nefritis lúpica en particular. Los tratamientos actualmente aprobados son limitados en su eficacia y tienen efectos secundarios numerosos y graves. La forma activa de la vitamina D₃ ha resultado ser un potente agente inmunomodulador, mostrando eficacia para tratar diversos modelos murinos de enfermedades autoinmunitarias.

Por lo tanto, existe una necesidad de un compuesto de vitamina D₃ que sea eficaz para prevenir la enfermedad renal y sus síntomas en sujetos con riesgo de desarrollar enfermedad renal así como eficaz para tratar (es decir, reducir la gravedad o frenar el avance de) síntomas de enfermedad renal.

Compendio de la invención

Se ha descubierto ahora que un análogo de vitamina D es capaz de prevenir la enfermedad renal y sus síntomas.

En una realización, la presente invención se refiere a un nuevo método para prevenir la enfermedad renal administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ (2MD) o sus sales farmacéuticamente aceptables a un sujeto con riesgo de desarrollar enfermedad renal sin inducir hipercalcemia en el sujeto.

En otra realización, la presente invención se refiere a métodos para prevenir síntomas de enfermedad renal, incluyendo proteinuria, daño glomerular y esplenomegalia, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ (2MD) o sus sales farmacéuticamente aceptables a un sujeto con riesgo de desarrollar síntomas de enfermedad renal sin inducir hipercalcemia en el sujeto.

En otra realización, la presente invención se refiere a un método para tratar síntomas de enfermedad renal administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ (2MD) o sus sales farmacéuticamente aceptables a un sujeto que exhibe síntomas de enfermedad renal. En una realización, el síntoma de enfermedad renal que se ha de tratar es proteinuria y/o esplenomegalia.

En una realización, la 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ se formula en una forma oral, tópica, transdérmica, parenteral, para inyección o para infusión en cantidades que varían de 0,001 µg/día a aproximadamente 5 µg/día por kg de peso corporal.

Otras características de la presente invención se hará evidente después de una revisión de la memoria descriptiva, las reivindicaciones y los dibujos.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. (A) Estructura molecular de la 1α,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃); (B) Estructura molecular de la 2-metilen-19-nor-(20S)-1α,25-(OH)₂D₃ (2MD).

Figura 2. Beneficios adicionales de la 2MD son un incremento de la supervivencia, una disminución de los niveles de PTH en la sangre y una mejora de las densidades minerales óseas. Las gráficas representan los niveles de PTH en suero y los resultados de BMD corporal total representan las medias del grupo y el EEM (8-13 ratas por grupo).

Figura 3. Todos los marcadores del fallo renal se mejoran al tratar con 2MD. Los valores de fósforo en suero y creatinina en suero representan las medias y el EEM de 8-13 animales urémicos. Se obtuvieron medidas de volumen de orina y proteína de 7-8 animales urémicos seis semanas después del inicio del tratamiento y se presentan como medias y el EEM.

Figura 4. Todos los efectos positivos de la 2MD se observan a niveles de dosis que no elevan significativamente el calcio en suero. Los valores de calcio en suero total mostrados son medias y el EEM de 8-13 animales urémicos.

Figura 5. El volumen de orina total y la excreción de proteína se reducen en un modelo de nefropatía diabética tipo I. Cada barra representa los valores obtenidos de 3-12 animales. Los valores mostrados son medias +/- EEM.

Figura 6. (A) Los niveles de calcio en suero se elevan suavemente con el tratamiento con 2MD. El tratamiento se inició la semana 10, que es cuando los ratones empezaban a mostrar por primera vez signos de proteinuria. El estudio se terminó la semana 19. (B) Incidencia terminal de proteinuria. La proteinuria se previene completamente con 5 ng de 2MD, y los ratones responden a dosis menores de un modo dependiente de la dosis. (C) El comienzo medio de la proteinuria se retrasa con el tratamiento con 1 ng de 2MD, y la incidencia global es menor para todos los

grupos de dosis. (D) La pérdida de peso es más grave en el grupo de 5 ng de 2MD, mientras que el crecimiento achaparrado observado en los grupos de 0,5 ng y 1 ng es muy leve (n=8).

Figura 7. (A) y (D) son micrografías de 100 aumentos de riñones de referencia y tratados con 2MD, respectivamente. 'G' indica glomérulos. (B) y (E) son micrografías de 400 aumentos de (A) y (D), respectivamente. En (B), hay una notable esclerosis glomerular, y también es visible fibrosis (tinción azul). Acumulaciones proteínicas, indicativas de proteinuria, son visibles en la esquina inferior derecha de (B). Aunque estaba presente fibrosis intersticial en las muestras tanto de referencia (C) como tratadas (F), el grado y la frecuencia eran mucho menores en las muestras tratadas con 2MD. Las puntas de flecha blancas apuntan a la tinción azul de las áreas fibróticas. Todas las secciones se tiñeron con tricromo.

Figura 8. (A) Fotografía de bazos. Los corchetes indican la dosis de 2MD administrada. Nótese los bazos significativamente menores presentes solamente en el grupo de 5 ng de 2MD. (B) Pesos de bazos no normalizados. Reflejando la observación visual en (A), los pesos de los bazos solo se disminuían significativamente en el grupo de 5 ng de 2MD. (C) Pesos de los bazos normalizados con respecto al peso corporal. El modelo es casi idéntico a (B). (n=8) *p<0,05. (D) y (E) son micrografías de 40 aumentos de bazos del grupo de referencia y tratado con 2MD teñidos con H&E, respectivamente. (D) muestra una estructura de pulpa blanca desorganizada, mientras que la pulpa blanca de (E) retiene algo de la estructura de vaina que es normal en bazos no enfermos.

Descripción detallada de las realizaciones ilustrativas

I. En general

En la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, los términos "que incluye(n)" y "que comprende(n)" son términos abiertos y se debe interpretar que significan "que incluye(n), pero no se limita(n) a". Estos términos abarcan los términos más restrictivos "que consiste(n) esencialmente en" y "que consiste(n) en".

Según se usan en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno/una" y "el/la" incluyen la referencia plural a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Asimismo, los términos "un" (o "uno/una"), "uno o más" y "al menos un" se pueden usar intercambiabilmente en la presente memoria. También se ha de apreciar que los términos "que comprende(n)", "que incluye(n)", "caracterizado(s) por" y "que tiene(n)" se pueden usar intercambiabilmente.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen los mismos significados que se entienden comúnmente por un experto normal en la técnica a la que pertenece esta invención. Todas las publicaciones y patentes se mencionan en la presente memoria con el propósito de describir y divulgar los productos químicos, los instrumentos, los análisis estadísticos y las metodologías que se presentan en las publicaciones que se podrían usar en relación con la invención. Todas las referencias citadas en esta memoria descriptiva se han de tomar como indicativas del nivel de experiencia en la técnica.

II. La invención

Previamente, este laboratorio demostró que 300 ng al día de 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) administrados a través de la dieta pueden prevenir eficazmente la enfermedad renal y el fallo renal reduciendo los síntomas de la enfermedad renal. James Wonkee Kim. Effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ on the MRL/MpJ-Fas/lpr model of systemic lupus erythematosus. Ph.D. These, University of Wisconsin-Madison (2009). Por ejemplo, los inventores han mostrado previamente que administrar 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) previene completamente la proteinuria en el modelo de ratón MRL/MpJ-Fas^{pr} (MRL/lpr) de lupus eritematoso sistémico (SLE). James Kid, Id. Sin embargo, una hipercalcemia intensa siempre acompañaba a este tratamiento. La hipercalcemia (incremento de niveles de calcio en la sangre) puede dar como resultado problemas físicos graves, incluyendo la muerte. Específicamente, un incremento en el calcio de aproximadamente 2 mg/100 ml se considera hipercalcemia leve y no se considera un problema. Sin embargo, un incremento en los niveles de calcio de más de 2 mg/100 ml se considera hipercalcemia grave y puede provocar la calcificación del riñón, el corazón y la aorta. Claramente, el uso de este compuesto no es óptimo debido a la hipercalcemia resultante. Por lo tanto, los presentes inventores han continuado buscando compuestos que prevengan la enfermedad renal y sus síntomas sin inducir hipercalcemia. También se desean compuestos que traten (es decir, reduzcan la gravedad o frenen el avance de) los síntomas de la enfermedad renal sin inducir hipercalcemia.

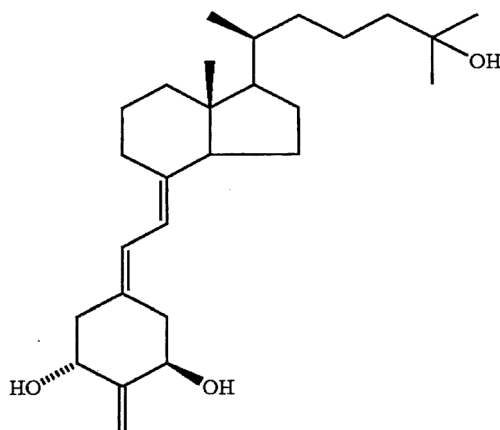
La 2-metilen-19-nor-(20S)-1 α ,25-(OH)₂D₃ (2MD) es un análogo de 1,25(OH)₂D₃ (Figura 1) que se ha observado que tiene una potencia in vivo incrementada hacia el hueso pero no sobre la absorción intestinal de calcio. La síntesis global de 2MD se ilustra y se describe más completamente en la Pat. EE. UU. n° 5.843.928, expedida el 1 de diciembre de 1998 y titulada "2-Alkylidene-19-Nor-Vitamin D Compounds". La actividad biológica de la 2MD se expone en la Solicitud de Patente de EE. UU. n° de serie 09/616.164, presentada el 14 de julio de 2000.

Por lo tanto, la presente invención proporciona que la 2MD puede prevenir la enfermedad renal y varios de sus síntomas (incluyendo proteinuria, daño glomerular y esplenomegalia) sin provocar hipercalcemia grave, mientras que también exhibe un incremento de la supervivencia, una disminución de los niveles de PTH en sangre y un incremento en las densidades minerales óseas (Figura 2).

La presente invención también muestra que la 2MD puede tratar (es decir, reducir la gravedad y frenar el avance de) diversos síntomas de la enfermedad renal sin provocar hipercalcemia grave, incluyendo tales síntomas proteinuria y esplenomegalia.

Por "hipercalcemia" se entiende niveles de calcio medios en sangre elevados de más de 2 mg/100 ml. En un sujeto normal, los niveles de calcio son aproximadamente 9-10,5 mg/dl o 2,2-2,6 mmol/l. En casos de hipercalcemia grave (es decir, niveles de calcio por encima de 15-16 mg/dl o 3,75-4 mmol/l) se pueden desarrollar coma y ataque cardíaco.

Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona nuevos métodos para prevenir la enfermedad renal en un sujeto con riesgo de desarrollar enfermedad renal administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de 2-metilen-19-nor-(20S)-1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ (2MD) o sus sales farmacéuticamente aceptables sin inducir hipercalcemia en el sujeto, donde la 2MD tiene la estructura (I):



(I).

(El doble enlace que sale del anillo indica un $=\text{CH}_2$ y la estructura es técnicamente correcta sin el (CH_2) realmente mostrado).

Por "prevenir" se entiende una anticipación a un síntoma clínico indicativo de enfermedad renal y/o nefritis lúpica. Tal anticipación incluye, por ejemplo, el mantenimiento de las funciones normales del riñón en un sujeto con riesgo de desarrollar la enfermedad renal antes del desarrollo de síntomas de enfermedad renal evidentes incluyendo, pero no limitados a, proteinuria, daño glomerular o esplenomegalia. Por lo tanto, el término "prevenir" incluye el tratamiento profiláctico de sujetos para protegerlos de la presencia la enfermedad renal. Prevenir la enfermedad renal en un sujeto también pretende incluir inhibir o detener el desarrollo de la enfermedad renal. Inhibir o detener el desarrollo de la enfermedad renal incluye, por ejemplo, inhibir o detener la presencia de proteinuria, daño glomerular, esplenomegalia y otros síntomas de la enfermedad renal. Inhibir o detener el desarrollo de la enfermedad renal también incluye, por ejemplo, inhibir o detener el avance de una o más afecciones patológicas o complicaciones crónicas asociadas con la enfermedad renal.

Por "enfermedad renal" se entiende un estado que exhibe una función deteriorada del riñón en un sujeto que no está sometido a diálisis o un paciente con enfermedad renal crónica (CKD, por sus siglas en inglés) en las fases 2 o 3, tal como, por ejemplo, fallo renal agudo, síndrome nefrítico agudo, nefropatía analgésica, enfermedad renal ateroembólica, fallo renal crónico, nefritis crónica, síndrome nefrótico congénito, síndrome de Goodpasture, nefritis intersticial, cáncer de riñón, daño renal, infección renal, lesión renal, cálculos renales, GNI membranoproliferativa, GNII membranoproliferativa, nefropatía membranosa, enfermedad de cambios mínimos, glomerulonefritis necrosante, nefroblastoma, nefrocalcinosis, diabetes insípida nefrogénica, nefropatía por IgA, nefrosis, síndrome nefrótico, enfermedad renal poliquística, GN posestreptocócica, nefropatía de reflujo, embolismo arterial renal, estenosis arterial renal, trastornos renales, necrosis papilar renal, acidosis tubular renal tipo I, acidosis tubular renal tipo II, subperfusión renal, trombosis venosa renal.

No se pretende incluir pacientes con fallo renal establecido (p. ej. una velocidad de filtración glomerular (GFR, por sus siglas en inglés) de <15 ml/min/1,73 m² o terapia de reposición renal permanente (RRT, por sus siglas en inglés)). Por "enfermedad renal" también se entiende un sujeto que ha tenido daño renal durante ≥ 3 meses, según se define por anomalías estructurales o funcionales del riñón, con o sin disminución de la GFR, manifestado bien por anomalías patológicas o bien por marcadores del daño renal, incluyendo anomalías en la composición de la sangre o la orina, o anomalías en pruebas de imagen (Figura 3). Marcadores del daño renal incluyen proteinuria de > 300 µg/día medida por el método de excreción de 24 h (Véase la Tabla 15, Am. J. of Kidney Diseases, v. 39, n° 2, Supl. 1 (feb. 2002), pp. 546-575, incorporado mediante referencia). Esta definición no incluye pacientes sometidos a diálisis.

Por "CKD en fase 2" se entiende una reducción ligera en la GFR (60-89 ml/min/1,73 m²) con daño renal. El daño renal se define como anomalías patológicas o marcadores del daño, incluyendo anomalías en una prueba en sangre u orina o estudios imagen. Por "CKD en fase 3" se entiende una reducción moderada en la GFR (30-59 ml/min/1,73 m²). Las normas británicas distinguen entre la fase 3A (GFR 45-59) y la fase 3B (GFR 30-44) con propósitos de identificación sistemática y referencia. Para más información acerca de ambas fases, véase Am. J. of Kidney Disease, v. 39, n° 2, Supl. I, feb. 2002, incorporado mediante referencia.

En una realización la enfermedad renal es nefritis lúpica. Por "nefritis lúpica" se entiende la enfermedad renal crónica caracterizada por deposición de complejo inmunitario (IC, por sus siglas en inglés) glomerular, inflamación glomerular y tubular e infiltración intersticial de leucocitos. La nefritis lúpica puede crear complicaciones graves incluyendo toxicidad derivada de fallo renal, hipertensión y fallo cardiovascular derivados de insuficiencia renal, y un incremento de la sensibilidad a infecciones. Un sujeto que tiene nefritis lúpica exhibe al menos cuatro de los siguientes síntomas: un sarpullido facial con configuración de mariposa; erupción lúpica discoide; fotosensibilidad; úlceras bucales o nasofaríngeas; poliartritis no erosiva, pleuritis o pericarditis; proteinuria > 0,5 g/24 h o cilindruria; convulsiones o psicosis; anemia hemolítica o leucopenia < 4.000/mm³ o linfopenia < 1.500/mm³ o trombocitopenia < 100.000/mm³; anomalías inmunológicas incluyendo la presencia de células LE (células de Hargraves) o anticuerpos anti-ADN natural (Abs) o anticuerpos anti-Sm o un resultado de sífilis positivo falso; o la presencia de un gran número de Abs antinucleares.

Por "sujeto" se entiende mamíferos y no mamíferos. "Mamíferos" significa cualquier miembro de la clase Mammalia incluyendo, pero no limitado a, seres humanos, primates no humanos tales como chimpancés y otros simios y especies de mono; animales de granja tales como ganado vacuno, caballos, ovejas, cabras y cerdos; animales domésticos tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y cobayas; y similares. Ejemplos de no mamíferos incluyen, pero no se limitan a, aves y similares. El término "sujeto" no indica una edad o un sexo particulares.

Por "con riesgo de desarrollar enfermedad renal" se entiende cualquier sujeto que tenga enfermedad renal, tal como SLE, o con riesgo de tener enfermedad renal, tal como SLE.

Por "administrar" se entiende cualquier medio para introducir un compuesto en el cuerpo, preferiblemente en la circulación sistémica, según se describe con más detalle posteriormente. Ejemplos incluyen pero no se limitan a oral, tópica, bucal, sublingual, pulmonar, transdérmica, transmucosa, así como inyección subcutánea, intraperitoneal, intravenosa e intramuscular o en la forma de dosis líquidas o sólidas a través del canal alimentario.

Por "terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento de la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo del compuesto, el estado de enfermedad que se trate, la gravedad de la enfermedad tratada, la edad y la salud relativa del sujeto, la vía y la forma de administración, el juicio del profesional médico o veterinario responsable, y otros factores. Ratones MRL/lpr fueron dosificados con varios niveles de dosis de 2MD que no provocaban una hipercalcemia significativa. Se encontró que 5 ng de 2MD por ratón por día es suficiente para prevenir la proteinuria sin incrementar drásticamente los niveles de calcio en suero del sujeto. Por otra parte, 1 ng de 2MD mostraba una reducción de más de 60% en la incidencia de proteinuria mientras que se mantenían los niveles de calcio en suero dentro del intervalo fisiológicamente normal.

En una realización, la cantidad terapéuticamente eficaz varía entre aproximadamente 0,001-5 µg/día. En una realización alternativa, la cantidad terapéuticamente eficaz varía entre aproximadamente 0,025-0,3 µg/día. (Véase la Patente de EE. UU. 5.843.928, que divulga métodos de administración adecuados). Se podría verificar el avance de la enfermedad renal por síntomas de seguimiento, tales como excreción de proteína urinaria total, creatinina, GFR y fósforo. Se espera que estos síntomas frenen su avance.

En otra realización, la presente invención proporciona un nuevo método para tratar síntomas de enfermedad renal. El método comprende administrar a un sujeto que exhiba síntomas de enfermedad renal una cantidad terapéuticamente eficaz de 2MD sin inducir hipercalcemia en el sujeto. En una realización el síntoma que se ha de tratar es proteinuria y/o esplenomegalia.

Por "tratar" se entiende una mejora de un síntoma clínico indicativo de enfermedad renal. La mejora de un síntoma clínico incluye, por ejemplo, reducir la gravedad o frenar el avance de un síntoma de enfermedad renal, por ejemplo, limitar la proteinuria disminuyendo la cantidad de proteína liberada de los riñones en respuesta al tratamiento con 2MD, o reducir el tamaño del bazo de un sujeto que tiene esplenomegalia. Específicamente, se pretende reducir la cantidad de proteína en la orina en al menos aproximadamente 20%. En una realización, la cantidad de proteína en la orina del sujeto se reduce en aproximadamente 20-40% o aproximadamente 35-50%. También se pretende reducir el tamaño del bazo en al menos aproximadamente 20%. En una realización, el tamaño del bazo del sujeto se reduce en aproximadamente 20-40% o aproximadamente 35-50%. Otros estados patológicos, complicaciones crónicas o manifestaciones fenotípicas de la enfermedad renal son conocidos por los expertos en la técnica y se pueden usar de forma similar como una medida para tratar la enfermedad renal con tal de que haya una reducción en la gravedad de la afección, la complicación o la manifestación asociada con la enfermedad.

Específicamente, en una realización, la presente invención trata o previene la proteinuria en un sujeto. Por "proteinuria" se entiende la presencia de un exceso de proteínas del suero en la orina. La proteína en la orina a menudo hace que la orina se espume. Puesto que las proteínas del suero se reabsorben fácilmente desde la orina, la presencia de proteína en exceso indica bien una insuficiencia de absorción o bien una filtración deteriorada.

- 5 En otra realización, la presente invención previene el daño glomerular adicional en un sujeto. Por "daño glomerular" se entiende daño al glomérulo, las pequeñas agrupaciones de vasos sanguíneos en bucle dentro de los riñones de un sujeto. La sangre entra en los riñones a través de arterias que se ramifican dentro de los riñones en los glomérulos, que proviene de la palabra griega que significa filtro. Hay aproximadamente 1 millón de glomérulos, o filtros, en cada riñón. El glomérulo está unido a la abertura de túbulos pequeños que recogen fluidos. La sangre se
10 filtra en el glomérulo, y el agua en exceso y los residuos pasan a los túbulos y se convierten en orina. Finalmente, la orina se drena desde los riñones hasta la vejiga urinaria a través de los uréteres. Cuando se dañan, los glomérulos dejan que proteína y a veces glóbulos rojos pasen a la orina. El daño glomerular también puede interferir con la depuración de productos residuales por los riñones, de modo que se empiezan a acumular en la sangre. Por otra parte, la pérdida de proteínas sanguíneas como albúmina en la orina puede dar como resultado una caída en su
15 nivel en la corriente sanguínea. En sangre normal, la albúmina actúa como una esponja, atrayendo fluido en exceso desde el cuerpo hacia la corriente sanguínea, donde permanece hasta que los riñones lo retiran. Pero cuando la albúmina pasa a la orina, la sangre pierde su capacidad de absorber fluido en exceso del cuerpo. El fluido se puede acumular fuera del sistema circulatorio en la cara, las manos, los pies o los tobillos y provocar hinchazón. El daño glomerular puede incluir proteinuria (grandes cantidades de proteína en la orina); hematuria (sangre en la orina); velocidad de filtración glomerular reducida (filtración ineficaz de residuos procedentes de la sangre); hipoproteinemia (poca proteína en sangre) y edema (hinchazón de partes del cuerpo).

- En otra realización, la presente invención trata o previene la esplenomegalia en un sujeto. Por "esplenomegalia" se entiende un agrandamiento del bazo, que habitualmente está en el cuadrante superior izquierdo del abdomen humano. Habitualmente, se asocia con un incremento en la carga de trabajo (tal como en anemias hemolíticas), que
25 sugiere que es una respuesta a la hiperfunción. Se asocia con cualquier proceso de enfermedad que implique glóbulos rojos anormales que son destruidos en el bazo. La esplenomegalia se define como un tamaño del bazo > 12 cm. Una esplenomegalia moderada se define como un tamaño del bazo entre 11-20 cm y la esplenomegalia grave se define como un tamaño del bazo mayor de 20 cm. El tratamiento implica habitualmente una esplenectomía, en la que el bazo se extirpa. Sin embargo, esto deja a los sujetos vulnerables a un riesgo incrementado de enfermedades infecciosas.

- Por "terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento de la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo del compuesto, el estado de enfermedad que se trate, la gravedad de la enfermedad tratada, la edad y la salud relativa del sujeto, la vía y la forma de administración, el juicio del
35 profesional médico o veterinario responsable, y otros factores. En una realización, la cantidad terapéuticamente eficaz varía entre aproximadamente 0,001-5 µg/día por kg de peso corporal. En una realización alternativa, la cantidad terapéuticamente eficaz varía entre aproximadamente 0,025-0,3 µg/día. Se podría controlar el avance de la enfermedad renal mediante síntomas de seguimiento, tales como la excreción de proteína urinaria total, la creatinina, la GFR y el fósforo. Se espera que estos síntomas frenen su avance.

- 40 En una realización de la invención, se combinaría el tratamiento con 2MD con bloqueadores del receptor de angiotensina (ARB, por sus siglas en inglés) o inhibidores de enzima conversiva de angiotensina (inhibidores de ACE, por sus siglas en inglés) usados para tratar la hipertensión.

- Formulaciones de compuestos eficaces se describen en la Patente de EE. UU. 5.843.928 e incluyen aplicaciones farmacéuticas como una solución en disolventes inocuos, o como una emulsión, suspensión o dispersión en
45 disolventes o portadores adecuados, o como píldoras, comprimidos, cápsulas combinados con portadores sólidos. Otras formulaciones también pueden incluir otros excipientes farmacéuticamente aceptables y atóxicos tales como estabilizantes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes o agentes emulsionantes o modificadores del sabor y formulaciones de liberación prolongada.

Dosificación.

- 50 En una realización, el compuesto de 2MD es el ingrediente farmacéutico activo (API, por sus siglas en inglés) de esta invención. El API se puede formular en una forma de dosificación farmacéutica oral como una solución en disolventes inocuos, una emulsión, suspensión o dispersión en disolventes o portadores adecuados. El API también se puede formular en diversas formas de dosificación oral, tales como píldoras, comprimidos o cápsulas que usan portadores sólidos farmacéuticos adecuados. Tales formulaciones farmacéuticas también pueden contener otros
55 ingredientes inactivos aprobados por la USP farmacéuticamente adecuados, excipientes, tales como estabilizantes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes, emulsionantes y/o agentes modificadores del sabor, que se denominan ingredientes farmacéuticos inactivos aprobados por la USP.

El API se puede administrar oralmente, tópicamente, parenteralmente o transdérmicamente o por inhalación. El compuesto se puede administrar mediante inyección o infusión intravenosa usando soluciones estériles adecuadas.

Las formas de dosificación tópica pueden ser cremas, pomadas, parches, o vehículos similares adecuados para formas de dosificación transdérmicas y tópicas.

Dosis en el intervalo de 0,1 µg a 10 µg por día por kg de peso corporal del API se pueden usar para la prevención o el tratamiento de fallo renal/proteinuria. Todos los efectos positivos de la 2MD se observan a niveles de dosis que no elevan significativamente el calcio en suero (Figura 4). Tales dosis y regímenes de dosificación se pueden ajustar para adaptarse a la gravedad o el avance de la enfermedad, la predisposición/riesgo/sensibilidad del paciente y otros criterios conocidos.

Los sistemas portadores orales farmacéuticamente adecuados (también denominados sistemas de aporte de fármaco, que pertenecen a la tecnología moderna, distribuidos con o como parte de un producto farmacéutico que permite la liberación uniforme o la orientación de fármacos al cuerpo) incluyen preferiblemente ingredientes inactivos aprobados por la FDA y/o aprobados por la USP. Bajo 21 CFR 210.3(b)(8), un ingrediente inactivo es cualquier componente de un producto farmacéutico distinto al ingrediente activo. Según 21 CFR 210.3(b)(7), un ingrediente activo es cualquier componente de un producto farmacéutico destinado a proporcionar actividad farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, la cura, la mitigación, el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o a afectar a la estructura o cualquier función del cuerpo de seres humanos u otros animales. Los ingredientes activos incluyen los componentes del producto que pueden sufrir cambio químico durante la fabricación del producto farmacéutico y estar presentes en el producto farmacéutico en una forma modificada destinada a proporcionar la actividad o el efecto especificados. Según se usa en la presente memoria, un estuche (también denominado una forma de dosificación) es un conjunto envasado de material relacionado.

Administración.

Según se usa en la presente memoria, la forma de dosificación oral incluye cápsulas, una forma de dosificación oral sólida que consiste en una envuelta y un relleno, en la que la envuelta está compuesta por una sola cubierta sellada, o dos mitades que se ajustan entre sí y que a veces se sellan con una banda, y en donde las envueltas para cápsulas pueden estar hechas de gelatina, almidón o celulosa, u otros materiales adecuados, pueden ser blandas o duras, y están rellenas con ingredientes sólidos o líquidos que se pueden verter o prensar. La forma de dosificación oral también puede ser una cápsula o pellas revestidas, en las que el fármaco está encerrado dentro de un receptáculo soluble bien duro o bien blando o una "envuelta" hecha de una forma de gelatina adecuada. El propio fármaco puede estar en la forma de gránulos a los que se han aplicado cantidades variables de revestimiento o en una cápsula revestida de liberación prolongada, en la que el fármaco está encerrado dentro de un receptáculo soluble bien duro o bien blando o una "envuelta" hecha de una forma adecuada de gelatina. Adicionalmente, la cápsula puede estar cubierta en un revestimiento diseñado que libera un fármaco o fármacos de tal modo que permite al menos una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con el fármaco o los fármacos presentados como una forma de dosificación convencional.

La forma de dosificación oral puede ser además una cápsula de liberación retardada, en la que el fármaco se encierra dentro de un receptáculo soluble bien duro o bien blando hecho de una forma adecuada de gelatina, y que libera un fármaco (o fármacos) en un momento distinto a inmediatamente después de la administración, en donde las formas de dosificación de liberación retardada son artículos revestidos entéricamente. También son útiles las pellas de liberación retardada en forma de cápsula, en las que el fármaco está encerrado dentro de un receptáculo soluble bien duro o bien blando o una "envuelta" hecha de una forma adecuada de gelatina. En estos casos, el propio fármaco está en la forma de gránulos a los que se ha aplicado un revestimiento entérico, retardando así la liberación del fármaco hasta su paso a los intestinos. También son útiles una cápsula de liberación prolongada y una cápsula revestida con película de liberación prolongada.

Adicionalmente, la cápsula se cubre con un revestimiento pelicular diseñado, y que libera un fármaco o fármacos de tal modo que permite al menos una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con la de un fármaco o fármacos presentados como una forma de dosificación convencional), una cápsula de gelatina revestida (una forma de dosificación sólida en la que el fármaco está encerrado dentro de un receptáculo soluble bien duro o bien blando hecho de una forma adecuada de gelatina; a través de un procedimiento de aplicación de banda, la cápsula se reviste con capas adicionales de gelatina de modo que se forme una selladura completa), una cápsula rellena con líquido (una forma de dosificación sólida en la que el fármaco está encerrado dentro de una envuelta de gelatina soluble que se plastifica mediante la adición de un poliol, tal como sorbitol o glicerina, y por lo tanto es de una consistencia algo más densa que una cápsula con envuelta dura).

Típicamente, los ingredientes activos se disuelven o suspenden en un vehículo líquido, un gránulo (una partícula o grano pequeño), una pella (una pequeña masa sólida estéril que consiste en un fármaco altamente purificado, con o sin excipientes, elaborada mediante la formación de gránulos, o mediante compresión y moldeo), pellas revestidas de liberación prolongada (una forma de dosificación sólida en la que el propio fármaco está en la forma de gránulos a los que se han aplicado cantidades variables de revestimiento, y que libera un fármaco o fármacos de tal modo que permite una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con la de un fármaco o fármacos presentados como una forma de dosificación convencional).

Otras formas incluyen píldoras (una forma de dosificación sólida pequeña y redonda que contiene un agente

medicinal destinado a la administración oral), un polvo (una mezcla íntima de fármacos y/o productos químicos secos finamente divididos que puede estar destinada al uso interno o externo), un elixir (un líquido hidroalcohólico transparente, edulcorado, de sabor agradable, que contiene agentes medicinales disueltos; está destinado al uso oral), una goma de mascar (un material plástico insoluble edulcorado y aromatizado de diversas conformaciones que, cuando se masca, libera una sustancia farmacéutica en la cavidad oral), un jarabe (una solución oral que contiene altas concentraciones de sacarosa u otros azúcares; el término también se ha usado para incluir cualquier otra forma de dosificación líquida preparada en un vehículo dulce y viscoso, incluyendo suspensiones orales), un comprimido (una forma de dosificación sólida que contiene sustancias medicinales con o sin diluyentes adecuados), un comprimido masticable (una forma de dosificación sólida que contiene sustancias medicinales con o sin diluyentes adecuados que está destinada a ser mascada, produciendo un residuo de sabor agradable en la cavidad oral que se traga fácilmente y no deja un regusto amargo o desagradable), un comprimido revestido o un comprimido de liberación retardada, un comprimido dispersable, un comprimido efervescente, un comprimido de liberación prolongada, un comprimido revestido con película o un comprimido revestido con película de liberación prolongada en donde el comprimido se formula de tal modo que el medicamento contenido se haga disponible a lo largo de un período de tiempo prolongado después de la ingestión.

En otras formas, se puede proporcionar un comprimido para solución, un comprimido para suspensión, un comprimido de múltiples capas, un comprimido de múltiples capas de liberación prolongada, donde el comprimido se formula de tal modo que se permite al menos una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con la de un fármaco presentado como una forma de dosificación convencional. También son adecuados un comprimido que se desintegra oralmente, un comprimido que se desintegra oralmente de liberación retardada, un comprimido soluble, un comprimido osmótico revestido con azúcar y similares.

La composición en forma de dosificación oral contiene un ingrediente farmacéutico activo y uno o más ingredientes farmacéuticos inactivos tales como diluyentes, solubilizantes, alcoholes, aglutinantes, polímeros de liberación controlada, polímeros entéricos, desintegrantes, excipientes, colorantes, saborizantes, edulcorantes, antioxidantes, conservantes, pigmentos, aditivos, cargas, agentes de suspensión, tensioactivos (p. ej., aniónicos, catiónicos, anfóteros y no iónicos) y similares. Diversos ingredientes inactivos tópicos aprobados por la FDA se encuentran en la "The Inactive Ingredients Database" de la FDA que contiene ingredientes inactivos destinados específicamente como tales por el fabricante, en donde los ingredientes inactivos también se pueden considerar ingredientes activos bajo ciertas circunstancias, según la definición de un ingrediente activo dada en 21 CFR 21.0.3(b)(7). El alcohol es un buen ejemplo de un ingrediente que se puede considerar bien activo o bien inactivo dependiendo de la formulación del producto.

Según se usa en la presente memoria, las formas de dosificación inyectables y de infusión incluyen, pero no se limitan a, un producto inyectable liposómico, que bien consiste en o bien forma liposomas (una vesícula de bicapa lipídica compuesta habitualmente por fosfolípidos que se usa para encapsular una sustancia farmacéutica activa). También es adecuada una inyección, que incluye una preparación estéril destinada al uso parenteral; existen cinco clases distintas de inyecciones según se define por la USP. También son adecuadas una inyección en emulsión, que incluye una emulsión que consiste en una preparación estéril libre de pirógenos destinada a ser administrada parenteralmente o una inyección de complejo lipídico.

Otras formas incluyen un polvo para inyección de solución, que es una preparación estéril destinada a la reconstitución para formar una solución para uso parenteral; un polvo para inyección de suspensión que es una preparación estéril destinada a la reconstitución para formar una suspensión para uso parenteral; un polvo liofilizado para inyección de suspensión liposómica, que es una preparación estéril secada por congelación destinada a la reconstitución para uso parenteral que se ha formulado de un modo que permita que se formen liposomas (una vesícula de bicapa lipídica compuesta habitualmente por fosfolípidos que se usa para encapsular una sustancia farmacéutica activa, bien dentro de una bicapa lipídica o bien en un espacio acuoso) durante la reconstitución; un polvo liofilizado para inyección de solución, que es una forma de dosificación destinada a la solución preparada mediante liofilización ("secado por congelación"), un procedimiento que implica la retirada de agua de productos en estado congelado a presiones extremadamente bajas.

Esta está destinada a la adición posterior de líquido para crear una solución que se ajusta en todos los aspectos a los requisitos para las inyecciones; un polvo liofilizado para inyección de suspensión que es una preparación líquida, destinada al uso parenteral, que contiene sólidos suspendidos en un medio fluido adecuado y que se ajusta en todos los aspectos a los requisitos para las suspensiones estériles; los agentes medicinales destinados a la suspensión se preparan mediante liofilización ("secado por congelación"), un procedimiento que implica la retirada de agua de productos en estado congelado a presiones extremadamente bajas; una inyección de solución que es una preparación líquida que contiene una o más sustancias farmacéuticas disueltas en un disolvente adecuado o una mezcla de disolventes mutuamente miscibles que es adecuada para inyección; una inyección de concentrado para solución que es una preparación estéril para uso parenteral que, al añadir disolventes adecuados, da una solución que se ajusta en todos los aspectos a los requisitos para inyecciones.

Una inyección de suspensión comprende una preparación líquida, adecuada para inyección, que consiste en partículas sólidas dispersadas en una fase líquida en la que las partículas no son solubles que también puede consistir en una fase oleosa dispersada en una fase acuosa, o viceversa. Una inyección liposómica en suspensión

comprende una preparación líquida, adecuada para inyección, que consiste en una fase oleosa dispersada en una fase acuosa de tal modo que se formen liposomas (una vesícula de bicapa lipídica compuesta habitualmente por fosfolípidos que se usa para encapsular una sustancia farmacéutica activa, bien dentro de una bicapa lipídica o bien en un espacio acuoso). Una inyección de suspensión tratada con ultrasonidos comprende una preparación líquida, adecuada para inyección, que consiste en partículas sólidas dispersadas en una fase líquida en la que las partículas no son solubles. Además, el producto se somete a ultrasonidos mientras se burbujea un gas a través de la suspensión, y esto da como resultado la formación de microesferas por las partículas sólidas.

El sistema portador parenteral incluye uno o más excipientes farmacéuticamente adecuados, tales como disolventes y codisolventes, agentes solubilizantes, agentes humectantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, agentes emulsionantes, agentes quelantes, tampones, ajustadores del pH, antioxidantes, agentes reductores, conservantes antimicrobianos, agentes de aumento de masa, protectores, ajustadores de la tonicidad, y aditivos especiales. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral comprenden convenientemente una preparación oleosa o acuosa estéril del ingrediente activo que es preferiblemente isotónica con la sangre del receptor.

Según se usa en la presente memoria, las formas de dosificación por inhalación incluyen, pero no se limitan a, un aerosol que es un producto que está envasado bajo presión y contiene ingredientes terapéuticamente activos que se liberan al activar un sistema valvular apropiado destinado a la aplicación tópica a la piel así como la aplicación local en la nariz (aerosoles nasales), la boca (aerosoles linguales y sublinguales) o los pulmones (aerosoles de inhalación); un aerosol de espuma que es una forma de dosificación que contiene uno o más ingredientes activos, tensioactivos, líquidos acuosos o no acuosos y los propelentes, en donde si el propelente está en la fase interna (discontinua) (es decir, del tipo de aceite en agua), se descarga una espuma estable, y si el propelente está en la fase externa (continua) (es decir, del tipo de agua en aceite), se descarga una pulverización o una espuma de rotura rápida; un aerosol medido que es una dosificación presurizada que consiste en válvulas de dosis medidas que permiten el aporte de una cantidad uniforme de pulverización con cada activación; un aerosol en polvo que es un producto que está envasado bajo presión y contiene ingredientes terapéuticamente activos, en la forma de un polvo, que se liberan al activar un sistema valvular apropiado; y una pulverización en aerosol que es un producto en aerosol que utiliza un gas comprimido como el propelente para proporcionar la fuerza necesaria para expulsar el producto como una pulverización húmeda y que es aplicable a soluciones de agentes medicinales en disolventes acuosos.

Según se usa en la presente memoria, una forma de dosificación transdérmica incluye, pero no se limita a, un parche que es un sistema de aporte de fármacos que contiene a menudo un soporte adhesivo que se aplica habitualmente a una zona externa del cuerpo, en donde los ingredientes bien se difunden pasivamente desde o bien se transportan activamente desde alguna porción del parche, y en donde, dependiendo del parche, los ingredientes bien se aportan a la superficie externa del cuerpo o bien al interior del cuerpo; y otros diversos tipos de parches transdérmicos tales como una matriz, un depósito y otros conocidos en la técnica.

Según se usa en la presente memoria, la forma de dosificación tópica incluye diversas formas de dosificación conocidas en la técnica tales como lociones (una emulsión, una forma de dosificación líquida, en donde esta forma de dosificación generalmente es para aplicación externa a la piel), una loción aumentada (una forma de dosificación de loción que mejora el aporte de fármaco, en donde aumento no se refiere a la potencia del fármaco en la forma de dosificación), geles (una forma de dosificación semisólida que contiene un agente gelificante para proporcionar solidez a una solución o una dispersión coloidal, en donde el gel puede contener partículas suspendidas) y pomadas (una forma de dosificación semisólida, que contiene habitualmente <20% de agua y materias volátiles y >50% de hidrocarburos, ceras o políoles como el vehículo, en donde esta forma de dosificación es generalmente para aplicación externa a la piel o las membranas mucosas).

Una pomada aumentada (una forma de dosificación de pomada que mejora el aporte de fármaco, en donde aumento no se refiere a la potencia del fármaco en la forma de dosificación), cremas (una emulsión, una forma de dosificación semisólida, que contiene habitualmente > 20% de agua y materias volátiles y/o < 50% de hidrocarburos, ceras o políoles también se pueden usar como el vehículo, en donde esta forma de dosificación es generalmente para aplicación externa a la piel o las membranas mucosas. También son adecuados una crema aumentada (una forma de dosificación en crema que mejora el aporte de fármaco, en donde aumento no se refiere a la potencia del fármaco en la forma de dosificación), emulsiones (una forma de dosificación que consiste en un sistema bifásico comprendido por al menos dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales está dispersado como gotículas, fase interna o dispersada, dentro de la otra fase líquida externa o continua, generalmente estabilizada con uno o más agentes emulsionantes, en donde emulsión se usa como un término de forma de dosificación a menos que se pueda aplicar un término más específico, p. ej. crema, loción, pomada), suspensiones (una forma de dosificación líquida que contiene partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido), una suspensión de liberación prolongada, pastas (una forma de dosificación semisólida que contiene una gran proporción, 20 - 50%, de sólidos finamente dispersados en un vehículo graso, en donde esta forma de dosificación es generalmente para aplicación externa a la piel o las membranas mucosas), soluciones (una forma de dosificación líquida homogénea y transparente que contiene una o más sustancias químicas disueltas en un disolvente o una mezcla de disolventes mutuamente miscibles), y polvos.

Los champús (una forma de dosificación de loción que tiene un jabón o detergente que habitualmente se usa para lavar el pelo y el cuero cabelludo) se usan a menudo como un vehículo para agentes dermatológicos. Por ejemplo,

se usan a menudo suspensiones de champú (un jabón o detergente líquido que contiene una o más sustancias sólidas insolubles dispersadas en un vehículo líquido que se usa para lavar el pelo y el cuero cabelludo y a menudo se usa como un vehículo para agentes dermatológicos). También son adecuadas espumas en aerosol (es decir, una forma de dosificación que contiene uno o más ingredientes activos, tensioactivos, líquidos acuosos o no acuosos y los propelentes; si el propelente está en la fase discontinua interna, es decir, del tipo de aceite en agua, se descarga una espuma estable, y si el propelente está en la fase continua externa, es decir, del tipo de agua en aceite, se descarga una pulverización o una espuma de rotura rápida, pulverizaciones (un líquido minúsculamente dividido como mediante un chorro de aire o vapor de agua), una pulverización medida (una forma de dosificación no presurizada que consiste en válvulas que permiten el suministro de una cantidad especificada de pulverización con cada activación), y una pulverización de suspensión (una preparación líquida que contiene partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido y en la forma de partículas gruesas o como sólidos finamente divididos que se han de aplicar oralmente, lo más habitualmente al tracto nasofaríngeo, o tópicamente a la piel).

También son adecuadas gelatinas (una clase de geles, que son sistemas semisólidos que consisten en suspensiones formadas bien por pequeñas partículas inorgánicas o bien por grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido – en las que la matriz coherente estructural contiene una gran porción de líquido, habitualmente agua) y películas (una capa delgada o revestimiento), incluyendo una película de liberación prolongada (un sistema de aporte de fármaco en la forma de una película que libera el fármaco a lo largo de un período prolongado de tal modo que se mantengan niveles de fármaco constantes en la sangre o el tejido elegido como objetivo) y una película soluble (una capa delgada o revestimiento que es susceptible de ser disuelto cuando entra en contacto con un líquido).

También son adecuados esponjas (un material absorbente poroso entrelazado que contiene un fármaco, que se usa típicamente para aplicar o introducir una medicación, o para limpieza, y en donde una esponja habitualmente retiene su conformación), hisopos (un trozo pequeño de material absorbente relativamente plano que contiene un fármaco, en donde un hisopo también puede estar unido a un extremo de un palillo pequeño, y en donde un hisopo se usa típicamente para aplicar medicación o para limpieza).

También son adecuados parches (un sistema de aporte de fármacos que a menudo contiene un soporte adhesivo que habitualmente se aplica a una zona externa del cuerpo, en donde sus ingredientes bien se difunden pasivamente desde o bien se transportan activamente desde alguna porción del parche, en donde, dependiendo del parche, los ingredientes se aportan bien a la superficie externa del cuerpo o bien hacia dentro del cuerpo, y en donde un parche a veces es sinónimo de los términos película y sistema de liberación prolongada), un parche de liberación prolongada (un sistema de aporte de fármaco en la forma de un parche que libera el fármaco de tal modo que se consigue una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con el fármaco presentado como una forma de dosificación convencional, p. ej., una solución o una forma de dosificación sólida convencional de liberación de fármaco inmediata), un parche de liberación prolongada electrónicamente controlada (un sistema de aporte de fármaco en la forma de un parche que está controlado por una corriente eléctrica que libera el fármaco de tal modo que se consigue una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con el fármaco presentado como una forma de dosificación convencional, p. ej., una solución o una forma de dosificación sólida convencional de liberación de fármaco inmediata), y similares. Las diversas formas de dosificación sólidas también se pueden formular como liberación inmediata, liberación controlada, liberación sostenida o similares.

La composición en forma de dosificación tópica contiene un ingrediente farmacéutico activo y uno o más ingredientes farmacéuticos inactivos tales como excipientes, colorantes, pigmentos, aditivos, cargas, emolientes, tensioactivos (p. ej., aniónicos, catiónicos, anfóteros y no iónicos), mejoradores de la penetración (p. ej., alcoholes, alcoholes grasos, ácidos grasos, ésteres de ácido graso y polioles), y similares. Diversos ingredientes inactivos tópicos aprobados por la FDA se encuentran en "The Inactive Ingredients Database" de la FDA que contiene ingredientes inactivos destinados específicamente como tales por el fabricante, en donde los ingredientes inactivos también se pueden considerar ingredientes activos bajo ciertas circunstancias, según la definición de un ingrediente activo dada en 21 CFR 21.0.3 (b)(7). El alcohol es un buen ejemplo de un ingrediente que se puede considerar bien activo o bien inactivo dependiendo de la formulación del producto.

Aunque se divulgan múltiples realizaciones, otras realizaciones adicionales de la presente invención se harán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada. La descripción detallada de los métodos de la presente invención se debe considerar de naturaleza ilustrativa.

Ejemplos

Por supuesto, los siguientes ejemplos se ofrecen solamente con propósitos ilustrativos.

En resumen, los ejemplos posteriores ilustran que 2MD, un análogo de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que se pensaba originalmente que era importante en la prevención y el tratamiento de la osteoporosis, también es importante para frenar el avance de la enfermedad renal y tratar sus síntomas. Un estudio efectuado en ratas en el que 5/6 de sus riñones se extirpaban quirúrgicamente, mostraba que el tratamiento diario con 2MD oral da como resultado niveles inferiores de fósforo, creatinina, volumen urinario y excreción de proteína, todos los indicadores de fallo renal, en comparación con animales de referencia tratados con vehículo. Por otra parte, este compuesto da como resultado un incremento

de la supervivencia global, un incremento de la densidad mineral ósea y niveles de PTH inferiores a niveles de dosis que no elevan el calcio en suero. Un segundo modelo en animales de nefropatía diabética tipo I confirma los resultados obtenidos en el modelo de las ratas urémicas. Los ratones a los que se les suministraba 2MD en la dieta muestran una mejora notable en la excreción de proteína urinaria total así como el volumen de diuresis general.

5 Ejemplo 1: Métodos y materiales.

Ratones. Todos los ratones usados en este estudio era ratones MRUMpJ-Fas^{lpr}/J hembra bien adquiridos directamente o bien adquiridos originalmente de The Jackson Laboratory y criados en las propias instalaciones. Todos los ratones involucrados en cada estudio se ajustaron por edad a la semana de nacimiento. Todo el manejo de los animales se realizó según el protocolo A1205 aprobado por the University of Wisconsin - Madison Institutional Animal Care and Use Committee. Desde el destete, los ratones hembra se alimentaron con una dieta que contenía 0,47% de calcio sin 2MD hasta el inicio del tratamiento. La dieta en polvo purificada se preparó en forma de agar y se administró 3 veces por semana. Se administró 2MD a través de una dieta basada en un consumo de dieta diario de 5 g por ratón. Se dio agua a voluntad. Se extrajo sangre a través del método de sangrado retroorbital bajo anestesia con isoflurano. Se aisló el suero de las muestras de sangre, se congeló y posteriormente se analizó con un analizador químico de sobremesa (Pentra 400, Horiba ABX). Se tomaron fotografías del órgano con una Canon EOS SD DSLR con lentes de 24-105 mm en formato RAW.

Modelo de rata con nefrectomía de 5/6. Inducción de enfermedad. Se obtuvieron ratas Sprague-Dawley macho destetadas de Harlan (Madison, WI). Después de un período de aclimatación de 10-13 días, a los animales se les extirparon dos tercios de un riñón. Después de una semana, se extirpó el otro riñón entero. A continuación se cambió a los animales desde una dieta de pienso hasta una dieta purificada para roedores (Suda et al., Purified Rodent Diet-Diet 11) que contenía 0,6% de Ca y 0,9% de fósforo y vitaminas liposolubles A, D, E y K. El agua y la dieta se suministraron a voluntad.

Gestión de los animales. Los animales fueron alojados en jaulas de plástico de tipo caja de zapatos suspendidas con lecho de mazorca de maíz (antes de la cirugía) o en jaulas de acero inoxidable con fondo de rejilla (aproximadamente una semana después de la cirugía). Las habitaciones de los animales se mantuvieron a una temperatura de 20 a 22°C (de 68 a 72°F) y una humedad relativa de 25 a 75%. Las habitaciones de alojamiento se prepararon para proporcionar 12 horas de luz al día.

Grupos de tratamiento. Aproximadamente cuatro semanas después de la cirugía secundaria, los animales fueron asignados a grupos de tratamiento (14-15 animales/grupo) de modo que cada grupo tuviera el mismo nivel medio de PTH.

Preparación de la dosis (Formulación de vehículo). Se preparó material de referencia negativa midiendo volumétricamente etanol (5%) y aceite Neobee, mezclando y a continuación almacenando a de 2 a 8°C.

Preparación de la dosis (Formulación de 2MD). Se prepararon formulaciones de 2MD (DP001, Sigma Aldrich Fine Chemicals, Madison, WI) determinando en primer lugar la concentración de una solución de reserva de etanol usando espectrometría UV (coeficiente de extinción = 42.000; $\lambda_{\text{máx}}$ = 252 nm). A continuación, las soluciones se añadieron volumétricamente a aceite Neobee de modo que no hubiera más de 5% de etanol en la solución final. Si fuera necesario, se añadiría etanol adicional para llevar la cantidad de etanol final hasta 5%. La solución se mezcló y se almacenó a de 2 a 8°C.

Método de administración de la dosis. Tanto el vehículo como el 2MD se administraron oralmente al dorso de la lengua en 0,5 ml/kg de peso corporal una vez al día durante 8 semanas.

Niveles de hormona paratiroidea (PTH, por sus siglas en inglés) en suero. Por "niveles de PTH en suero" se entiende la cantidad de PTH liberada por la glándula paratiroidea. La PTH es el regulador más importante de los niveles de calcio y fósforo del cuerpo, y está controlada por el nivel de calcio en la sangre. Los bajos niveles de calcio en sangre provocan un incremento en la liberación de PTH, mientras que los altos niveles de calcio en sangre inhiben la liberación de PTH. Los valores normales son 10-55 picogramos por mililitro (pg/ml). Cuatro semanas después de la cirugía y 4 y 8 semanas después del inicio del tratamiento, se extrajo sangre de la arteria de la cola y se midió la concentración de PTH bioactiva en suero usando el BioActive Intact PTH ELISA Kit de Immutopics, Inc. (San Clemente, CA).

Análisis de calcio en suero. Cuatro semanas después de la cirugía y 4 y 8 semanas después de que empezara el tratamiento, se extrajo sangre de la arteria de la cola de cada animal experimental. Se dejó que la sangre se coagulara a temperatura ambiente y a continuación se centrifugó a 3.000 x g durante 15 minutos. El suero se transfirió a un tubo de polipropileno y se almacenó congelado a -20°C. El nivel de calcio se determinó diluyendo el suero en cloruro de lantano al 0,1% y midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer Modelo 3110, Shelton, CT).

Ensayo de fósforo. Cuatro semanas después de la cirugía y 8 semanas después de que empezara el tratamiento, se extrajo sangre de la arteria de la cola de cada animal experimental. Se dejó que la sangre se coagulara a temperatura ambiente y a continuación se centrifugó a 3.000 x g durante 15 minutos. El suero se transfirió a un tubo

de polipropileno y se almacenó congelado a -20°C . El nivel de fósforo se determinó usando un analizador clínico (Pentra 400, Horiba ABX Diagnostics - Francia; método UV usando fosfomolibdato).

Ensayo de creatinina. Medir los niveles de creatinina en suero es un método útil y económico para evaluar la disfunción renal. La creatinina es un producto residual no proteínico del metabolismo del fosfato de creatinina por tejido de músculo esquelético. La producción de creatinina es continua y es proporcional a la masa muscular. La creatinina se filtra libremente y por lo tanto el nivel de creatinina en suero depende de la velocidad de filtración glomerular (GFR). La disfunción renal disminuye la capacidad para filtrar creatinina y la creatinina en suero aumenta. Si el nivel de creatinina en suero se dobla, se considera que la GFR se ha reducido a la mitad. Se considera que un incremento de tres veces refleja una pérdida de 75% de la función renal.

En los siguientes ejemplos, se evaluaron los niveles de creatinina en suero cuatro semanas después de la cirugía y 8 semanas después de que empezara el tratamiento. Se extrajo sangre de la arteria de la cola de cada animal experimental. Se dejó que la sangre se coagulara a temperatura ambiente y a continuación se centrifugó a $3.000 \times g$ durante 15 minutos. El suero se transfirió a un tubo de polipropileno y se almacenó congelado a -20°C . El nivel de creatinina se determinó usando un analizador clínico (Pentra 400, Horiba ABX Diagnostics - Francia; reacción de Jaffe) y es indicativo de una función renal deteriorada y nefritis crónica. En una realización de la invención, se espera una disminución en los niveles de creatinina en suero de aproximadamente 30% después del tratamiento según el método de la presente invención.

Medidas de la proteinuria. Se realizaron medidas de la proteinuria ejerciendo una suave presión sobre la vejiga urinaria para el análisis de una gota de orina sobre una superficie limpia con una varilla de aforar semicuantitativa (Combistix, Bayer). Se determinó que los ratones tenían proteinuria cuando el resultado de proteína urinaria era 100 mg/dl o más. La orina se recogió poniendo a los animales en jaulas metabólicas y realizando dos recogidas de 24 h. La proteína total se midió usando un ensayo de Bradford (MM Bradford, Analytical Biochemistry 72: 248-254, 1976).

Histología. La mitad de un riñón se conservó en fijador de cinc-formalina, embebido en parafina, y se seccionó en porciones de $4 \mu\text{m}$ de grosor. Se usaron hematoxilina y eosina (H&E) y tricromo de Masson-Goldner para estudiar las diferencias histológicas entre las muestras de riñón. Se realizó tinción de Von Kossa sobre secciones de corazón entero (procesadas como se describe anteriormente) para determinar la calcificación del corazón. El seccionamiento y la tinción fueron realizados por the University of Wisconsin - Madison McArdle Histology Laboratory. Las micrografías de las figuras se tomaron mediante un microscopio Olympus BH-2 y una cámara digital Nikon Coolpix 990.

Ejemplo 2: Modelo en ratones NOD de nefropatía diabética tipo I

Inducción de la enfermedad. Se obtuvieron ratones NOD (parejas reproductoras) de JAX laboratories (Bar Harbor, ME). Ratones destetados se alimentaron con una dieta de pienso (5K52 Lab Diets) o dieta purificada (Suda et al., Purified Rodent Diet-Diet 11) y se dejó que la diabetes se desarrollara espontáneamente (dos medidas consecutivas de glucosa en plasma $>250 \text{ mg}$). El agua y la dieta se suministraron a voluntad.

Gestión de los animales. Los animales se alojaron en jaulas de plástico de tipo caja de zapatos tratadas en autoclave con lecho de mazorca de maíz en grupos de 2-4 animales/jaula. Una vez que los ratones se confirmaban diabéticos, las jaulas se cambiaban diariamente. Las habitaciones de los animales se mantuvieron a una temperatura de 20 a 22°C (68 a 72°F) y una humedad relativa de 25 a 75% . Las habitaciones de alojamiento se prepararon para proporcionar 12 horas de luz al día.

Grupos de tratamiento. Se probó la glucosa urinaria elevada ($>2.000 \text{ mg}$; varilla de aforar) en los ratones dos veces a la semana. Si la prueba de orina era positiva, se probó la glucosa en sangre en ayunas al día siguiente (espectrofotómetro o glucómetro). Si era positiva, se realizó una segunda prueba de glucosa en sangre para confirmación. Una vez que se determinaba que los animales eran diabéticos, los animales fueron asignados a grupos de tratamiento (6-12/grupo) de modo que cada grupo tuviera el mismo nivel medio de glucosa en plasma al inicio. Los tratamientos se proporcionaron oralmente en la dieta.

Preparación de la dieta. La dieta de referencia negativa se preparó midiendo volumétricamente etanol ($0,1\%$ de la dieta) y aceite de soja (2% de la dieta), mezclando en vórtice y a continuación añadiendo a una mitad de la dieta, mezclando durante 20 minutos antes de añadir el resto de la dieta. La dieta que contenía 2MD se preparó en primer lugar determinando la concentración de una solución de reserva de etanol usando espectrofotometría UV (coeficiente de extinción = 42.000 ; $\lambda_{\text{máx}} = 252 \text{ nm}$). A continuación, la solución se añadió volumétricamente a aceite de soja de modo que no hubiera más de $0,1\%$ de etanol en la solución final. Si fuera necesario, se añadía etanol adicional para llevar la cantidad final de etanol hasta $0,1\%$. La solución de etanol y aceite se mezcló en vórtice, se añadió a una mitad de la dieta, se mezcló durante 20 minutos y a continuación la dieta restante se añadió y se mezcló durante otros 20 minutos (Figura 5).

Ejemplo 3: El desarrollo de la proteinuria se previene mediante 2MD.

En este ejemplo, los inventores muestran el efecto de 2MD para prevenir el desarrollo de proteinuria en ratones NOD.

Se seleccionaron dosis de 2MD que pudieran provocar: 1) hipercalcemia significativa (de ~11 a 12 mg/dl o Δ ~1,5 a 2,5 mg/dl sobre el grupo de referencia); 2) niveles de calcio en suero ligeramente (de ~10 a 11 mg/dl o Δ ~0,7 a 1,5 mg/dl, sobre el grupo de referencia) incrementados; o 3) un incremento insignificante en los niveles de calcio en suero (~10 mg/dl o Δ 0,5 mg/dl sobre el grupo de referencia; Figura 6A). La 2MD era eficaz para prevenir la proteinuria de un modo dependiente de la dosis, con la dosis de 5 ng de 2MD/ratón/día previniendo completamente la proteinuria (comparable a una dosis de 300 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; Figura 6B). Además de prevenir la proteinuria, el tratamiento con 1 ng de 2MD retrasaba el tiempo medio de comienzo de la proteinuria (Figura 6C). El crecimiento de los ratones estaba afectado adversamente por el tratamiento con 5 ng de 2MD mientras que se observaba un ligero impacto sobre el crecimiento con el tratamiento con 0,5 y 1 ng de 2MD (Figura 6D). El grupo de tratamiento con 5 ng de 2MD tenía síntomas de hipercalcemia incluyendo pelaje descuidado y nerviosismo, pero no se observaba letargo o morbilidad en ninguno de los grupos de dosis de 2MD.

En el tratamiento de ratones MLR/lpr con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o 2MD en el que se observaba una prevención completa de la proteinuria, hay una diferencia significativa en el nivel de hipercalcemia. 300 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ elevaban los niveles de calcio en suero hasta ~13 mg/dl mantenidos, mientras que 5 ng de 2MD sólo incrementan el calcio en suero hasta 12,4 mg/dl, en el punto más alto medido, y 10,9 mg/dl al término del estudio (Figura 6A). Esta evidencia sugiere que la prevención de la proteinuria (y la mejora de la LN) está muy mediada por hormonas (o análogos). Esta hipótesis se refuerza cuando se comparan los efectos calcémicos de 150 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que elevan los niveles de calcio en suero hasta ~12 mg/dl, con 1 ng de 2MD, cuyos niveles de calcio en suero están dentro del intervalo fisiológicamente normal a lo largo del estudio. Ambos muestran una eficacia comparable para reducir la incidencia de proteinuria (12-25% de incidencia), pero la hipercalcemia y sus efectos asociados, incluyendo pérdida de peso, son significativamente menores en el grupo de 1 ng de 2MD.

Ejemplo 4: El daño glomerular es prevenido por la 2MD.

En este ejemplo, los inventores muestran que el daño glomerular se previene administrando cantidades terapéuticamente eficaces de 2MD.

Los riñones de los grupos de referencia y de 5 ng de 2MD se recogieron y se tiñeron para el análisis biológico. La característica más notable era el daño glomerular observado en los testigos (Figura 7A y B) que se prevenía con el tratamiento con 2MD (Figura 7E y F). Los riñones de referencia exhibían esclerosis glomerular, fibrosis, engrosamiento de la membrana basal y proliferación mesangial (Figura 7B). Los riñones tratados con 2MD tenían de muy poca a ninguna evidencia de estas características (Figura 7E). También había una disminución notable en la infiltración tubulointersticial y una ligera disminución en la infiltración perivascular con el tratamiento. La fibrosis intersticial estaba presente en los riñones tanto de referencia como tratados con 2MD (Figura 7C y F), pero el grado de tinción fibrótica era significativamente menor en el grupo de tratamiento. Posiblemente, el hallazgo más alentador fuera la falta de evidencia de calcificación en riñones y corazones de ratones tratados con 2MD.

Había un cambio claro en la histología renal entre los grupos de referencia y de tratamiento con 5 ng de 2MD. El daño glomerular es un factor principal en la LN, ya que varios episodios inflamatorios posteriores pueden estar instigados por el daño glomerular. La excreción de quimocina mesangial y la estimulación de la sobrecarga de proteína de los túbulos proximales pueden exacerbar el daño renal provocado por la deposición de complejo inmunitario glomerular y la consiguiente inflamación. Previniendo la destrucción de los glomérulos, un factor clave en la patogénesis de la LN, se conserva la función renal normal y se previene la proteinuria. La infiltración intersticial de leucocitos era sustancialmente menor con el tratamiento con 2MD, y la infiltración perivascular también se disminuía notablemente. Esto podría ser a partir de la señalización reducida de quimocina que se podría rastrear hasta la prevención del daño glomerular. La infiltración celular reducida es diferente de la que se observaba previamente. Esto se puede atribuir a la cepa particular de ratones usada en este experimento, la cepa MRUMpJ-Fas^{lpr}/J, que se recuperaba de la crioconservación debido a que la cepa MRLMpJ-Fas^{lpr}/2J iba perdiendo progresivamente su capacidad para generar una enfermedad rápida y agresiva.

El hallazgo histológico más significativo por lo que se refiere al desarrollo de una terapia para la LN era la ausencia de artefactos de calcificación en riñones y corazones de ratones tratados con 2MD. 300 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eran igualmente eficaces para prevenir la proteinuria que 5 ng de 2MD, pero los riñones del grupo tratado con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mostraban cristales de calcio dentro de las estructuras renales (datos no mostrados). La potencia incrementada de la 2MD combinada con la disminución del efecto secundario de hipercalcemia y el daño asociado convierte a la 2MD en un candidato prometedor para el desarrollo de un tratamiento para la LN.

Ejemplo 5: La esplenomegalia se disminuye con el tratamiento con 2MD.

En este ejemplo, los inventores muestran que la esplenomegalia se disminuye con el tratamiento según los métodos de la presente invención.

5 ng de 2MD reducían significativamente la esplenomegalia en comparación con el grupo de referencia de 0 ng. Incluso con la disminución del peso corporal en comparación con sus homólogos de referencia, los ratones tratados con 5 ng de 2MD tenían bazo más pequeños, tanto visualmente (Figura 8A) como cuando se medía la masa (Figura 8B) incluso cuando se normalizaban con respecto al peso corporal (Figura (C)). A diferencia del efecto

dependiente de la dosis de 2MD observado con la incidencia de proteinuria, la reducción en la esplenomegalia solo se observaba en el grupo de tratamiento con 5 ng de 2MD, que se asocia con hipercalcemia significativa. La histología revelaba que la esplenomegalia en ratones MRL/lpr provoca una desorganización de la estructura de la pulpa blanca (Figura 8E), mientras que el tratamiento con 5 ng de 2MD ayuda a retener la estructura similar a una vaina normalmente observada en bazo no enfermos.

5

En ambos estudios de 300 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y 2MD, solo los grupos de dosis más alta que tenían la hipercalcemia más grave tenían una reducción estadísticamente significativa en la masa del bazo normalizada con respecto al peso corporal. Además, el grupo de 300 ng de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que producía niveles de calcio en suero superiores que el grupo de 5 ng de 2MD, también producía una mayor reducción en la masa del bazo, y una mejor retención de la histología normal del bazo que la observada con el tratamiento con 5 ng de 2MD (Figura 8E). La dosis de 150 ng al día de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reducía la masa del bazo en comparación con la alcanzada con el tratamiento con 5 ng de 2MD. Estos resultados sugieren que los niveles de calcio en suero elevados pueden representar un papel importante en la reducción de la esplenomegalia en ratones MRL/lpr.

10

REIVINDICACIONES

1. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que es 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ o sus sales farmacéuticamente aceptables para el uso en la prevención de la enfermedad renal en un sujeto con riesgo de desarrollar enfermedad renal sin inducir hipercalcemia en el sujeto.
- 5 2. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, en el que the enfermedad renal es nefritis lúpica.
3. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, en el que la 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ se formula en una forma de dosificación oral, tópica, transdérmica, parenteral, para inyección o para infusión.
4. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, en el que la cantidad terapéuticamente eficaz varía de 0,001 µg/día a 5 µg/día por kg de peso corporal.
- 10 5. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que es 2-metilen-19-nor-20(S)-1,25-dihidroxitamina D₃ o sus sales farmacéuticamente aceptables para el uso en la prevención de síntomas de enfermedad renal en un sujeto con riesgo de desarrollar síntomas de enfermedad renal sin inducir hipercalcemia en el sujeto.
6. El compuesto para el uso según la reivindicación 5, en el que la enfermedad renal es nefritis lúpica.
- 15 7. El compuesto para el uso según la reivindicación 5, en el que los síntomas de la enfermedad renal se seleccionan del grupo que consiste en proteinuria, daño glomerular y esplenomegalia.
8. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que es 2-metilen-19-nor-(20S)-1α25-dihidroxitamina D₃ (2MD) o sus sales farmacéuticamente aceptables para el uso en el tratamiento de síntomas de enfermedad renal en un sujeto que tiene síntomas de enfermedad renal sin inducir hipercalcemia en el sujeto.
9. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que la enfermedad renal es nefritis lúpica.
- 20 10. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que los síntomas de enfermedad renal se seleccionan del grupo que consiste en proteinuria y esplenomegalia.
11. El compuesto para el uso según la reivindicación 8, en el que la cantidad terapéuticamente eficaz de 2MD varía de 0,001 µg/día a 5 µg/día por kg de peso corporal.
- 25 12. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en el que la cantidad terapéuticamente eficaz de 2MD varía de 0,01 µg/día a 1 µg/día por kg de peso corporal.
13. El compuesto para el uso según la reivindicación 11, en el que la cantidad terapéuticamente eficaz de 2MD varía de aproximadamente 0,025 µg/día a aproximadamente 0,3 µg/día por kg de peso corporal.

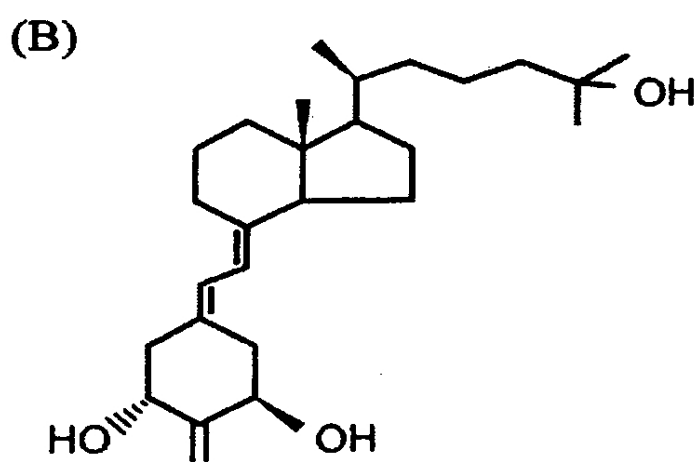
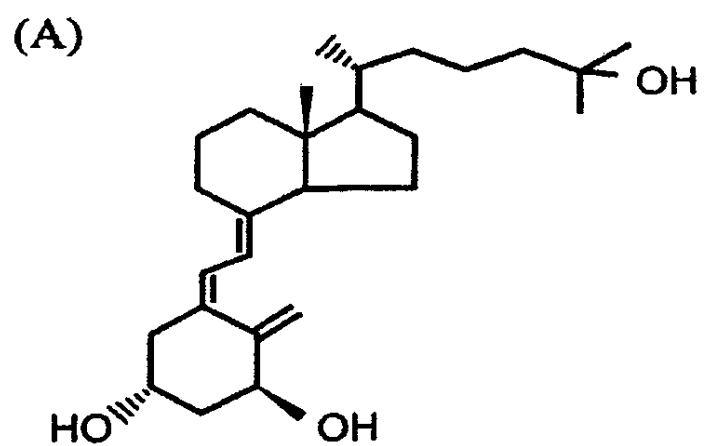


Figura 1

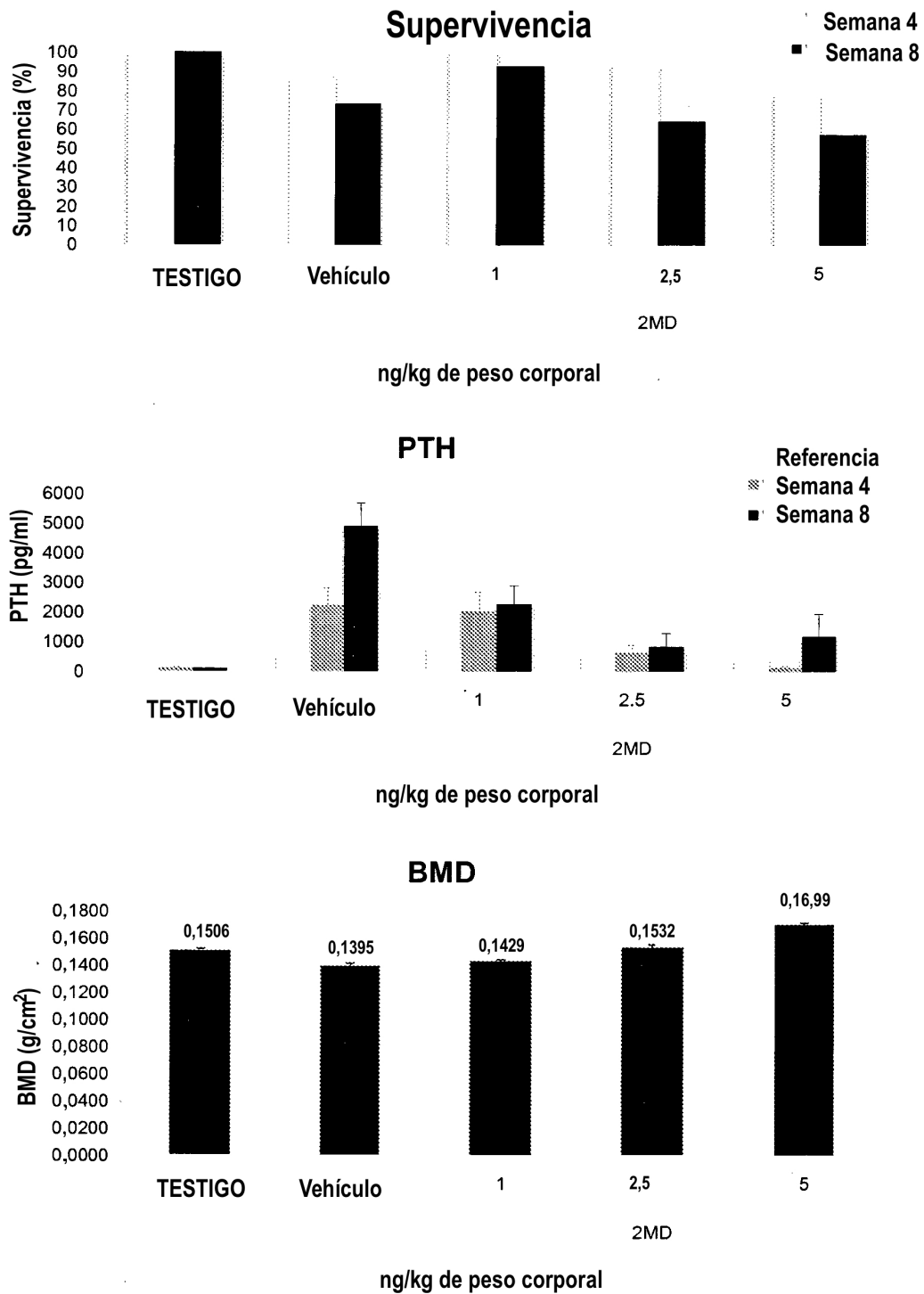


Figura 2

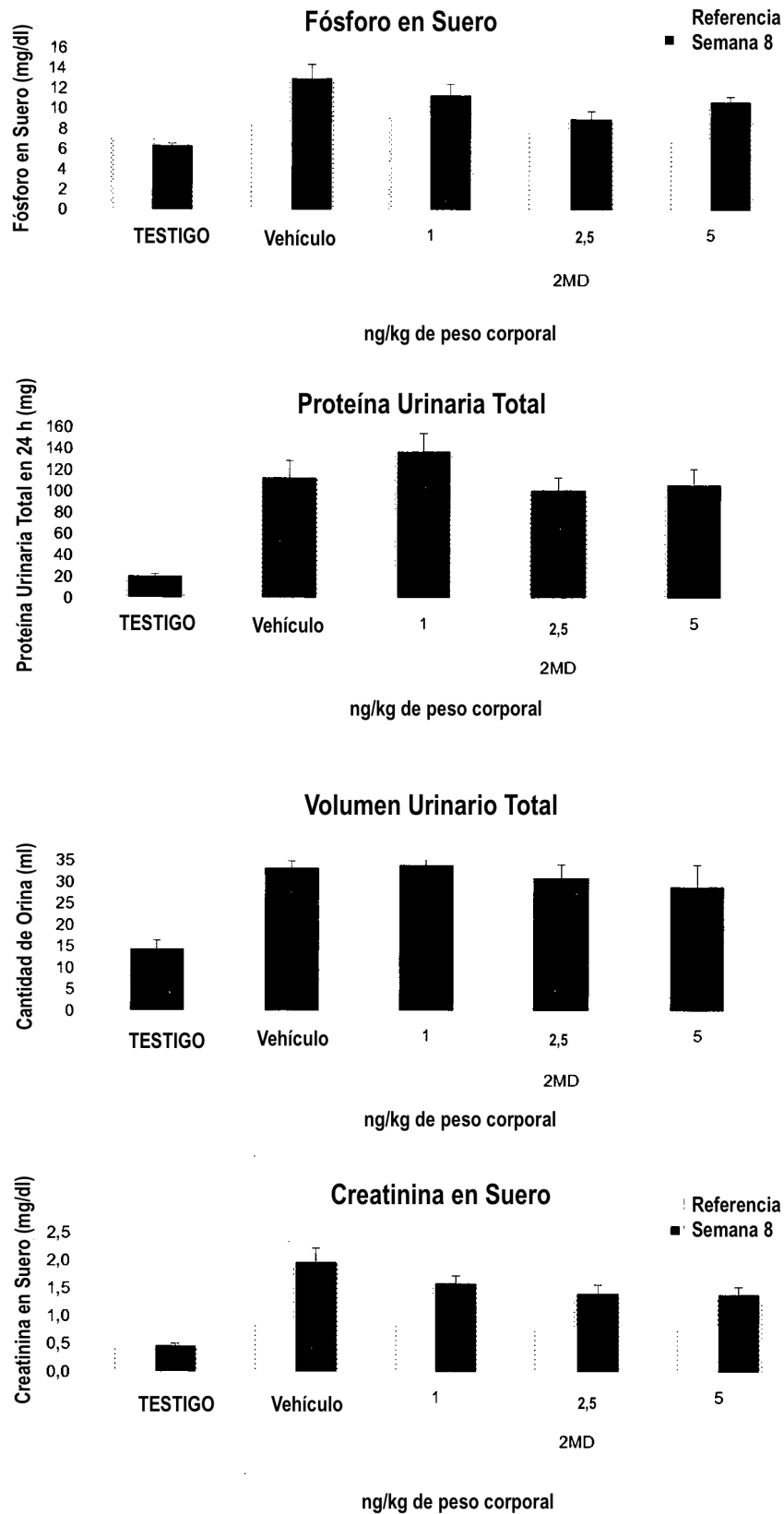


Figura 3

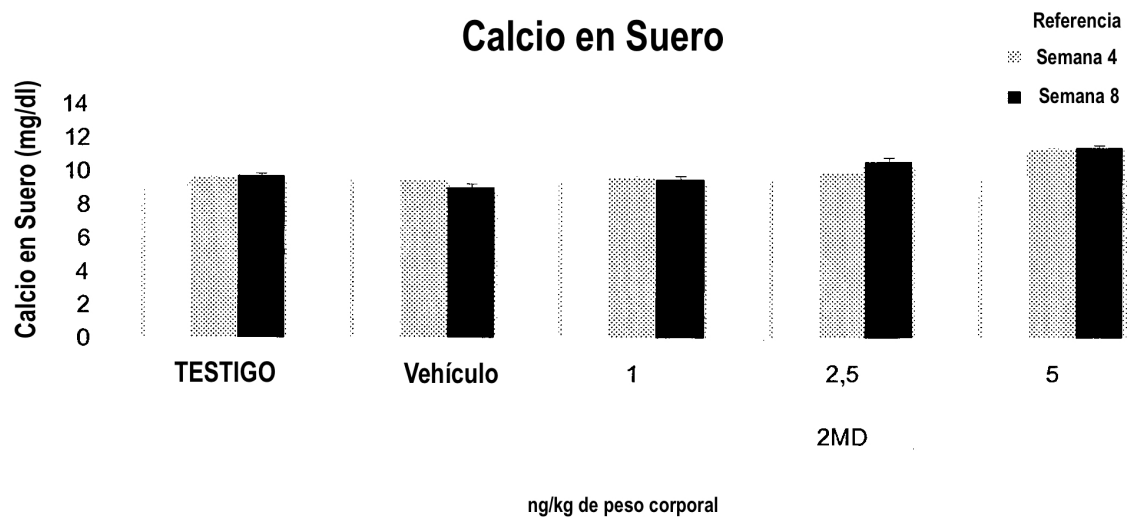


Figura 4

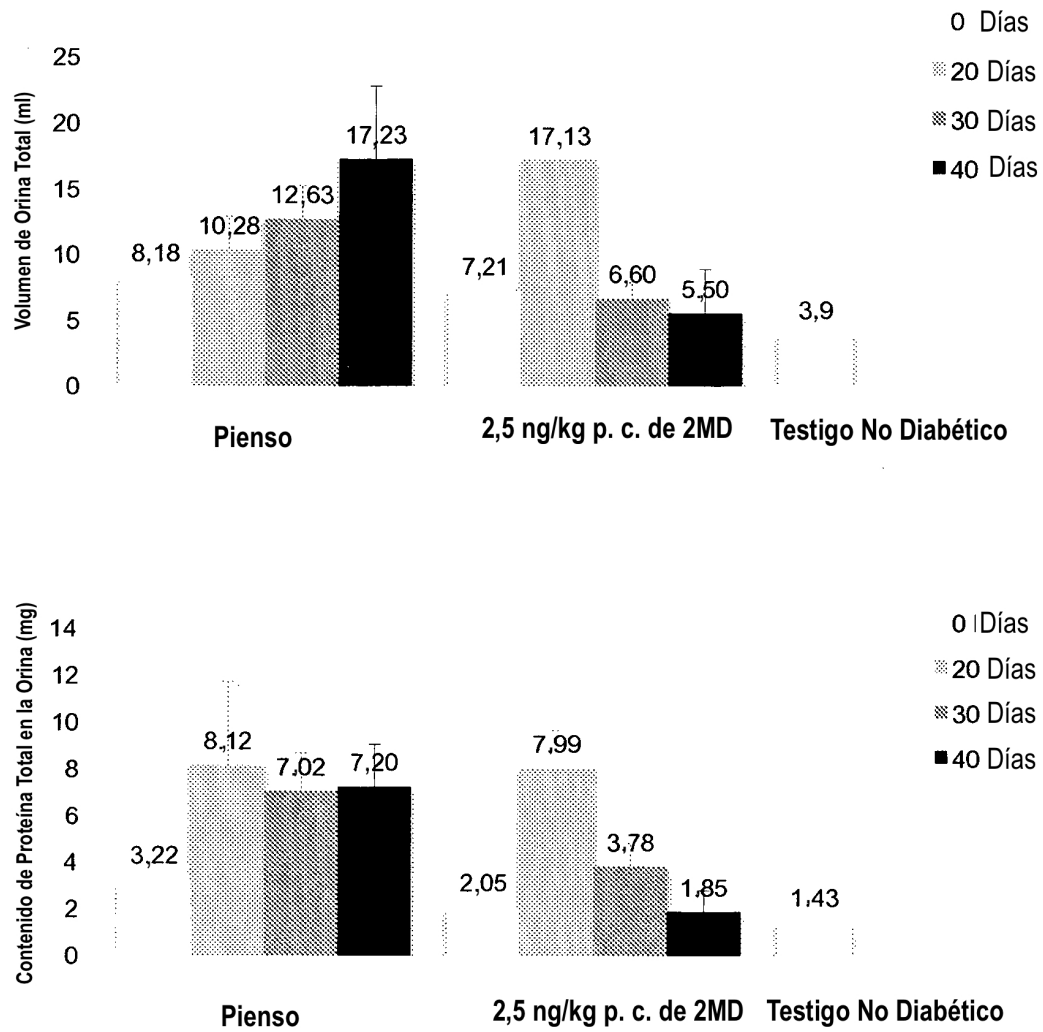


Figura 5

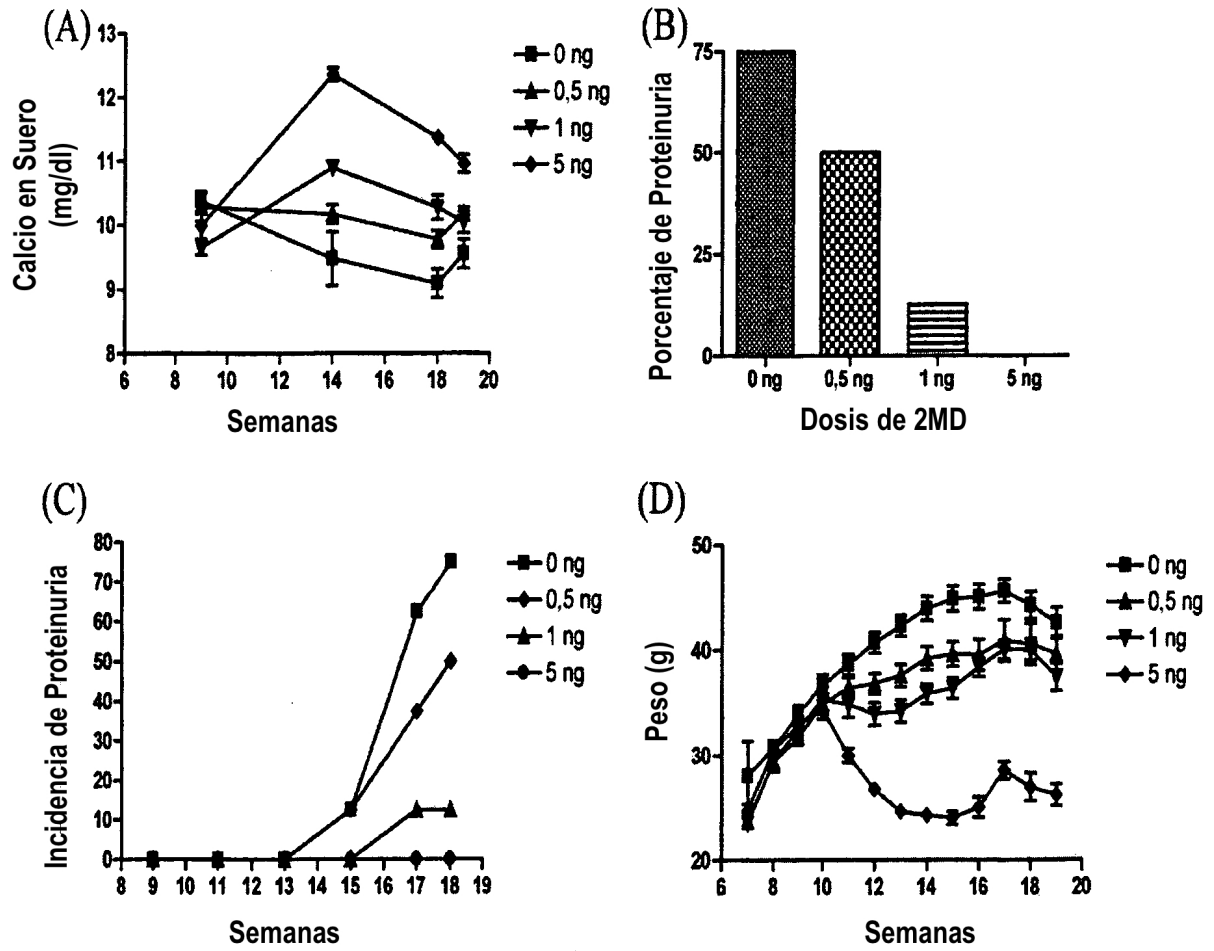


Figura 6

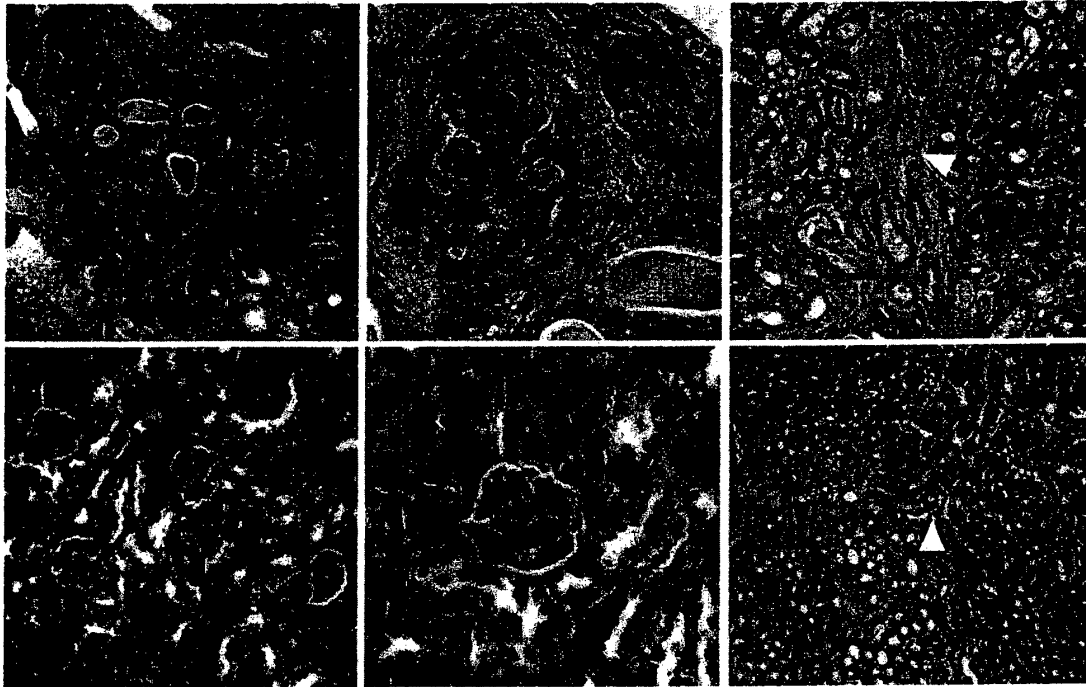


Figura 7

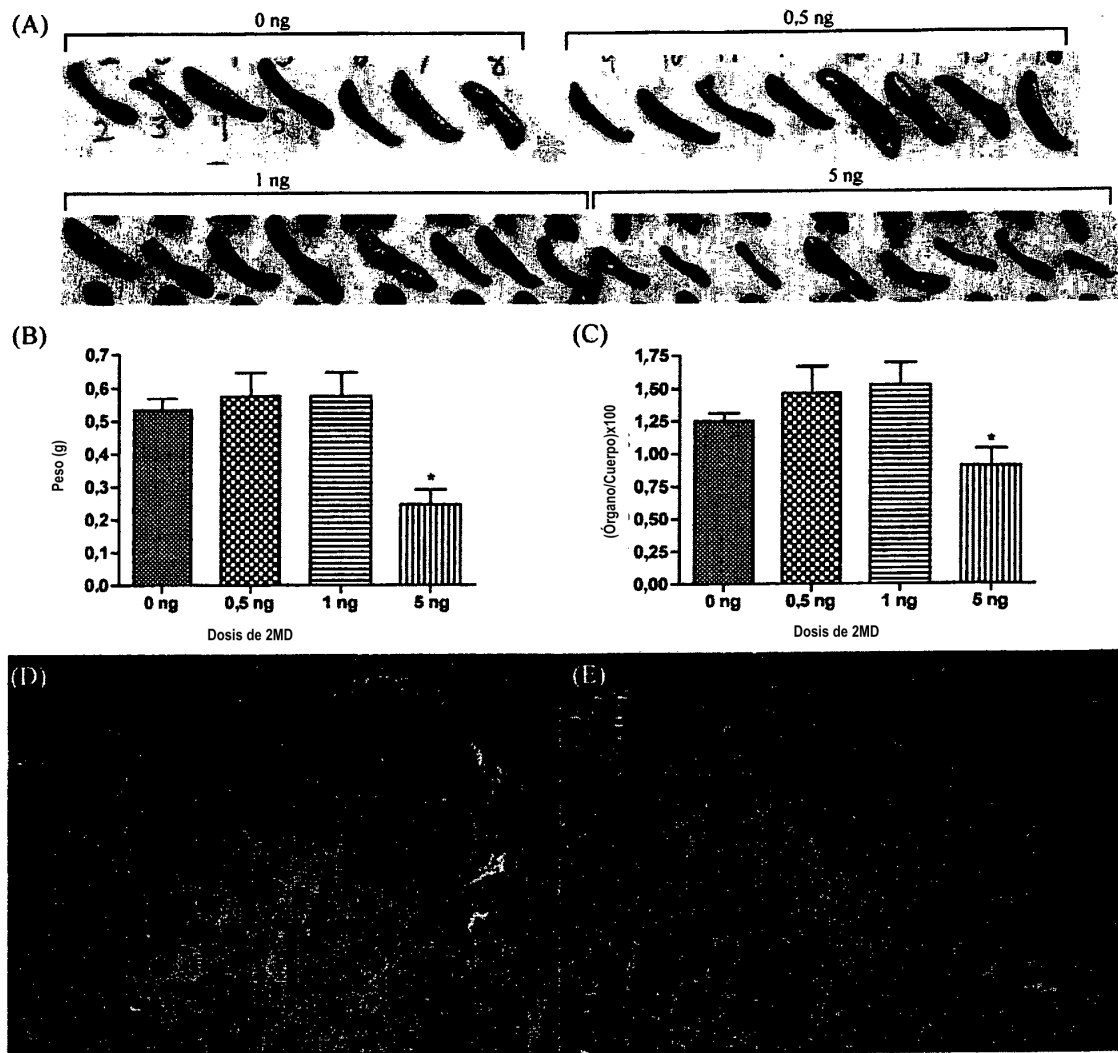


Figura 8