

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 241**

51 Int. Cl.:

A61K 31/593 (2006.01)

A61K 31/59 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.02.2009 PCT/EP2009/051640**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2009 WO09101136**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.02.2009 E 09710362 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 2240182**

54 Título: **Tratamiento de la hiperglucemia con 25-hidroxivitamina D3 y vitamina D**

30 Prioridad:

13.02.2008 US 28510 P

26.02.2008 US 31671 P

14.03.2008 US 36927 P

15.03.2008 US 36928 P

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

31.10.2016

73 Titular/es:

DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)

Het Overloon 1

6411 TE Heerlen, NL

72 Inventor/es:

BUCK, NEIL, ROBERT;

LEUENBERGER, BRUNO, H.;

STOECKLIN, ELISABETH;

URBAN, KAI;

WOLFRAM, SWEN y

CLAERHOUT, WOUTER

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 588 241 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

Tratamiento de la hiperglucemia con 25-hidroxitamina D3 y vitamina D

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a tratamiento de la hiperglucemia en un ser humano con 25-hidroxitamina D3 (calcifediol). La glucosa en sangre se reduce hasta un nivel que está más cerca del normal que el valor inicial. Se usa vitamina D3 junto con 25-hidroxitamina D3.

Antecedentes de la invención

10 La vitamina D (p. ej., ergocalciferol y colecalciferol) es un grupo de compuestos liposolubles definidos por su actividad biológica. Una deficiencia de vitamina D provoca raquitismo en niños y osteomalacia en adultos. Pero se puede producir toxicidad después de la toma crónica de más de 100 veces la tolerancia diaria recomendada (es decir, 5-15 µg o 200-600 UI de vitamina D) durante varios meses. Para la vitamina D, "El umbral para la toxicidad es de 500 a 600 mcg/kg de peso corporal al día. En general, los adultos no deben consumir más de tres veces la RDA durante un período de tiempo prolongado" (Garrison & Somer, The Nutrition Desk Reference, Tercera Ed., McGraw-Hill, pg. 82, 1997). Se puede producir hipercalcemia con una concentración en sangre de 25-hidroxitamina D mayor de 375 nmol/l. Más recientemente, se identificó que un nivel superior seguro de vitamina D era al menos 250 µg/día (10.000 UI) (Hathcock y cols. Am. J Clin. Nutr. 85:6-18, 2007). Se ha observado que la ingestión de tal complemento dietético da como resultado una concentración en sangre de aproximadamente 200 nmol/l de 25-hidroxitamina D.

20 La vitamina D es una prohormona que se tiene que hidroxilar en el hígado para producir 25-hidroxitamina D (calcifediol; 25-OH vitamina D; 25-OH D), que a continuación sufre hidroxilación en el riñón y otros tejidos para producir 1,25-dihidroxitamina D, la forma de hormona activa de la vitamina D. La 1,25-dihidroxitamina D se libera en la sangre, se une a proteína que se une a vitamina D (DBP) y se transporta a tejidos diana. La unión entre 1,25-dihidroxitamina D y receptor de vitamina D permite que el complejo actúe como un factor de transcripción en el núcleo de la célula.

25 La deficiencia en vitamina D puede promover la resorción de hueso. También puede modular la función de los sistemas cardiovascular, inmunitario y muscular. Estudios epidemiológicos encuentran asociaciones entre la toma de vitamina D y su efecto sobre la presión sanguínea o el metabolismo de la glucosa. La actividad de la vitamina D esta bajo el control de autorregulación negativa por hormona paratiroidea.

30 Tanto la vitamina D como 25-OH D3 se han administrado como productos farmacéuticos en el pasado. La vitamina D, por supuesto, está ampliamente disponible; 25-OH D3 fue comercializada previamente en los EE. UU. de A. por Organon USA bajo el nombre "CALDEROL", pero actualmente está en la lista de la FDA de fármacos retirados. Era una cápsula de gelatina que contenía aceite de maíz y 25-OH D3.

35 Una forma líquida de 25-OH D3 es comercializada actualmente en España por FAES Farma bajo el nombre "HIDROFEROL" en una solución oleosa.

40 La combinación de vitamina D y 25-OH D3 se ha usado en piensos. 25-OH D3 para el uso en piensos está disponible comercialmente de DSM bajo el nombre "ROVIMIX HY-D".

45 Tritsch y cols. (documento US 2003/0170324) divulgan una composición de premezcla para piensos de al menos 25-OH D3 en una cantidad entre 5% y 50% (p/p) disuelta en aceite y un antioxidante, un agente que encapsula gotículas de 25-OH D3 y aceite, y un aditivo nutricional (p. ej., vitamina D3). La premezcla se puede añadir a alimento para aves de corral, cerdos, cánidos o félidos. Esta composición estabiliza la 25-OH D3 frente a la oxidación.

50 Simoes-Nunes y cols. (documento US 2005/0064018) divulga añadir una combinación de 25-OH vitamina D3 y vitamina D3 a piensos. En particular, se añaden de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de 25-OH vitamina D3 y de aproximadamente 200 UI/kg a aproximadamente 4.000 UI/kg de vitamina D3 a pienso para cerdos. Esta adición mejora la resistencia ósea de los cerdos.

55 Stark y cols. (documento US 5.695.794) divulgan añadir una combinación de 25-OH vitamina D3 y vitamina D3 a pienso para aves de corral para mejorar los efectos de la discondroplasia tibial.

Borenstein y cols. documento US 5.043.170 divulga la combinación de vitamina D3 y bien 1-α-hidroxicolecalciferol o bien 1α, 25-dihidroxicolecalciferol para mejorar la resistencia de los huevos y la resistencia de las patas en gallinas ponedoras y gallinas mayores.

5 Chung y cols., documento WO 2007/059960, divulga que cerdas alimentadas con una dieta que contiene tanto vitamina D3 como 25-hidroxivitamina D3 mejoraban el estado de salud general, la estructura corporal, el tamaño y la salud de la camada, y otros parámetros de producción. Además, se divulga un complemento alimentario para seres humanos de 25-OH D3, pero su intervalo de dosificación, 5-15 microgramos por kg de peso corporal, que es igual a una dosificación diaria extremadamente alta de 300-900 microgramos por ser humano, es muy alto.

Tai y cols 2008 *Nutrition* 24(3):2790285 analiza las asociaciones entre la deficiencia en Vit D y la glucosa en circulación y posiblemente la sensibilidad a insulina. Sin embargo, no hay una enseñanza o sugerencia de administrar Vit D en combinación con 25-OHD3.

10 A juicio de los presentes inventores, la técnica anterior no enseña o sugiere el uso de 25-hidroxivitamina D3 como un medicamento para seres humanos para tratar la hiperglucemia. Las formas y dosificaciones de una composición proporcionan efectos deseables cuando un ser humano se trata con cantidades eficaces de vitamina D3 y 25-hidroxivitamina D3 para normalizar la glucosa en sangre. Otras ventajas y mejoras se describen posteriormente o serán evidentes a partir de la presente divulgación.

Breve descripción de la invención

15 La invención proporciona 25-hidroxivitamina D3 (25-OH D3) en combinación con vitamina D para el uso en el mantenimiento de niveles de glucosa en plasma sanguíneo saludables o para reducir los niveles de glucosa en sangre hasta niveles saludables en un ser humano.

20 Se ha encontrado que la 25-hidroxivitamina D3 (calcifediol) se puede usar como un medicamento para reducir la glucosa en sangre elevada o para mantener la glucosa en sangre en un nivel normal en un ser humano. El medicamento comprende además vitamina D3 (colecalfiferol). El ser humano puede tener cualquier edad, incluyendo niños y adolescentes, partiendo del nacimiento hasta la edad adulta, y desde 18 años hasta 80 años de edad. También se divulgan formas y dosificaciones de una composición farmacéutica, así como procedimientos para fabricar medicamentos.

25 En un primer aspecto, se proporciona un método para administrar al menos 25-hidroxivitamina D3 a un ser humano. Esto permite que la glucosa en sangre se pueda reducir hasta o mantener en un nivel que sea más cercano a un nivel normal (p. ej., menor de 7 mmol de glucosa por litro de plasma para un adulto en ayunas). La vitamina D3 se administra junto con o separadamente de 25-hidroxivitamina D3. Se pueden administrar una vez al día, una vez por semana o una vez al mes.

30 En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica adecuada para el uso en seres humanos que comprende vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 y un vehículo farmacéuticamente aceptable en cantidades para reducir los niveles de glucosa en sangre en un ser humano.

35 Aspectos adicionales serán evidentes a partir de la siguiente descripción y las reivindicaciones, y generalizaciones de las mismas.

Descripción detallada de la invención

40 Según se usa a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se aplican las siguientes definiciones:

45 "Vitamina D" significa vitamina D3 (colecalfiferol) y/o vitamina D2 (ergocalciferol). Los seres humanos son incapaces de elaborar vitamina D2 (ergocalciferol), pero son capaces de usarla como una fuente de vitamina D. La vitamina D2 puede ser sintetizada por diversas plantas y a menudo se usa en vitamina D en complementos como un equivalente de la vitamina D.

"Metabolito de vitamina D" significa cualquier metabolito de vitamina D distinto de la 25-hidroxivitamina D3.

"25-OH D3" se refiere específicamente a 25-hidroxivitamina D3

"25-OH D" se refiere al metabolito hidroxilado en 25 bien de vitamina D2 o bien de vitamina D3 que es la principal forma en circulación encontrada en el plasma.

50 Se entiende que "prevenir" incluye la mejora de la enfermedad, la reducción de la gravedad de los síntomas, previos a la intervención y la prolongación del momento del comienzo de la enfermedad, y no se pretende limitar a una situación en la que el paciente ya no pueda contraer la enfermedad ni experimentar ningún síntoma.

La vitamina D3 y la 25-hidroxivitamina D3 se pueden obtener de cualquier fuente, y una composición de las mismas se puede preparar usando una tecnología conveniente. En general, cristales de vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 o ambos (separadamente o juntos) se disuelven en un aceite con calentamiento y agitación. Preferiblemente, el aceite se transfiere a un recipiente y se calienta. Posteriormente, la vitamina D3, la 25-hidroxivitamina D3 o ambas se añaden al recipiente, mientras se mantiene la temperatura del aceite o se incrementa a lo largo del tiempo. La composición se agita para disolver los cristales de vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 o ambas. Antes de la adición al aceite, se puede reducir el tamaño de los cristales al moler y/o tamizar, para mejorar la disolución. La composición se puede agitar mediante remoción, rotación del recipiente, mezcladura, homogeneización, recirculación o ultrasonidos. Preferiblemente, el aceite se puede calentar en el recipiente hasta una temperatura de aproximadamente 80°C a aproximadamente 85°C, los cristales dimensionados se introducen en el recipiente y el contenido se remueve para disolver los cristales en el aceite.

El "aceite" puede ser cualquier aceite, lípido o grasa comestible: p. ej., aceite de babasu, aceite de coco, aceite de cohune, manteca de murumuru, aceite de almendra de palma o aceite de tucum. El aceite puede ser natural, sintético, semisintético o cualquier combinación de los mismos. El aceite natural se puede derivar de cualquier fuente (p. ej., animal, vegetal, fúngica, marina); el aceite sintético o semisintético se puede producir mediante una tecnología conveniente. Preferiblemente, el aceite es una mezcla de triglicéridos de cadena media vegetales, principalmente ácidos caprílico y cáprico. La composición puede contener opcionalmente uno o más de otros ingredientes adecuados tales como, por ejemplo, antioxidantes, conservantes, agentes de disolución, tensioactivos, agentes de ajuste del pH o tamponadores, humectantes, y cualquier combinación de los mismos. Los anteriores son ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables.

Antioxidantes adecuados incluyen tocoferol, tocoferoles mixtos, tocoferoles de fuentes naturales o sintéticas, hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), antioxidantes naturales como extracto de romero, galato de propilo y otros cualesquiera usados en la fabricación de productos farmacéuticos para seres humanos. Preferiblemente, el antioxidante es tocoferol. Conservantes adecuados incluyen metilparabeno, propilparabeno, sorbato potásico, benzoato sódico, ácido benzoico y cualquier combinación de los mismos. Agentes de disolución adecuados incluyen disolventes inorgánicos u orgánicos: p. ej., alcoholes, hidrocarburos clorados y cualquier combinación de los mismos. Tensioactivos adecuados pueden ser aniónicos, catiónicos o no iónicos: p. ej., palmitato de ascorbilo, polisorbatos, polietilenglicoles y cualquier combinación de los mismos. Agentes de ajuste del pH o tampones adecuados incluyen ácido cítrico-citrato sódico, ácido fosfórico-fosfato sódico, ácido acético-acetato sódico y cualquier combinación de los mismos. Humectantes adecuados incluyen glicerol, sorbitol, polietilenglicol, propilenglicol y cualquier combinación de los mismos.

Una vez formada, la composición de aceite se puede incorporar en varias otras composiciones útiles, algunas de las cuales se analizan posteriormente. Por ejemplo, se pueden formar emulsiones, que opcionalmente se pueden encapsular o secar por pulverización. Se puede preparar una variedad de emulsiones al combinar las composiciones no acuosas descritas anteriormente con una composición acuosa. La emulsión puede ser de cualquier tipo. Emulsiones adecuadas incluyen emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, emulsiones anhidras, emulsiones sólidas y microemulsiones. Las emulsiones se pueden preparar mediante cualquier tecnología conveniente. La emulsión contiene una composición acuosa y una composición no acuosa (p. ej., oleosa), en donde la última comprende vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 o ambas (separadamente o conjuntamente) disueltas en un aceite en una cantidad de entre aproximadamente 3% y aproximadamente 50% en peso basado en el peso total de la composición oleosa. Según se usa en la presente, "composición acuosa" y "fase acuosa" se usan intercambiamente. Generalmente, la emulsión puede contener de aproximadamente 20% a aproximadamente 95% de una composición acuosa y de aproximadamente 5% a aproximadamente 80% de una composición no acuosa. Preferiblemente, sin embargo, la emulsión contiene de aproximadamente 85% a aproximadamente 95% (vol/vol) de una composición acuosa y de aproximadamente 5% a aproximadamente 15% (vol/vol) de una composición no acuosa. Convenientemente, la composición no acuosa se puede dispersar como gotículas en la composición acuosa. Por ejemplo, las gotículas pueden tener un diámetro medio de menos de aproximadamente 500 nm en la composición acuosa. Convenientemente, las gotículas tienen un diámetro medio de entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 200 nm.

En una realización particularmente ventajosa, la emulsión contiene un agente encapsulante, que facilita la encapsulación de la composición oleosa al procesar adicionalmente la emulsión (p. ej., mediante secado por pulverización). El agente encapsulante puede ser cualquier sustancia comestible capaz de encapsular la composición oleosa. Preferiblemente, el agente de encapsulación es predominantemente un material coloidal. Tales materiales incluyen almidones, proteínas procedentes de fuentes animales (incluyendo gelatinas), proteínas procedentes de fuentes vegetales, caseína, pectina, alginato, agar, maltodextrinas, ligninsulfonatos, derivados de celulosa, azúcares, sacáridos, sorbitoles, gomas y combinaciones de los mismos.

Almidones adecuados incluyen: almidones vegetales (p. ej., CAPSUL® o HI-CAP® de National Starch & Chemical Corp., Nueva York, NY), otros almidones alimentarios modificados, y cualquier combinación de los mismos. Preferiblemente, el almidón es almidón vegetal modificado CAPSUL®. Proteínas adecuadas procedentes de fuentes animales incluyen: gelatinas (p. ej., gelatinas bovinas, gelatinas porcinas (Tipo A o B) con diferentes números de Bloom, gelatinas de pescado), proteína de leche desnatada, caseinato, y cualquier combinación de los mismos.

Preferiblemente, la proteína animal es una gelatina. Proteínas adecuadas procedentes de fuentes vegetales incluyen: proteína de patata (p. ej., ALBUREX® de Roquette Preres Societe Anonyme, Lestrem, Francia), proteína de guisante, proteína de soja, y cualquier combinación de las mismas. Preferiblemente, la proteína vegetal es proteína de patata ALBUREX®. Maltodextrinas adecuadas con un equivalente de dextrosa diferente incluyen: maltodextrina 5, maltodextrina 10, maltodextrina 15, maltodextrina 20, maltodextrina 25 y cualquier combinación de las mismas. Preferiblemente, la maltodextrina es maltodextrina 15. Derivados de celulosa adecuados incluyen: etilcelulosa, metiletilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa y cualquier combinación de las mismas. Sacáridos adecuados incluyen lactosa, sacarosa o cualquier combinación de las mismas. Preferiblemente, el sacárido es sacarosa. Gomas adecuadas incluyen: goma arábica, algarroba, carragenina y cualquier combinación de las mismas. Preferiblemente, la goma es goma arábica.

Cuando la emulsión contiene un agente encapsulante, el agente encapsulante se puede dispersar en agua mediante cualquier tecnología conveniente para formar una fase acuosa. La fase acuosa puede ser una solución o una mezcla dependiendo de las propiedades de los componentes seleccionados. Los componentes seleccionados se pueden dispersar mediante cualquier tecnología conveniente incluyendo: homogeneización, mezcladura, emulsificación, recirculación, mezcladura estática, ultrasonidos, remoción, calentamiento o cualquier combinación de los mismos. La viscosidad de la fase acuosa resultante se puede ajustar, según se desee, mediante la adición de agua. La composición acuosa de la emulsión puede contener opcionalmente cualquier otro material adecuado incluyendo, pero no limitado a, los analizados anteriormente con referencia a la composición no acuosa. Preferiblemente, la composición acuosa puede incluir un agente encapsulante, un agente pelculígeno, un plastificante, un conservante, un antioxidante o cualquier combinación de los mismos. Conservantes adecuados incluyen metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico, sorbato potásico, benzoato sódico y cualquier combinación de los mismos. Antioxidantes adecuados incluyen ascorbato sódico, ácido ascórbico, ácido cítrico y cualquier combinación de los mismos.

Preferiblemente, la fase acuosa contiene un almidón alimentario modificado, tal como octenilsuccinilalmidón (CAPSUL®), maltodextrina y ascorbato sódico. Otra fase acuosa preferida contiene proteína de patata (ALBUREX®), maltodextrina 20 y ascorbato sódico. Los componentes seleccionados se pueden disolver en agua mediante cualquier tecnología conveniente, preferiblemente remoción. Preferiblemente, la mezcla se homogeneiza hasta que es uniforme y está libre de grumos. Preferiblemente, la homogeneización se lleva a cabo a una temperatura entre aproximadamente 50°C y aproximadamente 75°C. La viscosidad final de la fase acuosa resultante se puede ajustar a continuación hasta la viscosidad deseada, preferiblemente de aproximadamente 250 cp a aproximadamente 450 cp, más preferiblemente de aproximadamente 300 cp a aproximadamente 400 cp, aún más preferiblemente aproximadamente 385 cp.

La emulsión se puede formar al emulsionar la composición no acuosa y la fase acuosa por cualquier medio, incluyendo homogeneización, cizalladura con rotor-estator, cizalladura y cavitación a alta presión, mezcladura con mezclador de Cowles a alta velocidad o agitación por cizalladura, y cualquier combinación de las mismas. El volumen y la viscosidad de la emulsión se pueden ajustar preferiblemente mediante la adición de agua después de la emulsificación. Preferiblemente, las composiciones no acuosa y acuosa se emulsionan mediante homogeneización. Preferiblemente, la emulsión no debe contener ningún mineral, metal de transición o peróxido.

Según se apunta anteriormente, la emulsión se puede incorporar o emplear para producir otras composiciones útiles, especialmente aceites encapsulados, p. ej., polvos secados por pulverización. Generalmente, el aceite encapsulado comprende una composición oleosa y un agente de encapsulación que encapsula la composición oleosa, en donde la composición oleosa contiene vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 o ambas disueltas en el aceite en una cantidad entre aproximadamente 5% y aproximadamente 50% en peso basado en el peso total de la composición oleosa. El aceite encapsulado se puede producir mediante cualquier tecnología conveniente: p. ej., secar una emulsión descrita anteriormente mediante cualquier tecnología convencional, incluyendo secado por pulverización, liofilización, secado en lecho fluido, secado en bandejas, adsorción, y cualquier combinación de los mismos. Preferiblemente, el aceite encapsulado se produce al secar por pulverización una emulsión que tiene una fase acuosa anterior que contiene un agente de encapsulación; los parámetros del secado por pulverización están dictados por las características físicas deseadas en el aceite encapsulado final. Tales parámetros físicos incluyen tamaño de partícula, conformación y flujo del polvo y contenido de agua. Preferiblemente, el aceite está en una cantidad menor de aproximadamente 30%, menor de aproximadamente 20%, menor de aproximadamente 10% o menor de aproximadamente 5% en peso basado en el peso total del aceite encapsulado. El aceite encapsulado debe tener buena fluidez y la vitamina D3 y/o la 25-hidroxivitamina D3 se deben distribuir homogéneamente en toda la composición. Convenientemente, el aceite encapsulado es un polvo. Cualquier otro aditivo adecuado se puede añadir al aceite encapsulado. Uno de estos aditivos puede ser un agente de fluencia tal como dióxido de silicio, para incrementar la fluidez del aceite encapsulado.

Dosificaciones

Diaria. Una composición para el uso según esta invención en la que los dos ingredientes activos se van a administrar separadamente, o solos, contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de aproximadamente 1 µg a

aproximadamente 50 µg, preferiblemente aproximadamente 5 µg y 25 µg. Alternativamente, una sola dosificación diaria que tiene tanto vitamina D como 25-OH D3 contiene cada ingrediente activo en una cantidad de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg, preferiblemente aproximadamente 5 µg y 25 µg.

- 5 La relación de dosificación de vitamina D a 25-OH D3 puede ser de aproximadamente 50:1 a aproximadamente 1:50, más preferiblemente de aproximadamente 25:1 a aproximadamente 1:25, y aún más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

10 Múltiples dosificaciones separadas se pueden envasar en un solo estuche (o recipiente). Por ejemplo, el estuche puede estar comprendido por treinta dosificaciones diarias separadas de ambos principios activos separadamente (es decir 60 dosificaciones separadas), o combinadas (es decir 30 dosificaciones que contienen ambos ingredientes activos). Se pueden incluir en el estuche instrucciones para administrar las dosificaciones a un ser humano.

15 *Semanal.* Una sola dosificación semanal contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de aproximadamente 7 µg a aproximadamente 350 µg, y preferiblemente de aproximadamente 35 a 175 µg. Alternativamente, una sola dosificación semanal puede contener tanto vitamina D como 25-OH D3 cada una en una cantidad de aproximadamente 7 µg a aproximadamente 350 µg, y preferiblemente de aproximadamente 35 a 175 µg. La relación de dosificación de vitamina D a 25-OH D3 puede ser de aproximadamente 50:1 a aproximadamente 1:50, más preferiblemente de aproximadamente 25:1 a aproximadamente 1:25, y aún más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

20

25 *Mensual.* Una sola dosificación mensual contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de 30 µg a aproximadamente 1.500 µg, preferiblemente de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 500 µg. Alternativamente, una sola dosificación mensual contiene tanto vitamina D como 25-OH D3 cada una en una cantidad de 30 µg a aproximadamente 1.500 µg, preferiblemente de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 500 µg. Un estuche puede estar comprendido por una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce dosificaciones semanales o mensuales.

30 Las relaciones de dosificación de vitamina D a 25-OH D3 deben variar entre 50:1 y aproximadamente 1:50, más preferiblemente de aproximadamente 25:1 a aproximadamente 1:25, y aún más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

35 La glucosa en sangre se puede medir convenientemente usando un ensayo con enzimas ligadas para determinar la cantidad de glucosa en sangre o fracciones de la misma (p. ej., plasma y suero). Están disponibles muchos ensayos y dispositivos diferentes para comprobar la glucosa en sangre en seres humanos diabéticos. La hemoglobina glicosilada puede ser una medida para comprobar la hiperglucemia crónica debido a que la hemoglobina se glicosila cuando se expone a altos niveles de glucosa a lo largo de un período de tiempo prolongado. La hiperglucemia puede dar como resultado síntomas tales como hambre pronunciada (polifagia), sed excesiva (polidipsia), micción excesiva (poliuria), fatiga, pérdida de peso y mala curación de heridas en seres humanos diabéticos. Se considera que un nivel normal de glucosa en sangre (plasma) es de aproximadamente 4 mmol/l a aproximadamente 7 mmol/l en adultos en ayunas.

40

45 Hay una escasez de datos sobre la relación entre 25-hidroxivitamina D3 administrada oralmente y su concentración sistémica resultante en seres humanos, en comparación con vitamina D3 administrada oralmente. El análisis más exhaustivo hasta la fecha de la cinética de la vitamina D3 y la 25-hidroxivitamina D3 fue efectuado por Barger-Lux y cols. (Osteoporosis 8:222-230, 1998). Se les administraron a hombres sanos hasta 1.250 µg/día de vitamina D3 a lo largo de un período de ocho semanas, y hasta 50 µg/día de 25-hidroxivitamina D3 a lo largo de un período de cuatro semanas. Se demostraron cinéticas curvilíneas para la relación de vitamina D3 y 25-hidroxivitamina D3 plasmática, y se sugirió que esto se puede deber a la saturación de la actividad de hidroxilasa en el hígado. Esto estaba apoyado porque no se presentaba que la dosificación con 25-hidroxivitamina D3 produjera cinéticas curvilíneas (Barger-Lux y cols., 1998). Aunque los datos de la 25-hidroxivitamina D3 no muestran cinéticas curvilíneas, sólo es evidente cuando la dosis se extiende más allá del nivel que se consideraba que daba como resultado un beneficio fisiológico máximo, que puede indicar la actividad de un mecanismo homeostático que se superaba a dosis muy altas. Dentro del intervalo fisiológico, la relación parece lineal y comparable a Barger-Lux y cols. Estos datos indican que se requiere una dosis diaria de entre 10 µg y 60 µg de 25-hidroxivitamina D para un beneficio máximo para la salud.

50

55

60 Se inició un estudio de la farmacocinética en seres humanos de 25-hidroxivitamina D3 secada por pulverización, vitamina D3 secada por pulverización o ambas administradas oralmente, para investigar sus interacciones fisiológicas. En particular, las conformaciones de sus curvas de respuesta a la dosis (que indican las concentraciones de vitamina D3 y 25-hidroxivitamina D3 en la circulación a lo largo de un transcurso de tiempo fijado, no simplemente la concentración promedio o máxima alcanzada) y la cinética de estado estacionario era de interés. Con respecto al punto anterior, es importante investigar el cambio en la conformación de la curva de respuesta a la dosis cuando la exposición es tanto a vitamina D3 como a 25-hidroxivitamina D3. Con respecto al último punto, también es necesario investigar su cinética en estado estacionario cuando la dosificación es menos frecuente que la diaria debido a que este es el régimen preferido para grupos que puedan tener un mal cumplimiento con la toma diaria de complementos (tales como la tercera edad).

65

Los siguientes ejemplos no limitativos se presentan para ilustrar mejor la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Prueba clínica

5 *Formulación*

Materiales y métodos

10 Se proporcionó como un polvo la formulación secada por pulverización de 25-hidroxivitamina D3. En resumen, se disolvieron 25-hidroxivitamina D3 y DL- α -tocoferol en un aceite de triglicéridos de cadena media, a continuación se emulsionaron en una solución acuosa de almidón modificado, sacarosa y ascorbato sódico. La emulsión se atomizó en una secadora de pulverización en presencia de dióxido de silicio. El polvo resultante se recogió cuando el contenido de agua (LDO) era menor de 4% y se tamizó a través de 400 μ m. Se envasó y se selló en bolsas de aluminio, a continuación se almacenó en una zona seca por debajo de 15°C y se usó en menos de 12 meses desde su fabricación.

15 Se fabricaron tres lotes separados. En detalle, se produjo una matriz al mezclar durante 120 min. en una unidad de procesamiento FRYMIX con un agitador de ancla a 70°C bajo vacío y que consistía en:

- 17,300 kg de agua (WBI)
- 13,460 kg de almidón alimentario modificado (CAPSUL HS)
- 3,270 kg de sacarosa
- 20 ▪ 0,730 kg de ascorbato sódico

Se preparó una fase oleosa al mezclar durante 35 min, en un recipiente de doble pared con un agitador propulsor a 82°C y que consistía en:

- 0,550 kg de aceite BERGABEST MCT 60/40
- 0,049 kg de calcifediol (HY-D USP)
- 25 ▪ 0,183 kg de DL- α -tocoferol

30 La fase oleosa se transfirió a la matriz en la unidad de procesamiento FRYMIX y se preemulsionó con su molino para coloides internos (60 min., 70°C). La preemulsión se hizo circular a través de un homogeneizador de alta presión (20 min.). La emulsión con una viscosidad de 60 mPa·s a 90 mPa·s a 70°C se transfirió sobre la bomba de alta presión hasta la tobera de pulverización. Como agente fluidizante, se alimentó a la torre dióxido de silicio (SIPERNAT 320 DS). Los parámetros de pulverización y secado se listan posteriormente.

Parámetro	Pulverización	Secado
Posición del aire de entrada	parte superior de la torre	parte superior de la torre
Alimentación del aire de entrada	1.500 m ³ /h	1.400 m ³ /h
Temperatura del aire de entrada	170 °C	apagado del calentador
Alimentación del aire de entrada a IFB	500 m ³ /h	500 m ³ /h
Temperatura del aire de entrada a IFB	65°C	50°C
Posición del aire de escape	parte inferior de la torre	parte inferior de la torre
Reciclado del polvo fino	hacia IFB	hacia IFB
Velocidad de alimentación de la emulsión	50 kg/h	alimentación de emulsión detenida

Parámetro	Pulverización	Secado
Posición de alimentación de SiO ₂	parte superior de la torre	alimentación de SiO ₂ detenida
Velocidad de alimentación de ácido SiO ₂	100 g/h	alimentación de SiO ₂ detenida

5 Para cada uno de los tres lotes de 25-hidroxivitamina D3, se obtuvo un promedio de 8,4 kg de polvo secado por pulverización con aproximadamente 0,25% de contenido de 25-hidroxivitamina D3. Los otros componentes de la formulación son: 73,2% de almidón alimentario modificado, 17,6% de sacarosa, 4,0% de ascorbato sódico, 3,0% de triglicéridos de cadena media, 1,0% de dióxido de silicio y 1,0% de DL- α -tocoferol.

10 La formulación secada por pulverización de vitamina D3 se proporcionó como un polvo. En resumen, vitamina D3 y DL- α -tocoferol se disolvieron en un aceite de triglicéridos de cadena media, a continuación se emulsionaron en una solución acuosa de almidón modificado, sacarosa y ascorbato sódico. La emulsión se atomizó en una secadora de pulverización en presencia de dióxido de silicio. El polvo resultante se recogió cuando el contenido de agua (LOD) era menor de 4% y se tamizaron para retirar grumos grandes. Se almacenó en una zona seca por debajo de 15°C y se uso en menos de 12 meses desde su fabricación.

Prueba clínica

15 Sujetos

20 Se incluyeron mujeres posmenopáusicas sanas (de 50 a 70 años de edad) usando el consentimiento informado y se seleccionaron usando los siguientes criterios: 25-hidroxivitamina D3 en suero entre 20 nmol/l y 50 nmol/l, índice de masa corporal entre 18 kg/m² y 27 kg/m², presión sanguínea menor de 146/95 mm de Hg, calcio en suero menor de 2,6 nmol/l, glucosa en ayunas menor de 100 mg/dl, sin ejercicio de alta intensidad más de tres veces por semana, sin tratamiento para la hipertensión, sin uso de complemento de vitamina D o calcio en altas dosis o un fármaco que afecte al metabolismo óseo (p. ej., bifosfonato, calcitonina, modulador de receptores de estrógenos, hormonoterapia reitutiva, hormona paratiroidea), y sin visitar ninguna zona "soleada" durante el estudio.

25 Los sujetos se asignaron aleatoriamente a uno de siete grupos de tratamiento (es decir, diario, semanal, embolada como una sola dosis, y embolada como dosis de combinación). Cada grupo incluía cinco sujetos. Fueron seguidos en Zúrich, Suiza durante el invierno.

Diseño

30 El objetivo era estudiar y comparar las características farmacocinéticas de vitamina D3 y 25-hidroxivitamina D3 administradas a seres humanos. Se investigaron cantidades equimolares de ambas sustancias. El régimen se basaba en 20 μ g/día (o su equivalente sobre una base semanal) de 25-hidroxivitamina D3. Con propósitos comparativos, era necesario administrar cantidades equimolares bien de vitamina D3 o bien de 25-hidroxivitamina D3. Con respecto a la administración de vitamina D3, se consideraba que la dosis era suficiente para vencer la variabilidad de fondo y proporcionar una dosis eficaz a los participantes.

Diaria: 120 administraciones

- | | | |
|----|-----------------------|---------------------|
| 1. | 25-Hidroxivitamina D3 | 20 μ g |
| 2. | Vitamina D3 | 20 μ g (800 UI) |

Semanal: 16 administraciones

- | | | |
|----|-----------------------|-----------------------|
| 3. | 25-Hidroxivitamina D3 | 140 μ g |
| 4. | Vitamina D3 | 140 μ g (5600 UI) |

Embolada: administración única

- | | | |
|----|-----------------------|------------------------|
| 5. | 25-Hidroxivitamina D3 | 140 μ g |
| 6. | Vitamina D3 | 140 μ g (5.600 UI) |

Embolada: administración conjunta

- | | | |
|----|-----------------|--------------------------------------|
| 7. | D3 and 25(OH)D3 | 140 μ g (5.600 UI) + 140 μ g |
|----|-----------------|--------------------------------------|

35 Las cápsulas de gelatina duras, que se envasan en botellas, contienen bien 20 μ g o bien 140 μ g bien de vitamina D3 o bien de 25-hidroxivitamina D3 secadas por pulverización por cápsula. Cada dosificación se consumió oralmente en

el desayuno. La duración del estudio era cuatro meses para los grupos "Diaria" y "Semanal". Los sujetos incluidos en el grupo de "Embolada" consumieron oralmente una sola dosificación en la segunda visita de estudio.

5 Las concentraciones en plasma de 25-hidroxivitamina D3 (p. ej., pico y estado estacionario) se determinaron al obtener muestras de los sujetos en diversos momentos después de que se ingiriera la dosificación. Con propósitos de rastreo y para establecer los valores iniciales, se obtuvo una muestra de sangre antes de la incorporación en el estudio y el laboratorio clínico midió la vitamina D3, la 25-hidroxivitamina D3, el calcio, la creatinina, la albúmina, y la glucosa en ayunas en el suero. El lunes de la Semana 1 del estudio, se determinaron la farmacocinética de la vitamina D3, la 25-hidroxivitamina D3 y la 1,25-dihidroxivitamina D3 séricas; los marcadores séricos (es decir, vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3, calcio, creatinina, albúmina, PTH, GOT, GPT, ALP, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol total, bALP, y glucosa en ayunas); y los marcadores urinarios (es decir, calcio, creatinina y DPD) se determinaron a lo largo de 24 horas. Se tomaron muestras diarias para los días restantes de la Semana 1 y el lunes de la Semana 2 para determinar vitamina D3 y 25-hidroxivitamina D3 séricas, marcadores séricos (es decir, calcio, creatinina, albúmina) y marcadores urinarios (es decir, calcio, creatinina). Las determinaciones continuaron el lunes de las Semanas 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15. El lunes de la Semana 16, se tomaron muestras para determinar la farmacocinética de vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3 y 1,25-dihidroxivitamina D3 séricas; marcadores séricos (es decir, vitamina D3, 25-hidroxivitamina D3, calcio, creatinina, albúmina, PTH, GOT, GPT, ALP, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol total, bALP, y glucosa en ayunas); y marcadores urinarios (es decir, calcio, creatinina y DPD).

Resultados

20 No se podían realizar análisis estadísticos rigurosos de los resultados obtenidos, por dos razones. En primer lugar, al desenmascarar los datos, se descubrió que había una diferencia entre los niveles de glucosa iniciales de los grupos y que esta diferencia continuaba a lo largo del estudio. En segundo lugar, al examinar los niveles de insulina de los individuos, se apreció que un número de ellos se registró como "0,0" al menos en una visita. Esto indica que hubo un problema con la analítica, la muestra, el método o una combinación.

25 Sin embargo, a pesar de los problemas anteriores, se realizaron las siguientes observaciones.

Niveles de glucosa:

De los diez individuos que recibían diariamente o semanalmente vitamina D3, 7 tenían niveles de glucosa inferiores a la semana 15 en comparación con la semana 2. Para 25-OH D3, 6 de 10 tenían niveles de glucosa inferiores. Así, parece que tanto la vitamina D3 como la 25-OH pueden disminuir los niveles de glucosa.

30 Niveles de insulina:

De los diez individuos que recibían diariamente o semanalmente vitamina D3, sólo cuatro tenían niveles de insulina que no incluían un resultado "0,0" en ninguna visita. De estos cuatro, tres tenían niveles de insulina superiores en la semana 15 que en la semana 2; y sólo uno tenía un valor inferior.

35 De los diez individuos que recibían diariamente o semanalmente vitamina 25-OH D3, cinco tenían niveles de insulina que no incluían un "0,0" en ninguna visita. De estos cinco, uno tenía un nivel de insulina superior en la semana 15 en comparación con la semana 2; pero cuatro tenían un nivel inferior.

40 Un nivel de insulina inferior es un resultado deseado, ya que indica que la sensibilidad a insulina se mejora. Así, parece que 25-OH D3 tiene una mayor capacidad para mejorar la sensibilidad a insulina que la vitamina D3.

Ejemplo 2

Estudio en ratones

Los efectos de 25-OH D3 o la combinación de 25-OH D3 y vitamina D3 sobre la glucosa en sangre se probaron en dos estudios en ratones.

45 En el primer estudio, se determinaron los efectos de 25-OH D3 sobre la glucosa en sangre en un modelo de hipertrofia muscular. Resumiendo, dos grupos de 10 animales fueron anestesiados y la pata posterior izquierda de los animales se fijó. Todos los animales recibieron un analgésico. Se realizó una pequeña incisión a través de la piel sobre los gemelos. Los gemelos completos y sus tendones se expusieron. Ambas cabezas de los gemelos se disecaron cuidadosamente de los músculos intactos subyacentes y se tuvo cuidado de no romper nervios y vasos.

50 La piel se cerró con una sutura de seda y los animales se devolvieron a la jaulas. Después de recuperarse de la anestesia, los animales se podían mover directamente sin problemas en sus jaulas. Los animales se trataron

durante tres semana mediante sonda con 25-OH D3 en una dosificación diaria de 50 µg/kg y el grupo de control recibía vehículo. Al final del estudio, se recogió sangre y la concentración de glucosa en plasma se analizó mediante un Hitachi 912 Automatic Analyser.

5 En el segundo estudio, se probaron los efectos de 25-OH D3 o la combinación de 25-OH D3 y vitamina D3 sobre la glucosa en sangre en un modelo de atrofia muscular. Resumiendo, animales de nueve meses se aleatorizaron al principio del estudio en cinco grupos con 10 animales por grupo. Los animales se pusieron en jaulas especiales durante las tres semanas y sus colas se suspendieron, lo que conduce a atrofia muscular de las patas traseras descargadas. Un grupo adicional sin descarga de las patas traseras se puso en jaulas idénticas a fin de detectar los efectos de la descarga. Todos los ratones se alojaron separadamente y tenían acceso libre a alimento y agua a voluntad. Todos los animales se trataron diariamente mediante sonda a lo largo de las 3 semanas del experimento:

1. El grupo de control sin descarga recibía vehículo (gelatina)
2. El grupo de control con descarga recibía vehículo (gelatina)
3. El grupo de vitamina D3 con descarga recibía vitamina D3 (50 µg/kg/pc)
- 15 4. El grupo de 25-OH D3 con descarga recibía 25-OH D3 (50 µg/kg/pc)
5. El grupo de 25-OH D3 más vitamina D3 con descarga recibía vitamina D3 + 25-OH D3 (50 + 50 µg/kg/pc)

La Tabla 1 muestra los valores de glucosa en plasma después de la terminación del estudio 1.

Tabla 1

	Glucosa en plasma (en mmol/l)
Grupo de control	15,53
Grupo de 25-OH D3	14,65

20

La Tabla 2 muestra los valores de glucosa en plasma después de la terminación del estudio 2.

Tabla 2

	Glucosa en plasma (en mmol/l)
Grupo de control sin descarga	12,02
Grupo de control con descarga	12,89
Grupo de vitamina D3 con descarga	12,69
Grupo de 25-OH D3 con descarga	12,75
Grupo de 25-OH D3 más vitamina D3 con descarga	12,21

25

Los resultados de la Tabla 1 indican que el tratamiento con 25-OH D3 daba como resultado una disminución en la glucosa en plasma en comparación con el grupo de control no tratado. Los resultados de la Tabla 2 demuestran que la descarga de las patas trasera da como resultado un incremento en los niveles de glucosa en sangre (grupo de control sin descarga frente a grupo de control con descarga). El tratamiento con vitamina D3 o 25-OH D3 daba como resultado una disminución moderada en los niveles de glucosa en sangre. Sin embargo, el tratamiento con la combinación de vitamina D3 y 25-OH D3 daba como resultado una disminución sinérgica en los niveles de glucosa en plasma que casi alcanzaba el nivel de los animales de control sin descarga, mejorando así el efecto de la descarga. Por lo tanto, los presentes datos muestran que la combinación de vitamina D3 y 25-OH D3 disminuye sinérgicamente niveles de glucosa en sangre elevados y normaliza niveles de glucosa cambiados patológicamente.

35

REIVINDICACIONES

1. 25-hidroxivitamina D3 (25-OH D3) en combinación con vitamina D para el uso en el mantenimiento de niveles de glucosa en plasma sanguíneo saludables o para reducir niveles de glucosa en sangre hasta niveles saludables en seres humanos.
5
2. 25-OH D3 en combinación con vitamina D para el uso según la reivindicación 1, en donde los niveles de glucosa en sangre están a un nivel entre 4 mmol/l y 7 mmol/l o se reducen hasta un nivel entre 4 mmol/l y 7 mmol/l.
3. 25-OH D3 en combinación con vitamina D para el uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el ser humano es un adulto.
10
4. 25-OH D3 en combinación con vitamina D para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la vitamina D3 se administra separadamente de la 25-OH D3.
5. 25-OH D3 en combinación con vitamina D para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la relación de vitamina D3 a 25-OH D3 es de 1:50 a 50:1; preferiblemente de 1:25 a 25:1; y más preferiblemente de 6:1 a 1:6.
15
6. 25-OH D3 en combinación con vitamina D para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la 25-OH D3 está en la forma de una dosis diaria, una dosis semanal o una dosis mensual.
20