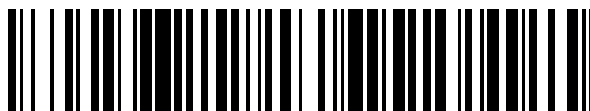


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 740**

51 Int. Cl.:

A61K 31/593 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2011 PCT/EP2011/071684**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12076429**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2011 E 11794092 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.11.2018 EP 2648737**

54 Título: **Tratamiento de afecciones asociadas con eotaxina incrementada con 25-hidroxivitamina D3**

30 Prioridad:

06.12.2010 EP 10193847

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

14.05.2019

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**KRAMMER-LUKAS, STEPHANIE;
STOECKLIN, ELISABETH;
SCHWAGER, JOSEPH y
WOLFRAM, SWEN**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 712 740 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 afecciones asociadas con eotaxina incrementada con 25-hidroxivitamina D3

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a tratar/prevenir afecciones asociadas con un nivel incrementado de eotaxina en un ser humano con 25-hidroxivitamina D3 (calcifediol), en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en: rinitis alérgica, sinusitis, pólipos nasales, esofagitis eosinofílica, colitis ulcerosa, síntomas gástricos debidos a alergias alimentarias, infecciones parasitarias gástricas y reflujo gastro-esofágico. Opcionalmente, la vitamina D3 se puede utilizar junto con 25-hidroxivitamina D3.

Antecedentes de la Invención

10 La vitamina D (p. ej., ergocalciferol y colecalciferol) es un grupo de compuestos solubles en grasas definidos por su actividad biológica. Una deficiencia de vitamina D provoca raquitismo en niños y osteomalacia en adultos. Pero la toxicidad puede ocurrir después de una ingesta crónica de más de 100 veces la cantidad diaria recomendada (es decir, 5-15 µg o 200-600 UI de vitamina D) durante varios meses. Para la vitamina D, "El umbral de toxicidad es de 500 a 600 mcg/kg de peso corporal por día. En general, los adultos no deben consumir más de tres veces la RDA (siglas inglesas de raciones diarias recomendadas) durante un período de tiempo prolongado" (Garrison & Somer, 15 *The Nutrition Desk Reference, Tercera Ed.*, McGraw-Hill, pág. 82, 1997). La hipercalcemia puede ocurrir a una concentración en sangre de 25-hidroxivitamina D superior a 375 nmol/L. Más recientemente, se identificó un nivel superior seguro de vitamina D de al menos 250 µg/día (10.000 UI) (Hathcock et al. *Am. J Clin. Nutr.* 85:6-18, 2007). Se ha demostrado que la ingesta de un complemento dietético de este tipo da como resultado una concentración en 20 sangre de aproximadamente 200 nmol/L de 25-hidroxivitamina D.

La vitamina D es una prohormona que debe ser hidroxilada en el hígado para producir 25-hidroxivitamina D (calcifediol; 25-OH vitamina D; 25-OH D), que luego sufre otra hidroxilación en el riñón y otros tejidos para producir 1,25-dihidroxivitamina D, la forma de hormona activa de la vitamina D. La 1,25-dihidroxivitamina D se libera en la 25 sangre, se une a la proteína de unión a la vitamina D (DBP) y es transportada a tejidos diana. La unión entre 1,25-dihidroxivitamina D y el receptor de vitamina D permite que el complejo actúe como un factor de transcripción en el núcleo de la célula.

La deficiencia de vitamina D puede fomentar la reabsorción del hueso. También puede modular la función de los sistemas cardiovascular, inmune y muscular. Estudios epidemiológicos encuentran asociaciones entre la ingesta de 30 vitamina D y su efecto sobre la presión arterial o el metabolismo de la glucosa. La actividad de la vitamina D está bajo control de retroalimentación negativa por la hormona paratiroidea.

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 vendido previamente en los EE.UU. por Organon USA con el nombre de "CALDEROL", pero actualmente se encuentra en la lista de fármacos suspendidos de la FDA. Era una cápsula de gelatina que contenía aceite de maíz y 25-OH D3.

35 Una forma líquida de 25-OH D3 ha sido vendida en España por FAES Farma con el nombre de "HIDROFEROL" en una solución de aceite.

La combinación de vitamina D y 25-OH D3 se ha utilizado en la alimentación animal. 25-OH D3 para uso en piensos está disponible comercialmente de DSM bajo el nombre "ROVIMIX HY-D". Tritsch *et al.* (documento US 7.632.518) describe una composición de premezcla de pienso de al menos 25-OH D3 en una cantidad entre 5% y 50% (p/p) 40 disuelta en aceite y un antioxidante, un agente que encapsula gotas de 25-OH D3 y aceite, y un aditivo nutricional (p. ej., vitamina D3). La premezcla se puede añadir a pienso para aves de corral, cerdos, animales caninos o felinos. Esta composición estabiliza 25-OH D3 frente a la oxidación.

Simoës-Nunes *et al.* (documento US 2005/0064018) describe la adición de una combinación de 25-OH Vitamina D3 y Vitamina D3 a la alimentación animal. En particular, aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg de 45 25-OH Vitamina D3 y de aproximadamente 200 UI/kg a aproximadamente 4.000 UI/kg de Vitamina D3 se añaden a la alimentación porcina. Esta adición mejora la resistencia ósea del cerdo.

Stark *et al.* (documento US 5.695.794) describen la adición de una combinación de 25-OH Vitamina D3 y Vitamina D3 a la alimentación de aves de corral para mejorar los efectos de la discondroplasia tibial.

Borenstein et al., documento US 5.043.170, describen la combinación de vitamina D3 y 1-alfa-hidroxicolecalciferol o 1 alfa, 25-dihidroxicolecalciferol para mejorar la fuerza del huevo y la fuerza de la pata en gallinas ponedoras y gallinas viejas.

5 Chung et al, documento WO 2007/059960 describe que cerdas alimentadas con una dieta que contenía tanto vitamina D3 como 25-hidroxivitamina D3 habían mejorado el estado general de salud, el marco corporal, el tamaño y la salud de la camada y otros parámetros de producción. También se describe un complemento alimenticio para seres humanos de 25-OH D3, pero su intervalo de dosificación, de 5-15 microgramos por kg de peso corporal, que equivale a una dosificación diaria extremadamente alta de 300-900 microgramos por persona, es muy alto.

10 Fiset et al 2006 (*J Allergy Clin Immunol* 118:536-8) enseña que la eotaxina está implicada con el asma, la dermatitis atópica, la rinitis alérgica y la sinusitis; Flukerson et al 2008 (*Best Pract Clin Gastroenterol*, 22(3): 411-423) enseña que eotaxina-1, -2 y -3 están implicadas en la regulación de la acumulación de eosinófilos en el tracto GI y otros tejidos. Además, Hogan et al 2004 (*Aliment Pharmacol Ther* 20:1231-1240) comenta los enlaces entre afecciones inflamatorias de los pulmones y afecciones inflamatorias gastrointestinales. Rankin et al 2000 (*Mol. Medicine Today* 6:20-26) proporciona información general en relación con la gama de enfermedades en las que la eotaxina juega un papel.

El documento WO 90/06754 A1 (Teijin Ltd.) enseña diversos compuestos de vitamina D para el tratamiento de la hepatitis crónica.

El documento JP 58 216178 A (Chugai Pharmaceutical Co.) comenta un derivado de vitamina D3 5,6-epoxidado que tiene actividad anti-cancerígena.

20 El documento WO 2009/047644 A2 (Cytochroma, Inc) enseña la co-administración de vitamina D2 con un compuesto de vitamina D3.

El documento WO 2008/134523 A1 (Proventiv Therapeutics) se refiere al uso de vitamina D2 co-administrada con una vitamina D en el hiperparatiroidismo secundario preventivo.

25 El documento WO 98/18468 A1 (American Home Products) enseña la combinación de calcitriol y rapamicina para la inmunosupresión.

Por lo que los autores de la invención saben, la técnica anterior no enseña ni sugiere el uso de 25-hidroxi vitamina D3 como un medicamento para seres humanos para tratar o prevenir afecciones asociadas con un nivel incrementado de eotaxina.

Breve descripción de la invención

30 Se ha encontrado que la 25-hidroxivitamina D3 (calcifediol) se puede utilizar como nutracéutico, alimento, complemento alimenticio o un medicamento para reducir los niveles de eotaxina, una citoquina implicada en el reclutamiento de eosinófilos. El nutracéutico, alimento, complemento alimenticio o medicamento puede opcionalmente comprender además vitamina D3 (colecalfiferol). El ser humano puede ser de cualquier edad, incluidos niños y jóvenes, desde el nacimiento hasta la edad adulta, desde los 18 años hasta los 80 años de edad, o más de 80 años de edad. También se describen formas y dosificaciones de un nutracéutico, alimento, complemento alimenticio y composición farmacéutica, así como los procedimientos para fabricar estas formas.

40 Una realización de esta invención es un método para reducir los niveles de eotaxina, que comprende administrar 25-hidroxivitamina D3 a un ser humano, y observar o apreciar una reducción de los síntomas asociados con niveles altos de eotaxina, en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en: rinitis alérgica, sinusitis, pólipos nasales, esofagitis eosinofílica, colitis ulcerosa, síntomas gástricos debidos a alergias alimentarias, infecciones parasitarias gástricas y reflujo gastro-esofágico. En una persona sana, los niveles de eotaxina en el suero sanguíneo son bajos a aproximadamente 30 pg/ml. Si la persona padece una afección en la que los niveles de eotaxina son elevados, entonces el nivel de eotaxina generalmente aumenta, es decir, puede ser superior a 50 picogramos/ml. Existen considerables variaciones individuales del nivel de eotaxina, pero en términos generales, cualquier nivel elevado de eotaxina se relaciona con una actividad incrementada de los eosinófilos y, por lo tanto, se relaciona con afecciones tales como asma, alergia u otras que se detallan más adelante.

50 La administración de 25-OH D3 permite que los niveles de eotaxina se reduzcan o se mantengan a un nivel más bajo que el que estaba presente previamente, y preferiblemente a un nivel significativamente más bajo que el observado antes de la administración. Por lo tanto, la invención también se refiere al uso de 25-OH D3 para el método de preparación de un medicamento útil para reducir los niveles de eotaxina, mantener un nivel reducido de

eotaxina y/o reducir los síntomas de afecciones relacionadas con eotaxina alta, en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en rinitis alérgica, sinusitis, pólipos nasales, esofagitis eosinofílica, colitis ulcerosa, síntomas gástricos debidos a alergias alimentarias, infecciones parasitarias gástricas y reflujo gastro-esofágico.

- 5 Esta invención también se refiere a un método para reducir los niveles de eotaxina en un individuo que lo necesite, que comprende las etapas de: establecer un nivel de referencia de eotaxina, administrar 25-OH D3 y observar una reducción de los niveles de eotaxina en relación con la referencia.

10 La administración puede ser en forma de un nutraceutico, un alimento, un complemento alimenticio o un medicamento. Opcionalmente, la vitamina D3 se puede administrar junto con o por separado de la 25-hidroxitamina D3.

15 Otra realización de esta invención es un método para tratar un síntoma relacionado con un aumento en los niveles de eotaxina, en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en rinitis alérgica, sinusitis, pólipos nasales, esofagitis eosinofílica, colitis ulcerosa, síntomas gástricos debidos a alergias alimentarias, infecciones parasitarias gástricas y reflujo gastro-esofágico, que comprende administrar una cantidad reductora de eotaxina de 25-OH D3 a una persona que necesite un tratamiento de este tipo, y observando o apreciando la disminución del síntomas/nivel de eotaxinas. Esto se puede hacer analizando la cantidad de eotaxina, u observando el nivel del síntoma. Opcionalmente, la vitamina D3 se puede co-administrar.

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

20 Descripción detallada de la invención

Tal como se utiliza a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se emplean las siguientes definiciones:

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

"Metabolito de la vitamina D" significa cualquier metabolito de la Vitamina D que no sea 25-hidroxitamina D3.

"25-OH D3" se refiere específicamente a 25-hidroxitamina D3.

30 "25-OH D" se refiere al metabolito 25-hidroxilado de Vitamina D2 o Vitamina D3, que es la principal forma de circulación que se encuentra en el plasma.

"Prevenir" pretende incluir la mejora de la enfermedad, la disminución de la gravedad de los síntomas, la intervención temprana y el alargamiento de la duración de la aparición de la enfermedad, y no pretende limitarse a una situación en la que el paciente ya no puede contraer la enfermedad ni experimentar síntoma alguno.

35 Las eotaxinas (también denominadas CCL-11, CCL-24 y CCL-26) son tres proteínas que pertenecen a la familia de las quimioquinas CC. Son reclutadores selectivos de eosinófilos, y también inducen la agregación de eosinófilos. Los eosinófilos desempeñan un importante papel beneficioso en el exterminio de algunos microbios y helmintos invasivos, especialmente en el intestino. Estudios recientes también sugieren un papel en la organogénesis, reparación de tejidos y regulación inmunológica.

40 Sin embargo, cantidades anormalmente altas de eosinófilos en la circulación y en algunos tejidos son características de muchas patologías, incluidas las enfermedades alérgicas (tales como el asma, la rinitis y la dermatitis atópica), otros trastornos inflamatorios (incluida la enfermedad inflamatoria del intestino, la gastroenteritis eosinofílica y la neumonía), inflamación no alérgica (tal como la inducida por inhalación de ozono o reacciones granulomatosas de cuerpos extraños), así como algunos tumores malignos (tales como la enfermedad de Hodgkin y diversas leucemias).

45 Se ha encontrado, sorprendentemente, que la administración de 25-OH D3 disminuyó el nivel de eotaxina en el suero de mujeres posmenopáusicas. El grupo que recibió 25-OH D3 tuvo una menor cantidad estadísticamente significativa en comparación con el grupo que recibió vitamina D3. Tanto la 25-hidroxitamina D3 como la vitamina D3 redujeron las cantidades de eotaxina en comparación con el placebo.

Por lo tanto, la administración de 25-OH D3 sería beneficiosa para el tratamiento y la prevención de enfermedades y síntomas asociados con altos niveles de eotaxina, tal como se detalla más adelante.

Enfermedades/afecciones asociadas a altos niveles de eotaxinas

Asma

- 5 Tal como se explica en Pease et al., 2001 *Curr. Opinión in Pharmacol.* 1(3):248-253, que se incorpora con ello como referencia, uno de los rasgos característicos del asma es la acumulación de eosinófilos en las paredes bronquiales. Cuando los eosinófilos liberan su contenido (incluida la proteína básica principal), se produce daño del tejido e hiperreactividad bronquial, el sello distintivo del asma. Se ha encontrado que individuos diagnosticados con asma tienen un nivel incrementado de eotaxina, y se ha informado que aquellos que experimentan asma aguda tienen niveles más altos que aquellos con asma estable. De manera similar, también se observó que los individuos que tienen asma ocupacional tienen niveles más altos de eotaxina.

En modelos de ratones, una alteración del gen de eotaxina resultó en una reducción del reclutamiento de eosinófilos en un modo de asma. De manera similar, también se encontró que la administración de un anticuerpo neutralizante de eotaxina reduce la esofilia del pulmón.

- 15 Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas del asma mediante la administración de una cantidad efectiva de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas del asma, en particular la disminución de la restricción bronquial. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método de preparación de un medicamento para el asma.
- 20 El 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con medicamentos y/o terapias para el asma conocidos.

Rinitis alérgica y sinusitis

- 25 Se encontró que la eotaxina estaba presente en células epiteliales e inflamatorias en las fosas nasales de individuos con rinitis alérgica y sinusitis. (Véase Fiest et al 2006 *J Allergy Clin Immunol* 118:536-8, que se incorpora con ello como referencia). Así, la eotaxina es una diana para la reducción en estas condiciones. El asma atópico se refiere a afecciones alérgicas, tales como la fiebre del heno y las dermatitis alérgicas. También se ha observado una expresión incrementada de eotaxina en estas afecciones.

- 30 Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas de la rinitis alérgica o la sinusitis mediante la administración de una cantidad eficaz de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas de rinitis o sinusitis, incluida la disminución de la hinchazón y la inflamación. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método para preparar un medicamento adecuado para la rinitis o la sinusitis.

- 35 La 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con medicamentos y/o terapias conocidas para la rinitis o la sinusitis.

- 40 Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas de la fiebre del heno o la dermatitis alérgica mediante la administración de una cantidad eficaz de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas de la fiebre del heno o la dermatitis alérgica, incluida la disminución de la hinchazón y la inflamación. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método para preparar un medicamento adecuado para la fiebre del heno o la dermatitis alérgica.

La 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con medicamentos conocidos contra la fiebre del heno o la dermatitis alérgica y/o terapias.

- 45 Pólipos nasales

Enfermedades inflamatorias crónicas de la nariz y los senos nasales pueden conducir a la formación de pólipos nasales, y esto implica una regulación al alza de la eotaxina (véase, Rankin et al 2000 *Molecular Medicine Today*

6:20-27, que se incorpora con ello como referencia. La administración de 25-OH D3 y/o Vitamina D3, de acuerdo con esta invención, disminuirán los niveles de eotaxina y, por lo tanto, mejorarán, prevendrán o tratarán la formación y el crecimiento de pólipos nasales. La 25-OH D3 se puede utilizar como complemento a o en la terapia conjunta con medicamentos conocidos y/o terapias para pólipos nasales.

5 Trastornos gástricos

Normalmente, los eosinófilos no se encuentran en la mucosa esofágica, pero en algunos estados patológicos pueden acumularse allí y tener un efecto pro-inflamatorio. Existen varios trastornos gástricos que implican la presencia de eosinófilos y un aumento de eotaxina en el intestino:

Esofagitis eosinofílica

10 Normalmente, los eosinófilos no se encuentran en la mucosa esofágica, pero en la esofagitis eosinofílica pueden acumularse allí, lo que tiene un efecto pro-inflamatorio. Síntomas incluyen disfagia, dolor de pecho e impactación de los alimentos. En los niños, pueden incluir náuseas y vómitos, pérdida de peso, anemia y retraso en el desarrollo. A menudo, los pacientes tienen antecedentes de alergias, incluidas las alergias alimentarias a alimentos ricos en proteínas, tales como la leche, los huevos, la soja, el trigo, el pollo y las nueces. Los eosinófilos en la mucosa
15 esofágica liberan la proteína básica principal, que induce contracciones del músculo liso, que se cree que son mecánicamente similares a la bronco-constricción observada en el asma. Por lo tanto, reducir la cantidad de eotaxinas mejoraría los síntomas de la esofagitis eosinofílica.

Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas de la esofagitis eosinofílica mediante la administración de una cantidad eficaz de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas de la esofagitis eosinofílica, incluida la disminución de la contracción del músculo liso, la disfagia, el dolor de pecho, la impactación de los alimentos, las náuseas y los vómitos. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método para preparar un medicamento adecuado contra la esofagitis eosinofílica.

25 La 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con medicamentos conocidos contra la esofagitis eosinofílica.

Enfermedad Inflamatoria del Intestino (IBS, por sus siglas en inglés). Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa

Los eosinófilos se han implicado en la patogenia de IBA (véase Wedemeyer et al. 2008 *Best Practice & Res Clin Gastroenterol* 22(3): 537-549, que se incorpora con ello como referencia. La inflamación activa se ha asociado con un aumento de eosinófilos en el sitio de la inflamación. La liberación de sus proteínas (incluida la proteína catiónica de gránulos de eosinófilos) puede provocar daño al tejido. Por lo tanto, reducir el nivel de eotaxina podría ocasionar una pérdida de agregación de eosinófilos, lo que conducirá a una reducción de los síntomas de IBA, incluida la inflamación.

Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas del síndrome del intestino irritable mediante la administración de una cantidad efectiva de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas de IBA, incluida una disminución de la inflamación. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método de preparar un medicamento adecuado contra la IBA.

40 La 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con terapias conocidas contra la IBA.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa son enfermedades inflamatorias crónicas, pero no se ha identificado patógeno específico alguno. Al igual que la IBS, se caracterizan por niveles incrementados de eosinófilos. Se ha demostrado que ratones deficientes en eotaxina tenían una cantidad reducida de eosinófilos en el colon, y exhiben una colitis significativamente atenuada en comparación con el tipo salvaje.

Por lo tanto, otro aspecto de esta invención es un método para disminuir los síntomas de la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa mediante la administración de una cantidad efectiva de 25-OH D3 reductora de eotaxina a una persona que necesita una reducción de este tipo. La reducción resultante de la agregación de eosinófilos conduciría a una reducción observable en los síntomas de la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, incluida la disminución de la hinchazón y la inflamación. Otro aspecto de esta invención es el uso de 25-OH D3 en el método para preparar un medicamento adecuado contra la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa.

La 25-OH D3 se puede utilizar como un complemento a o en la terapia conjunta con la enfermedad de Crohn conocida o las terapias contra la colitis ulcerosa.

Otras Afecciones Gastrointestinales

5 Hogan et al. 2004 *Aliment Pharmacol Ther* 20:1231-1240, que se incorpora con ello como referencia, proponen que la reducción de eosinófilos sería beneficiosa en otras afecciones gastrointestinales, incluidas alergias alimentarias, infecciones parasitarias y reflujo gastro-esofágico.

Dosificaciones

10 Dosificaciones de Alimentos: La RDA que se aplica al momento de la venta de los alimentos es la dosificación máxima de la combinación de vitamina D3 + 25-OH D3 que se recomienda incorporar a un alimento. Actualmente, la RDA para vitamina D3 es:

- 400 UI para lactantes (0-12 meses)
- 600 UI para niños (+1 año) a adolescentes y adultos (70 años)
- 800 UI para adultos (+71 años)
- 600 UI para mujeres embarazadas o lactantes

15 El límite superior es de 4000 UI.

20 Para 25-OH D3 sola no hay una RDA actual, dado que en algunos países, las regulaciones no permiten que se añada a los alimentos para seres humanos; sin embargo, se considera que es aproximadamente 3 veces tan activa como la vitamina D3. Por lo tanto, para uso alimentario, la dosis máxima que debe estar presente en un alimento es aproximadamente 3 veces menos que la RDA de vitamina D3. Se observa que las dosificaciones convencionales de vitamina D3 se expresan en UI, mientras que las dosis de 25-OH D3 se expresan en µg. Las cantidades se convierten fácilmente, ya que una UI de vitamina D3 es igual a 40 µg.

Dosificaciones Farmacéuticas, de Complementos Alimenticios y Nutraceuticas:

25 *Diarias.* Una composición de acuerdo con esta invención en la que los dos ingredientes activos deben administrarse por separado, o solos, contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg, de preferencia de aproximadamente 5 µg y 25 µg. Alternativamente, una dosis diaria única que contenga tanto vitamina D como 25-OH D3 contiene cada uno de los ingredientes activos en una cantidad de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg, preferiblemente de aproximadamente 5 µg y 25 µg.

30 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, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

Las dosis múltiples y separadas se pueden empaquetar en un solo kit (o recipiente). Por ejemplo, el kit puede comprender treinta dosis diarias separadas de los dos ingredientes activos por separado (es decir, 60 dosis separadas) o combinadas (es decir, 30 dosis que contienen ambos ingredientes activos). Las instrucciones para administrar las dosis a un ser humano pueden incluirse en el kit.

35 *Semanal.* Una sola dosis 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 dosis 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, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

40 *Mensual.* Una sola dosis mensual contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de 30 µg a aproximadamente 1500 µg, preferiblemente de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 500 µg. Alternativamente, una sola dosis mensual puede contener tanto vitamina D como 25-OH D3 cada una en una cantidad de 30 µg a aproximadamente 1500 µg, preferiblemente de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 500 µg. Un kit puede estar compuesto de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce dosis semanales o mensuales.

Las relaciones de dosificación de vitamina D a 25-OH D3 deberían oscilar entre 50:1 y aproximadamente 1:50, más preferiblemente de aproximadamente 25:1 a aproximadamente 1:25, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

Bolo: Una dosis única de bolo contiene vitamina D o 25-OH D3 en una cantidad de 30 µg a aproximadamente 7500 µg. Alternativamente, una dosis única de bolo puede contener tanto vitamina D como 25-OH D3 cada una en una cantidad de 100 µg a aproximadamente 7500 µg, (preferiblemente de aproximadamente 75 µg a aproximadamente 3750 µg).

- 5 Las relaciones de dosificación de vitamina D a 25-OH D3 deberían oscilar entre 50:1 y aproximadamente 1:50, más preferiblemente de aproximadamente 25:1 a aproximadamente 1:25, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 1:6.

La dosis en bolo puede ser seguida por un régimen diario o semanal o mensual tal como se describe arriba.

- 10 Hay una escasez de datos sobre la relación entre la 25-hidroxitamina D3 administrada por vía oral y su concentración sistémica resultante en seres humanos, en comparación con la vitamina D3 administrada por vía oral. El análisis más completo hasta la fecha de la cinética de la vitamina D3 y la 25-hidroxitamina D3 fue realizado por Barger-Lux *et al.* (Osteoporosis 8:222-230, 1998). A hombres sanos se les administraron hasta 1250 µg/día de vitamina D3 a lo largo de un período de ocho semanas, y hasta 50 µg/día de 25-hidroxitamina D3 a lo largo de un período de cuatro semanas. Se demostró la cinética curvilínea para la relación entre la vitamina D3 y la 25-hidroxitamina D3 plasmática, y se sugirió que esto podría deberse a la saturación de la actividad de la hidroxilasa en el hígado. Esto se sustentó en que la dosis con 25-hidroxitamina D3 no se informó como productora de cinética curvilínea (Barger-Lux *et al.*, 1998). Aunque los datos sobre la 25-hidroxitamina D3 muestran una cinética curvilínea, solo es evidente cuando la dosis se extiende más allá del nivel considerado para dar como resultado un beneficio fisiológico máximo, lo que puede indicar la actividad de un mecanismo homeostático que es superado en dosis muy altas. Dentro del intervalo fisiológico, la relación parece lineal y equiparable a Barger-Lux *et al.* Estos datos indican que se requiere una dosis diaria de entre 10 µg y 60 µg de 25-hidroxitamina D para obtener el máximo beneficio para la salud.

- 25 Se inició un estudio de la farmacocinética en seres humanos de 25-hidroxitamina D3 secada por pulverización y administrada por vía oral, la vitamina D3 secada por pulverización, o ambas, para investigar sus interacciones fisiológicas. En particular, las formas de sus curvas de dosis-respuesta (que indican las concentraciones de vitamina D3 y 25-hidroxitamina D3 en la circulación a lo largo de un tiempo determinado, no simplemente fueron de interés la concentración media o máxima alcanzada) y la cinética en estado estacionario. Con respecto al punto anterior, es importante investigar el cambio en la forma de las curvas de dosis-respuesta cuando la exposición es tanto a la vitamina D3 como a la 25-hidroxitamina D3. Respecto de este último punto, también es necesario investigar su cinética en estado estacionario cuando la dosis es menos frecuente que la diaria, debido a que este es el régimen preferido para grupos que pueden tener una baja aceptación por tomar complementos diariamente (tales como los de edad).

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

Ejemplos

35 EJEMPLO 1

Ensayo clínico

Ensayo clínico

Sujetos

- 40 Se reclutaron mujeres sanas posmenopáusicas (de 50 a 70 años de edad) con consentimiento informado y se examinaron utilizando los siguientes criterios: 25-hidroxi vitamina D3 sérica entre 20 nmol/L y 50 nmol/L, índice de masa corporal entre 18 kg/m² y 27 kg/m², presión arterial menos de 146/95 mm de Hg, calcio en suero menos de 2,6 nmol/L, glucosa en ayunas menos de 100 mg/dl, ningún ejercicio de alta intensidad más de tres veces por semana, ningún tratamiento contra la hipertensión, ningún uso de dosis altas de vitamina D o complementos de calcio o fármacos que afecten el metabolismo óseo (p. ej., bifosfonato, calcitonina, modulador del receptor de estrógeno, terapia de reemplazo hormonal, hormona paratiroidea) y no visitar un lugar "soleado" durante el estudio.

Los sujetos se asignaron al azar a uno de los siete grupos de tratamiento (es decir, diario, semanal, bolo como dosis única y bolo como dosis combinada). Cada uno de los grupos incluía cinco sujetos. Fueron seguidos durante cuatro meses en Zürich, Suiza durante el invierno.

Diseño

El objetivo fue estudiar y comparar las características farmacocinéticas de la vitamina D3 y la 25-hidroxitamina D3 administrada a seres humanos. Se investigaron cantidades equimolares de ambas sustancias. El régimen se basó en 20 µg/día (o su equivalente sobre una base semanal) de 25-hidroxitamina D3. Para fines comparativos, fue necesario administrar cantidades equimolares de vitamina D3 o 25-hidroxitamina D3. Con respecto a la administración de vitamina D3, la dosis se consideró suficiente para superar la variabilidad de fondo y proporcionar una dosis eficaz a los participantes.

Diariamente: 120 administraciones

- | | |
|------------------------|----------------|
| 1. 25-Hidroxitamina D3 | 20 µg |
| 2. Vitamina D3 | 20 µg (800 UI) |

10 Semanal: 16 administraciones.

- | | |
|------------------------|------------------|
| 3. 25-Hidroxitamina D3 | 140 µg |
| 4. Vitamina D3 | 140 µg (5600 UI) |

Bolo: administración única

- | | |
|---------------------------|-----------------|
| 15 5. 25-Hidroxitamina D3 | 140 µg |
| 6. Vitamina D3 | 140µg (5600 UI) |

Bolo: administración combinada

- | | |
|--------------------|--------------------------|
| 7. D3 y 25 (OH) D3 | 140 µg (5600IU) + 140 µg |
|--------------------|--------------------------|

20 Cápsulas de gelatina dura, que se envasan en frascos, contienen 20 µg o 140 µg de vitamina D3 secada por pulverización o 25-hidroxitamina D3 por cápsula. Cada una de las dosis fue consumida oralmente en el desayuno. La duración del estudio fue de cuatro meses para los grupos "Diario" y "Semanal". Los sujetos inscritos en el grupo de "Bolo" consumieron oralmente una dosis única en la segunda visita del estudio.

25 Las concentraciones plasmáticas de 25-hidroxitamina D3 (p. ej., pico y estado estacionario) se determinaron obteniendo muestras de los sujetos en diversos momentos después de ingerir la dosis. Con fines de rastreo y para establecer valores de referencia, se obtuvo una muestra de sangre antes de la inscripción en el estudio y el laboratorio clínico midió vitamina D3, 25-hidroxitamina D3, calcio, creatinina, albúmina y glucosa en ayunas en el suero. El lunes de la Semana 1 del estudio, se evaluaron durante 24 horas la farmacocinética de la vitamina D3 sérica, 25-hidroxitamina D3 y 1,25-dihidroxi vitamina D3; marcadores séricos (es decir, vitamina D3, 25-hidroxitamina D3, calcio, creatinina, albúmina, PTH, GOT, GPT, ALP, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol total, bALP y glucosa en ayunas); y los marcadores de orina (es decir, calcio, creatinina y DPD). Se tomaron muestras diarias de los días restantes de la Semana 1 y el lunes de la Semana 2 para evaluar las vitaminas séricas D3 y 25-hidroxitamina D3, los marcadores séricos (es decir, calcio, creatinina, albúmina) y los marcadores de orina (es decir, calcio, creatinina). Las evaluaciones continuaron el lunes de las Semanas 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15. El lunes de la Semana 16 se tomaron muestras para evaluar la farmacocinética de la vitamina D3 sérica, 25-hidroxitamina D3 y 1,25-dihidroxitamina D3; marcadores séricos (es decir, vitamina D3, 25-hidroxitamina D3, calcio, creatinina, albúmina, PTH, GOT, GPT, ALP, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol total, bALP y glucosa en ayunas); y marcadores de orina (es decir, calcio, creatinina y DPD).

Resultados

La 25-hidroxitamina D3 reduce selectivamente los niveles plasmáticos de eotaxina

40 Veinte mujeres posmenopáusicas sanas con niveles de 25-hidroxitamina D3 por debajo de 25 ng/ml y una edad media de 61,5 años (DE ± 7.2) se inscribieron en este estudio. Los participantes se asignaron al azar a 20 µg de 25-hidroxitamina D3 por vía oral o 20 µg de vitamina D₃ por día de forma doble ciego. En 14 visitas durante 4 meses se midieron los niveles de 25(OH)D y 7 marcadores de inflamación (eotaxina, IL-8, IL-12, IP-10, MCP-1, MIP-1β, RANTES). Todos los análisis se ajustaron según el índice de referencia, la edad y la masa corporal. Los niveles medios de 25(OH)D aumentaron de 13,7 a 69,5 ng/ml en el grupo de 25-hidroxitamina D3 (no mostrado). Para la vitamina D₃, los niveles de 25(OH)D aumentaron de 13,5 a 31,0 ng/ml con un aumento lento con el tiempo. Los niveles de marcadores inflamatorios se determinaron al inicio del estudio y al final del período de seguimiento. Para la mayoría de los marcadores, los niveles de referencia varían considerablemente dentro de una población de individuos sanos (véase, p. ej., Campell et al., Human Immunology vol 62, págs. 668-678, 2001). Sin embargo, aumentan durante los períodos de infección o deterioro de la salud. Por ejemplo, los niveles de eotaxina aumentan significativamente en individuos durante episodios de asma o alergia (Campell et al. International Immunology vol. 14, págs.1255-1262, 2002). Mientras que ambos tipos de complementos de vitamina D contribuyeron a una disminución en 5 de los 7 marcadores de inflamación, solo los niveles de eotaxina se redujeron significativamente más con 25-hidroxitamina D3 en comparación con la vitamina D3 (p = 0,003) al final de la fase

de intervención. Se debe tener en cuenta que se debe considerar que los cambios relativos de diferentes marcadores inflamatorios reflejan un impacto positivo en la salud en lugar de los niveles absolutos, ya que estos dependen de la sensibilidad de los métodos analíticos utilizados.

Los resultados demuestran el efecto selectivo de la 25-hidroxivitamina D3 en los niveles del marcador inflamatorio eotaxina.

5

	Referencia		Diferencia
	Vitamina D ₃	25(OH)D	
Nivel eotaxina en plasma (pg/ml)	27,86 (1,58)	28,23 (1.63)	0,36 (2,31) <i>p</i> = 0,88
Nivel IL-8 en plasma (pg/ml)	2,62 (0,11)	2,97 (0.14)	0,35 (0,18) <i>p</i> = 0,05
Nivel IL-12 en plasma (pg/ml)	4,25 (0,36)	5,81 (0.29)	1,56 (0,47) <i>p</i> = 0,001
Nivel IP-10 en plasma (pg/ml)	292,54 (61,69)	287,76 (60.33)	-4,78 (8,05) <i>p</i> = 0,96
Nivel MCP-1 en plasma (pg/ml)	14,19 (1,21)	14,24 (1.32)	0,05 (1,82) <i>p</i> = 0,98
Nivel MIP-1 β en plasma (pg/ml)	29,17 (1,51)	31,55 (1.69)	2,38 (2,30) <i>p</i> = 0,30
Nivel RANTES en plasma (pg/ml)	34,20 (8,81)	41,63 (8.82)	7,43 (2,86) <i>p</i> = 0,56

	Fin del seguimiento		Diferencia
	Vitamina D ₃	25(OH)D	
Nivel eotaxina en plasma (pg/ml)	30,91 (1,61)	21,07 (1,90)	-9,83 (2,56) <i>p</i> = 0,0002
Nivel IL-8 en plasma (pg/ml)	1,55 (0,12)	1,35 (0,11)	-0,20 (0,16) <i>p</i> = 0,22
Nivel IL-12 en plasma (pg/ml)	2,63 (0,32)	0,98 (0,18)	-1,64 (0,37) <i>p</i> < 0,0001
Nivel IP-10 en plasma (pg/ml)	230,7 (59,8)	279,3 (59,8)	48,60 (86,45) <i>p</i> = 0,57
Nivel MCP-1 en plasma (pg/ml)	12,11 (1,19)	7,68 (1,21)	-4,42 (1,73) <i>p</i> = 0,01
Nivel MIP-1 β en plasma (pg/ml)	25,57 (1,79)	19,85 (1,43)	-5,72 (2,31) <i>p</i> = 0,01
Nivel RANTES en plasma (pg/ml)	26,68 (8,81)	24,47 (8,82)	-2,21 (12,86) <i>p</i> = 0,86

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. 25-OH D3 para uso en reducir los síntomas asociados de una enfermedad o afección caracterizada por niveles incrementados de eotaxina, en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en rinitis alérgica, sinusitis, pólipos nasales, esofagitis eosinofílica, colitis ulcerosa, síntomas gástricos debidos a alergias alimentarias, infecciones parasitarias gástricas y reflujo gastro-esofágico.
2. 25-OH D3 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que se utiliza en combinación con vitamina D.
3. 25-OH D3 para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que es un nutracéutico, alimento o complemento alimenticio.
- 10 4. 25-OH D3 para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en que una dosis diaria única es de 1 µg a 50 µg.
5. 25-OH D3 para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en que una dosis semanal única es de 7 µg a 350 µg.
6. 25-OH D3 para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en que una dosis mensual única es de 30 µg a 1500 µg.