



**NORGE**

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**A61K 31/592 (2006.01)**  
**A61K 31/593 (2006.01)**  
**A61P 43/00 (2006.01)**

## Patentstyret

---

(21)	Oversettelse publisert	2013.06.03
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.01.16
(86)	Europeisk søknadsnr	08837933.4
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.04.25
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.02.03
(30)	Prioritet	2007.04.25, US, 913849 P
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
(73)	Innehaver	Cytochroma Inc., 100 Allstate Parkway, Suite 600, Markham, ON L3R 6H3, Canada
(72)	Oppfinner	PETKOVICH, P., Martin, 3535 Lakeland Point Drive, Kingston, Ontario K7M 4E8, Canada HELVIG, Christian, F., 18 Archer Court, Markham, Ontario L3P 5V8, Canada TABASH, Samir, P., 131 Toscana Drive, Whitby, Ontario L1R 2Z9, Canada
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

---

(54)	Benevnelse	<b>Fremgangsmåte for å behandle vitamin D insuffisiens og mangel</b>
(56)	Anførte publikasjoner	JP-A- 2004 175 750 US-A- 5 403 831 WO-A-2007/047327 BECKMAN M J ET AL: "Up-regulation of the intestinal 1,25-dihydroxyvitamin D receptor during hypervitaminosis D: A comparison between vitamin D2 and vitamin D3" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 169, no. 3, 29 June 1990 (1990-06-29), pages 910-915, XP024837510 ISSN: 0006-291X [retrieved on 1990-06-29] HUNT R D ET AL: "A comparison of the toxicity of ergocalciferol and cholecalciferol in rhesus monkeys (Macaca mulatta)." THE JOURNAL OF NUTRITION AUG 1972, vol. 102, no. 8, August 1972 (1972-08), pages 975-986, XP009114243 ISSN: 0022-3166 SJÖDEN G ET AL: "1 alpha-Hydroxyvitamin D2 is less toxic than 1 alpha-hydroxyvitamin D3 in the rat." PROCEEDINGS OF THE SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE. SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE (NEW YORK, N.Y.) MAR 1985, vol. 178, no. 3, March 1985 (1985-03), pages 432-436, XP009114250 ISSN: 0037-9727

**Område for beskrivelsen**

Beskrivelsen vedrører generelt doseringsformer for reduisering av toksisiteten assosiert med administrering av vitamin D<sub>3</sub>, pro-hormon 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, aktivt hormon 1,25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub>, eller vitamin D<sub>3</sub>-analoger (inkludert hydroksy og dihydroksyformer).

**Bakgrunn**

Vitamin D-metabolitter kjent som 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> (kollektivt referert til som "25-hydroksyvitamin D") er fettoppløselig steroidprohormoner til vitamin D-hormonene som bidrar til opprettholdelsen av normale nivåer av kalsium og fosfor i blodstrømmen. Prohormon 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> blir produsert fra vitamin D<sub>2</sub> (ergokalsiferol) og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> blir produsert fra vitamin D<sub>3</sub> (kolekalsiferol) hovedsakelig av én eller flere enzymer lokalisert i leveren. De to prohormonene kan også bli produsert utenfor leveren fra vitamin D<sub>2</sub> og vitamin D<sub>3</sub> (kollektivt referert til som "vitamin D") i visse celler, så som enterocytter, som inneholder enzymer som er identiske eller like de som finnes i leveren.

Prohormonene blir videre metabolisert i nyrene til potente hormoner. Prohormon 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> blir metabolisert til et hormon kjent som 1 $\alpha$ ,25-dihydroksyvitamin D<sub>2</sub>, likeledes, blir 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> metabolisert til 1 $\alpha$ ,25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> (kalsitriol). Produksjon av disse hormonene fra prohormonene kan også oppstå på utsiden av nyren i celler som inneholder det nødvendige enzymet(ene).

Vitamin D-hormoner har essensielt roller i human helse som blir mediert av intracellulære vitamin D-reseptorer (VDR). Spesielt regulerer vitamin D-hormonene blodkalsiumnivåer ved å kontrollere absorpsjonen av diettkalsium av tynntarmen og reabsorpsjon av kalsium i nyrene. Forhøyede hormonnivåer, enten forbigående eller forlenget, kan føre til unormal forhøyet urinkalsium (hyperkalsiuri), blodkalsium (hyperkalsemi), og blodfosfor (hyperfosfatemi). Vitamin D-hormonene deltar også i reguleringen av cellulær differensiering og vekst, paratyroidhormon (PTH) sekresjon til paratyroidkjertler, og normal bendannelse og metabolisme. Videre er vitamin D-hormoner nødvendig for normal virkning av inuskuloskjeleal, immun, og renin-angiotensinsystemer. En mengde andre roller for vitamin D-hormoner blir postulert og betraktet, basert på den dokumenterte tilstedeværelsen av intracellulær VDR i nesten hvert humant vev og de forskjellige vitamin D-responsive genene.

Virkningene til vitamin D-hormonene på spesifikke vev avhenger av graden som de bindes til (eller okkuperer) intracellulær VDR i disse vevene. Prohormonene 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> har essensielt identiske affiniteter for VDR, som blir beregnet å være minst 100 ganger lavere enn de til vitamin D-hormonene. Som en konsekvens har de fysiologiske konsentrasjonene av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> liten, om noen, biologisk virkning uten tidligere metabolisme til vitamin D-hormoner. Derimot kan suprafysiologiske nivåer av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub>, i området 10 til 1000 ganger høyere enn normalt, tilstrekkelig okkupere VDR for å utøve virkninger som vitamin D-hormonene.

Blodnivåene til både prohormonene og vitamin D-hormonene er normalt konstant i løpet av dagen hvis det gis en vedvarende tilstrekkelig tilførsel av vitamin D fra eksponering for sollys, eller en usupplementert diett. Blodnivåene av 25-hydroksyvitamin D kan derimot øke betraktelig etter administrering av for tiden tilgjengelige vitamin D-supplementer, spesielt i doser som i stor grad overskrider de minimale mengdene nødvendig for å forebygge vitamin D-mangel, rakitt, eller osteomalasi. Prohormonblodnivåene kan også øke betydelig etter hurtig intravenøs administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub>, eller etter administrering av øyeblikkelige frigjøringsformer av disse forbindelsene.

Produksjon av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> reduseres når vitamin D er mangelfullt tilstede, som i tilstander så som vitamin D-insuffisiens eller vitamin D-mangel (alternativt, hypovitaminose D). Lav produksjon av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> fører til lave blodnivåer av 25-hydroksyvitamin D. Utilstrekkelig vitamin D-tilførsel utvikles ofte i individer som ikke hyppig blir eksponert for sollys, har kronisk utilstrekkelig inntak av vitamin D, eller lider av tilstander eller kliniske prosedyrer, så som overvektskirurgi, som resulterer i redusert tarmabsorpsjon av fettløselige vitaminer (så som vitamin D). Det er nylig blitt rapportert at de fleste individer som lever i de nordlige breddegrader har utilstrekkelig vitamin D-tilførsel. Hvis det ikke blir behandlet, kan utilstrekkelig vitamin D-tilførsel forårsake alvorlige benforstyrrelser, inkludert rakitt og osteomalasi, og kan bidra til utvikling av mange andre forstyrrelser, inkludert osteoporose, ikke-traumatiske brudd av ryggrad og hofta, fedme, diabetes, muskelsvakhet, immunmangel, autoimmune forstyrrelser, hypertensjon, psoriasis og forskjellige cancerformer.

The Institute of Medicine (IOM) of the National Academy of Sciences har konkludert med at tilstrekkelig inntak (AI) av vitamin D for friske individer varierer fra 200 til 600 IU pr. dag, avhengig av alderen til individet og kjønn [Standing Committee on Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Dietary reference intakes: calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington, DC: National Academy Press (1997)]. AI for vitamin D ble hovedsakelig definert på grunnlag av et serum 25-hydroksyvitamin D-nivå tilstrekkelig for å forebygge vitamin D-mangel, rakitt eller osteomalasi (eller minst 11 ng/ml). IOM etablerte også et Tolerable Upper Intake Level (UL) for vitamin D på 2000 IU pr. dag, basert på bevis på at høyere doser er assosiert med øket risiko for hyperkalsiuri, hyperkalsemi, og beslektet sequela, inkludert hjertearytmier, slag og generalisert vaskulær og annen bløtvevskalsifikasjon.

For tiden tilgjengelige orale vitamin D<sub>3</sub>-supplementer er langt fra ideelle for en trygg oppnåelse og opprettholdelse av optimal blod 25-hydroksyvitamin D-nivåer. Disse preparatene inneholder typisk 400 IU til 5000 IU av vitamin D<sub>3</sub>, og blir formulert for hurtig eller øyeblikkelig frigjøring i mave-tarmkanalen. Når administrert ved kroniske høye doser, som ofte er nødvendig for vitamin D-overflod, kan disse produktene forårsake toksisitet.

Vitamin D<sub>3</sub>-supplementering over UL er ofte nødvendig i visse individer; men, for tiden tilgjengelige orale vitamin D<sub>3</sub>-supplementer er ikke godt egnet for opprettholdelse av blod 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-nivåer ved optimale nivåer gitt problemene med administrering av høye doser av vitamin D-forbindelse som kan gi opphav til toksisitet.

Administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> kan produsere svingninger eller topper i blod og intracellulære 25-hydroksyvitamin D-nivåer, for derved å fremme toksisitet som manifesteres som hyperkalsemi og hyperkalsiuri.

JP 2004 175750 beskriver sammensetninger som omfatter cholekalsiferol og ergokalsiferol for dermatologisk bruk.

Det er klart at alternative tilnærminger til vitamin D-supplementering er nødvendig for å gi trygghetsproblemer som oppstår med for tiden tilgjengelige orale vitamin D-supplementer.

### Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse vedrører generelt til medikamenter for effektiv og trygg gjenoppretting av blod 25-hydroksyvitamin D til optimale nivåer (definert for pasienter som  $>30$  ng/ml 25-hydroksyvitamin D, eller  $>75$  nmol/ml), og opprettholdelse av blod 25-hydroksyvitamin D-nivåer ved slike optimale nivåer, for forebygging av fallet av blod 25-hydroksyvitamin D-nivåer under slike optimale nivåer, og for forebygging eller behandling av sekundær hyperparatyroidisme.

Omfattende forhøyning av serum 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> kan gi opphav til toksisitet. En manifestering av slik toksisitet fører til forhøyede serumkalsiumnivåer, inkludert hjertearytmier, slag og generalisert vaskulær og andre bløtvevskalsifisering. Foreliggende oppfinnelse er basert på demonstrasjonen at toksisitet assosiert med behandling ved anvendelse av pro-hormon 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> kan bli redusert eller eliminert ved koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>. Oppfinnelsen er også basert på konseptet at koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> sammen med 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> kan mer effektivt forhøye serumnivåene av 25-hydroksyvitamin D, uten å forårsake toksisitet enn administrering av én av disse alene.

Oppfinnelsen vedrører følgelig sammensetninger, doseringsformer og sett som kan bli anvendt for å gjenopprette serum 25-hydroksyvitamin D-nivåene til det normale (minst 30 ng/ml) eller høyere enn normale nivåer på en trygg og effektiv måte, for å forebygge forekomst av alvorligheten av subnormale nivåer av serum 25-hydroksyvitamin D, og/eller for å forebygge eller behandle sekundær hyperparatyroidisme.

I ett aspekt vedrører oppfinnelsen dosering av et individ, et dyr eller en human pasient, med en tilstrekkelig mengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>-supplementer for å redusere vitamin D-toksisitet assosiert med administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-supplementer.

Vitamin D<sub>2</sub>-supplementet kan bli administrert separat eller i kombinasjon i løpet av forløpet av behandling, likeledes kan vitamin D<sub>3</sub>-supplementet bli administrert separat eller i kombinasjon i løpet av behandlingsforløpet. Fortrinnsvis blir vitamin D<sub>3</sub>-supplementet administrert i en terapeutisk effektiv mengde (f.eks. mengde effektiv for å forebygge eller behandle hypovitaminose D og/eller sekundær hyperparatyroidisme), mens vitamin D<sub>2</sub>-supplementet blir administrert i en mengde effektiv for å redusere vitamin D-toksisitet. I noen utførelsesformer muliggjør

administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet i en mengde som normalt vil bli ventet å resultere i negative effekter eller toksisitet. Vitamin D<sub>2</sub>-supplementet og vitamin D<sub>3</sub>-supplementet kan bli administrert i samme eller ved forskjellige veier, f.eks. oralt, intravenøst, topisk, traperitonealt og/eller transdemialt, og i den samme eller annen sammensetning. Vitamin D<sub>2</sub>-supplementet og vitamin D<sub>3</sub>-supplementet kan bli administrert samtidig, eller ved forskjellige, men overlappende tidspunkter i løpet av behandlingsforløpet (f.eks. på alternative dager eller ved forskjellige tider på samme dag). Fortrinnsvis blir vitamin D<sub>2</sub>-supplementet og vitamin D<sub>3</sub>-supplementet administrert på samme dag.

10

I eksempelvis utførelsesformer er forholdet (i vekt eller molaritet) av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet til vitamin D<sub>2</sub>-supplementet i området fra 100:1, 1 til 1,20, f.eks. 75:1, 60:1, 50:1, 40:1, 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1,5:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10 eller 1:15. Idet forhold testet heri var forhold målt i vekt, er molekylvekten til D<sub>2</sub>- og D<sub>3</sub>-forbindelsene som er testet like, det er ventet at aktiviteten er på et molart grunnlag, og følgelig gjelder resultatene likeledes til forhold målt ved molaritet.

15

I én eksempelvis utførelsesform involverer metoden koadministrering eller kombinasjon av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>2</sub> i en enkel kombinert formulering, eller i to separate formuleringer med forskjellige veier som inkluderer, intravenøs, oral, topisk, intraperitoneal og trans-dennal. I en beslektet utførelsesform blir 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> administrert i en terapeutisk effektiv mengde for å øke serum 25-hydroksyvitamin D-nivåer, fortrinnsvis for å øke 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-nivåer til 30 ng/ml eller høyere, og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> blir administrert i en toksisetsreducerende mengde. Koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> sammen med en mengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> kan effektivt forhøye serum 25-hydroksyvitamin D-nivåene med et signifikant redusert nivå av toksisitet eller en lavere risiko for toksisitet sammenlignet med administrering av 25-hydroksyvitamin D alene. Følgelig kan serumnivåene av 25-hydroksyvitamin D bli forøket hurtigere, og på trygg måte, og/eller høyere mengder av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> kan bli administrert.

20

25

30

Ifølge oppfinnelsen blir doser av vitamin D<sub>2</sub>-supplement og vitamin D<sub>3</sub>-supplement administrert sammen eller separat innenfor en tidsramme hvor deres administrering oppnår trygghetsfordelen beskrevet i denne oppfinnelsen. F.eks. kan 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> bli administrert 1 time før, 6 timer senere, 12 timer før, 24 timer før eller 2 dager før administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. Derimot kan 25-

35

hydroksyvitamin D<sub>3</sub> bli administrert 1 time før, 6 timer før, 12 timer før, 24 timer før, eller 2 dager før administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>. Alternativt kan pasienten bli gitt instruksjoner for å innta 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> 1, 2 eller 3 timer pr. uke, og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> 1, 2 eller 3 timer pr. uke, dersom hvert vitamin D<sub>2</sub>-supplement og vitamin D<sub>3</sub>-supplement blir tatt minst én gang (eller to eller tre ganger) pr. uke. 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> eller kombinasjoner derav, eventuelt med andre terapeutiske midler, kan bli administrert i henhold til overnevnte beskrevne utførelsesformer i kumulative doseringsmengder på fra omtrent 1 til 100 µg pr. dag, med foretrukne doseringsmengder på fra omtrent 5 til 50 µg pr. dag, f.eks. omtrent 10 til 25 µg.

I et annet beslektet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen sammensetninger som inneholder både vitamin D<sub>2</sub>-supplementet og vitamin D<sub>3</sub>-supplementet. I noen utførelsesformer er vitamin D<sub>3</sub>-supplementet tilstede i en terapeutisk effektiv mengde, mens vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er tilstede i en toksisitetsreducerende mengde. I noen utførelsesformer er vitamin D<sub>3</sub>-supplementet tilstede i en mengde som, dersom gitt alene, ville bli ventet å resultere i negative effekter eller toksisitet.

I eksempelvis utførelsesformer er sammensetningene en kumulativ enhetsdose (totalmengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> sammen), varierende fra omtrent 100 µg pr. enhetsdose, f.eks. omtrent 10, 25, 50, 75 eller 100 µg pr. enhetsdose. I en annen eksempelvis utførelsesform er sammensetningene en enhetsdose inneholdende omtrent 10, 25, 50, 75 eller 100 µg av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og en ytterligere toksisitetsreducerende mengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>.

I en eksempelvis utførelsesform er en mengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> sammen med 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> inkludert i en formulering, og blir administrert oralt daglig til et menneske eller dyr som trenger behandling. I en annen utførelsesform er en mengde av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> inkludert i en isotonisk steril formulering egnet for intravenøs administrering, og blir gradvis injisert tre ganger pr. uke inn i et menneske eller dyr som trenger behandling.

I et ytterligere annet aspekt omfatter settene ifølge oppfinnelsen en beholder omfattende vitamin D<sub>3</sub>-supplement, eventuelt i en terapeutisk effektiv mengde, og det med vitamin D<sub>2</sub>-supplementet, eventuelt i toksisitetsreducerende mengde merkede instruksjoner som informerer pasienten at negative effekter relatert til administrering

av slikt vitamin D<sub>3</sub>-supplement kan bli redusert ved koadministrering av et vitamin D<sub>2</sub>-supplement.

5 Foregående korte beskrivelse har sammenfattet, generelt, de gjeldende aspektene av oppfinnelsen, og skal virke som et hjelpemiddel for å bedre forstå den mer fullstendige detaljerte beskrivelsen som følger.

Det er videre underforstått at frasen og terminologien anvendt heri er en beskrivelse. Anvendelse av "inkludert", "har" og "omfatter" og variasjoner derav, er heri ment å  
10 omfatte gjenstandene oppført deretter.

### **Kort beskrivelse av tegningene**

Figur 1 viser resultatene av analyse av totale 25-hydroksyvitamin D-nivåer i rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-  
15 hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. I figur 1, \* angir P<0,05, \*\* angir P<0,001, og \*\*\* angir P<0,0001 statistisk signifikans.

Figur 2 viser resultatene av analyse av serumkalsiumnivåer i rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>.  
20

Figur 3 viser resultatene av analyse av CYP25-nivåer i nyren til rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. I figur 3 angir \* P<0,05 statistisk signifikans.

25 Figur 4 viser resultater av analyse av 1,25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> i rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>.

Figur 5 viser resultatater av analyser av nivåene av en metabolitt av 25-hydroksyvitamin D i rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-  
30 hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>.

Figur 6 viser resultatene i en annen studie av analyse av serumkalsiumnivåer i rotter administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-  
35 hydroksyvitamin D<sub>3</sub>.

### **Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen**

Foreliggende oppfinnelse vedrører et medikament for anvendelse for behandling av et



individ, et dyr eller en human pasient som trenger vitamin D-supplementering omfattende tilstrekkelig 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> i en kombinasjon for effektivt og trygt å gjenopprette blod 25-hydroksyvitamin D-nivåene til optimale nivåer (definert for humane individer og pasienter som > 30 ng/ml 25-hydroksyvitamin D), for å opprettholde blod 25-hydroksyvitamin D-nivåene ved slike optimale nivåer, for å forebygge et fall i blod 25-hydroksyvitamin D til suboptimale nivåer, og å forebygge eller behandle sekundær hyperparatyroidisme.

Sammensetninger anvendt og sett ifølge foreliggende oppfinnelse involverer reduksjon eller eliminering av toksisitet assosiert med administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementer ved koadministrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementer. Koadministrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementer sammen med vitamin D<sub>3</sub>-supplementer kan resultere i redusert induksjon av katabolske enzymer så som CYP24, og resulterer derfor i en mer effektiv forhøyning i serumnivåer av total 25-hydroksyvitamin D enn administrering av hver alene. Fortrinnsvis er forholdet mellom vitamin D<sub>3</sub>-supplement og vitamin D<sub>2</sub>-supplement minst 1:1, 1,5:1, 2:1, 3:1, S:I, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1, 75:1, 100:1 eller mer, basert på observasjonen at 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> ser ut til å bli lettere katabolisert til 24,25-dihydroksyvitamin D<sub>2</sub> mens 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> blir metabolisert katabolisert lettere til den aktive 1,25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub>-formen.

Koadministrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplement og vitamin D<sub>2</sub>-supplement kan muliggjøre administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementer i mengder som ellers ville bli betraktet nær til, ved eller over den øvre grensen for kronisk administrering, 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> ukentlige dosering kan bli administrert i en dosering på mer enn 2-6 µg/kg/dag (delt inn i én, to eller tre ganger ukentlige doseringer). Følgelig blir enhetsdoseformer inneholdende mer enn 50 µg av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> betraktet.

Som anvendt heri kan følgende definisjoner bli anvendt for å hjelpe fagpersonen til å forstå oppfinnelsen.

Betegnelsen "koadministrering" er anvendt med hensyn til et vitamin D<sub>2</sub>-supplement eller et vitamin D<sub>3</sub>-supplement betyr at de to midlene blir administrert på en måte som muliggjør at de begge utviser deres respektive farmakologiske effekter i løpet av en overlappende tidsperiode. Midlene kan bli administrert i den samme formuleringen eller i forskjellige formuleringer, på samme tid eller ved forskjellige tider, i samme rute eller ved forskjellige ruter. F.eks. kan koadministrering involvere administrering

av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet ved en tid, f.eks. innen 6 timer, 8 timer, 12 timer, 24 timer (1 dag) eller 2 dager, etter administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet med enten vitamin D<sub>3</sub>-supplementet eller minst én av alle metabolske produkter er detekterbare i serum. Alternativt kan koadministrering involvere administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet ved et tidspunkt, f.eks. i løpet av 6 timer, 8 timer, 12 timer, 24 timer (1 dag) eller 2 dager, følgende administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet med enten vitamin D<sub>3</sub>-supplementet av minst én eller alle metabolske produkter eller detekterbare i serum. I en annen utførelsesform kan pasienten bli gitt generelle instruksjoner for å innta vitamin D<sub>3</sub>-supplementet én, to eller tre timer pr. uke, og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet én, to eller tre ganger pr. uke, dersom hvert vitamin D<sub>2</sub>-supplement og vitamin D<sub>3</sub>-supplement blir inntatt minst én gang (eller to eller tre ganger) pr uke.

Betegnelsen "terapeutisk effektiv mengde" avhenger av pasientens tilstand, og er en mengde som effektivt oppnår en ønsket klinisk effekt, f.eks. for å oppnå en laboratorietestverdi innenfor det normale området, eller det anbefalte området for pasientens tilstand, eller en mengde som effektivt reduserer forekomsten eller alvorlighetsgraden til et klinisk tegn eller et symptom på sykdom. Noen utførelsesformer er en terapeutisk effektiv mengde en mengde som er effektiv gjennomsnittlig for å opprettholde serum 25-hydroksyvitamin D-nivåer eller 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-nivåer på omtrent 30 ng/ml (ekvivalent med omtrent 75 nmol/l) eller høyere. Slike nivåer kan bli opprettholdt i en utvidet periode, f.eks. i det minste 1 måned, i det minste 3 måneder, i det minste 6 måneder, 9 måneder, 1 år eller lengre. I andre utførelsesformer er en terapeutisk effektiv mengde en mengde som er effektiv i gjennomsnittet for å oppnå minst én 15 %, 20 %, 25 % eller 30 % reduksjon i serum paratyroidhormonnivåer (iPTH) fra grunnlinjenivåer uten behandling. I ytterligere andre utførelsesformer er en terapeutisk effektiv mengde en mengde som er effektiv i gjennomsnittet for å nå CKD-stadiespesifikke iPTH-målområder, som for stadie 3 er 35-70 pg/ml (ekvivalent med 3,85-7,7 pmol/l, for stadie 4 er 70-110 pg/ml (ekvivalent med 7,7-12,1 pmol/l), og for stadie 5 er 150-300 pg/ml (ekvivalent med 16,5-33,0 pmol/l) (definert i K/DOQI Guideline nr. 1). Når anvendt i referanse til en mengde av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet, kan "terapeutisk effektiv" referere enten til den effektive mengden av vitamin D<sub>3</sub>-supplement når administrert til alene, eller den effektive mengden av vitamin D<sub>3</sub>-supplement når administrert i kombinasjon med vitamin D<sub>2</sub>-supplementet.

Som anvendt heri betyr betegnelsen "vitamin D-toksisitet" de negative effektene som oppnås fra omfattende administrering av 25-hydroksyvitamin D og omfattende forhøyede 25-hydroksyvitamin D-blodnivåer, inkludert kvalme, oppkast, polyurea, hyperkalsiuri, hyperkalsemi og hyperfosfatemi. I noen utførelsesformer blir toksisitet manifestert ved serumkalsium som øker over 10,2 mg/dl, og/eller serumfosfor som øker over 4,6 mg/dl, og/eller serumkalsium x fosforholdige produkter som øker over 55, og/eller urinkalsium:kreatinforhold som øker over 300 mg/24 timer.

"Vitamin D-insuffisiens og mangel" blir generelt definert å inneha serum 25-hydroksyvitamin D-nivåer under 30 ng/ml (ekvivalent med omtrent 75 nmol/l) (National Kidney Foundation guidelines, NKF, Am. J. Kidney Dis. 42:S1-S202 (2003)).

Dersom ikke annet er angitt, skal "25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>/25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>" omfatte 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, eller en kombinasjon derav.

Dersom ikke annet er angitt er "25-hydroksyvitamin D" ment å referere til 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. kollektivt. F.eks. vil et analysert blodnivå på 25-hydroksyvitamin D inkludere både 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, hvis tilstede.

Betegnelsen "vitamin D<sub>2</sub>-supplement" som anvendt heri refererer til 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> som beholder evnen til å redusere vitamin D-toksisiteten assosiert med administrering av et vitamin D<sub>3</sub>-supplement.

Betegnelsen "vitamin D<sub>3</sub>-supplement" som anvendt heri refererer til 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> som aktiverer vitamin D-reseptoren eller som kan bli metabolsk omdannet i et menneske til en forbindelse som aktiverer vitamin D-reseptoren.

Det er også spesifikt forstått at en hvilken som helst numerisk verdi angitt heri inkluderer alle verdier fra den lavere verdien til den øvre verdien, dvs. alle mulige kombinasjoner av numeriske verdier mellom den laveste verdien og den høyeste verdien oppgitt skal bli betraktet å bli uttrykkelig angitt i denne søknaden. F.eks., dersom et konsentrasjonsområde eller et fordelaktig effektområde er angitt som 1 % til 50 %, er det ment at verdier så som 2 % til 40 %, 10 % til 30 %, eller 1 % til 3 %, osv., er uttrykkelig angitt i denne beskrivelsen. Dette er kun eksempler på hva som er spesifikt ment.

The Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine har bestemt at det er utilstrekkelig vitenskapelige data for å etablere en Recommended Dietary Allowance (RDA) for vitamin D. Istedenfor er det anbefalte inntaket gitt som en Adequate Intake (AI), som representerer det daglige vitamin D-inntaket som bør opprettholde

5 benhelsen og normal kalsiummetabolisme i friske mennesker. AIs blir generelt satt opp for å imøtese eller overgå mengden som er nødvendig for å forebygge vitamin D-mangel rakitt eller osteomalasi (eller  $\geq 11$  ng/ml) i nesten alle medlemmer av en spesifikk alder og kjønnsgruppe. AI for vitamin D kan bli oppført som enten

10 mikrogram ( $\mu\text{g}$ ) eller International Units (IU). Den biologiske aktiviteten på 1  $\mu\text{g}$  vitamin D blir angitt som lik 40 Ius. AIs for vitamin D for nyfødte, barn og voksne er vist nedenfor i tabell 1.

**Tabell 1**

<b>Alder</b>	<b>Barn (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Menn (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Kvinner (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Graviditet (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Diegiving (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>
Fødsel til 13 år	5 (=200 IU)				
14-18 år		5 (=200 IU)	5 (=200 IU)	5 (=200 IU)	5 (=200 IU)
19-50 år		5 (=200 IU)	5 (=200 IU)	5 (=200 IU)	5 (=200 IU)
51-70 år		10 (=400 IU)	10 (=400 IU)		
71+ år		15 (=600 IU)	15 (=600 IU)		

15 The Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine har satt det tolererbare øvre inntaksnivå (UL) for vitamin D til 25  $\mu\text{g}$  (1000 IU) for nyfødte opp til 12 måneders alder, og 50  $\mu\text{g}$  (2000 IU) for barn, voksne, gravide og diegivende kvinner. Generelt er UL satt til et maksimalt daglig inntak som ikke resulterer i negative helseeffekter for vitamin D. Langtids inntak over UL kan øke risikoen for negative helseeffekter.

20 ULs for vitamin D for nyfødte, barn og voksne er det vist nedenfor i tabell 2.

**Tabell 2**

<b>Alder</b>	<b>Menn (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Kvinner (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Graviditet (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>	<b>Diegiving (<math>\mu\text{g}/\text{dag}</math>)</b>
0-12 måneder	25 (= 1000 IU)	25 (= 1000 IU)		
1-13 år	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)		
14-18 år	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)

19+ år	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)	50 (= 2000 IU)
--------	----------------	----------------	----------------	----------------

Andre rapporter indikerer at 95 µg/dag (= 3800 IU) er den laveste dosen hvor en negativ effekt er observert.

5 Sammensetningene og settene ifølge oppfinnelsen er nyttige for behandling av et hvilket som helst individ som trenger vitamin D-supplementering, enten profylaktisk for å forhindre vitamin D-insuffisiens eller mangel, eller terapeutisk for å oppfylle lave serum vitamin 25(OH)D-nivåer til det normale området eller over. Sammensetningene ifølge oppfinnelsen er også nyttige for forebygging eller behandling av sekundær  
10 hyperparatyroidisme som er et resultat av lave vitamin D-nivåer. Generelt indikerer serum 25(OH)D-verdier mindre enn 5 ng/ml alvorlige mangler assosiert med rakitt og osteomalasi. Til tross for at 30 ng/ml er blitt foreslått som den lave enden av det normale området, har senere forskning foreslått at PTH-nivåer og kalsiumabsorpsjon ikke er optimalisert før serum totale 25(OH)D-nivåer når omtrent 40 ng/ml. [Se også  
15 Vieth, R. Prog Biophys Mol Biol. 2006 sep; 92(1):26-32]. Betegnelsen "individ" som anvendt heri inkluderer mennesker, pattedyr (f.eks. hunder, katter, gnagere, sauer, hester, kuer, geiter), veterinær dyr og dyr i zoologiske hager.

Pasienter som trenger vitamin D-supplementering inkluderer friske individer og  
20 individer med risiko for vitamin D-insuffisiens eller mangel, f.eks. individer med stadie 1, 2, 3, 4 eller 5 kronisk nyresykdom; nyfødte, barn og voksne som ikke drikker vitamin D-forsterket melk (f.eks. laktoseintolerante individer, individer med melkeallergi, vegetarianere som ikke konsumerer melk, og diende nyfødte); individer med rakitt; individer med mørk hud (f.eks. i USA, 42 % av afrikanske amerikanske  
25 kvinner mellom 15 og 49 år gamle var vitamin D-manglende sammenlignet med 4 % av hvite kvinner); eldre (som har en redusert evne til å syntetisere vitamin D i huden i løpet av eksponering for sollys, og som er mer sannsynlig for å oppholde seg innendørs); institusjonaliserte voksne (som det er sannsynlig at oppholder seg innendørs, inkludert individer med Alzheimers sykdom eller mentalt syke); individer  
30 som dekker all eksponert hud (så som medlemmer av visse religioner eller kulturer); individer som alltid anvender solkrem (f.eks. anvendelse av solkrem med en solbeskyttelsesfaktor (SBF) på 8 reduserer produksjonen av vitamin D med 95 %, og høyere SPF kan videre redusere kutan vitamin D-produksjon); individer med fettmalabsorpsjonssyndromer (inkludert, men ikke begrenset til, cystisk fibrose,  
35 kolestatisk leversykdom, andre leversykdommer, galleblæresykdom, pankreatisk enzyzmangler, Crohns sykdom, inflammatorisk tarmsykdom, sprue eller

celiaksykdom, eller kirurgisk fjerning av del eller hele maven og/eller tarmen); individer med inflammatorisk tarmsykdom; individer med kretinsykdom; individer som har "small bowel resections; individer med gum sykdom; individer som inntar medisinerings som øker katabolismen av vitamin D, inkludert fenytoin, fosfenytoin, fenobarbital, karbamazepin og rifampin; individer som inntar medisinerings som 5 reduserer absorpsjon av vitamin D, inkludert kolestyramin, kolestipol, orlistat, mineralolje og fettsubstituent; individer som inntar medisinerings som hemmer aktivering av vitamin D, inkludert ketokanazol; individer som inntar medisinerings som øker kalsiumabsorpsjonen, inkludert kortikosteroider; individer med fedme 10 (vitamin D-deponeringer i kroppsfettlagre er mindre biotilgjengelige); individer med osteoporose og/eller postmenopausale kvinner. Ifølge Institute of Medicine's report on the Dietary Reference Intakes for vitamin D, foreslår matkonsumdata at middels inntak av vitamin D for både yngre og eldre kvinner er under for tiden det som blir anbefalt; og data foreslår at mer enn 50 % av yngre og eldre kvinner inntar ikke de 15 anbefalte mengdene av vitamin D. Eventuelt ekskludert fra metodene ifølge oppfinnelsen er terapeutisk behandling av individer som lider av nyreosteodystrofi (inkludert osteomalasi og osteitis fibrosa cystica).

I andre aspekter er sammensetningene ifølge oppfinnelsen nyttig for profylaktisk eller 20 terapeutisk behandling av vitamin D-responsive sykdommer, dvs. sykdommer hvor vitamin D, 25(OH)D eller aktivt vitamin D (f.eks. 1,25(OH)<sub>2</sub>D) forebygger begynnelsen eller progresjonen av sykdom, eller reduserer symptomer på sykdom. Slike vitamin D-responsive sykdommer inkluderer cancer (f.eks. bryst-, lunge-, hud-, melanom- tarm-, 25 kolorektal-, rektal-, prostata og bencancer). 1,25(OH)<sub>2</sub>D er blitt observert å indusere celledifferensiering og/eller inhibere celleproliferasjon in vitro for et antall celler. Vitamin D-responsive sykdommer inkluderer også autoimmune sykdommer, f.eks. type I diabetes, multippel sklerose, reumatoid artritt, polymyositt, dermatomyositt, skleroderm, fibrose, Graves sykdom, Hashimotos sykdom, akutt eller kronisk transplantatavstøtning, akutt eller kronisk graft versus host sykdom, inflammatorisk 30 tarmsykdom, Crohns sykdom, systemisk lupus erytematose, Sjøgrens syndrom, eksem og psoriasis, dermatitt, inkludert atopisk dermatitt, kontaktdermatitt, allergisk dermatitt og/eller kronisk dermatitt. Vitamin D-responsive sykdommer inkluderer også andre inflammatoriske sykdommer, f.eks., astma, kronisk obstruktiv lungesykdom, polycystisk nyresykdom (PKD), polycystisk ovariesyndrom, pankreatitt, nefritt, 35 hepatitt og/eller infeksjon. Vitamin D-responsive sykdommer er også blitt rapportert å inkludere hypertensjon og kardiovaskulære sykdommer. Foreliggende oppfinnelse betrakter derfor profylaktisk eller terapeutisk behandling av individer som lider av

kardiovaskulære sykdommer, f.eks. individer med aterosklerose, arterosklerose, koronar arteriesykdom, cerebrovaskulær sykdom, perifer vaskulær sykdom, myokardial infarkt, myokardial ischemi, cerebral ischemi, slag, kongestiv hjertesvikt, kardiomyopati, fedme eller andre vektforstyrrelser, lipidforstyrrelser (f.eks. 5 hyperlipidemi, dyslipidemi inkludert assosiert diabetisk dyslipidemi og blandet dyslipidemi hypoalipoproteinemi, hypertriglyseridemi, hyperkolesterolemi og lav HDL (høy tetthet lipoprotein)), metabolske forstyrrelser (f.eks. metabolisk syndrom, type II diabetes mellitus, type I diabetes mellitus, hyperinsulinemi, redusert glukosetoleranse, insulinresistens, diabetisk komplikasjon inkludert nevropati, 10 nefropati, retinopati, diabetiske fotsår og katarakter), og/eller trombose.

Foreliggende oppfinnelse inkluderer sammensetning som omfatter orale, intravenøse og topiske formuleringer av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og 15 anvendelser av administrering av slike formuleringer for å behandle 25-hydroksyvitamin D-insuffisiens og mangler, uten å forårsake alvorlige bieffekter assosiert med vitamin D-supplementering, dvs. vitamin D-toksisitet.

Sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter meget stabile farmasøytiske formuleringer, hvori 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> 20 er inkorporert for hensiktsmessig daglig oral administrering. De beskrevne sammensetningene produserer vedvarende blodnivåer av 25-hydroksyvitamin D med dobbelt uventede fordeler med kontinuerlig jevn administrering over en forlenget tidsperiode med uovertruffen effektivitet når det gjelder gjenoppretting av blod 25-hydroksyvitamin D til optimale nivåer, og uovertruffen trykklighet i forhold til tidligere 25 kjente formuleringer av vitamin D eller 25-hydroksyvitamin D.

I en annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen kan sterile, isotone formuleringer av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> kombinert med 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> bli dannet som er egnede for intravenøs administrering. Slike formuleringer blir dannet ved oppløsning av 25- 30 hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> i absolutt etanol, propylenglykol og andre egnede løsningsmidler, og kombinerer av de resulterende løsningene med overflateaktive midler, salter og konserveringsmidler i hensiktsmessige volumer av vann for injeksjon. Slike formuleringer kan bli administrert øyeblikkelig, sakte fra sprøyter via heparinsperreinnretninger, eller ved tilsetning til større volumer av sterile 35 løsninger (f.eks. saltløsning) som blir jevnlig infusert over tid.

Doseringsformene kan også inneholde adjuvans, så som konserverende eller stabiliserende adjuvans. De kan også inneholde andre terapeutiske verdifulle substanser, eller kan inneholde mer enn én av forbindelsene spesifisert heri, og i kravene i sammenblanding.

5

Fortrinnsvis kan kombinasjoner av vitamin D<sub>2</sub>-supplement og vitamin D<sub>3</sub>-supplement sammen med andre terapeutiske midler bli administrert oralt eller intravenøst, i henhold til ovenfor angitte utførelsesformer i doseringsmengder på fra 1-200 mcg pr. dag, idet foretrukne dosering utgjør totalt fra 5-100 mcg pr. dag. Dersom

10

forbindelsene ifølge oppfinnelsen blir administrert i kombinasjon med andre terapeutiske midler, vil andelene av hver av forbindelsene i kombinasjonen som blir administrert være avhengig av den bestemte sykdomstilstanden som blir adressert.

15

F.eks., man kan velge å oralt administrere vitamin D<sub>2</sub>-supplementet og vitamin D<sub>3</sub>-supplementet med én eller flere kalsiumsalter (ment som et kalsiumsupplement eller dietær fosfatbinder), bifosfonater, kalsimimetika, nikotinsyre, jern, fosfatbindere,

15

aktive vitamin D-steroler, glykemiske og hypertensjonskontrollmidler, og forskjellige antineoplastiske midler. I tillegg kan man velge å administrere intravenøst 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> eller 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> og

20

ergokalsiferol, eller 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og ergokalsiferol, med aktive vitamin D-steroler, glykemiske og hypertensjonskontrollmidler, og forskjellige antineoplastiske midler. I praksis blir høyere doser av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse

20

anvendt når terapeutisk behandling av en sykdomstilstand er den ønskede enden, mens lavere doser generelt blir anvendt for profylaktiske formål, idet det er

25

underforstått at den spesifikke doseringen som blir administrert i et gitt tilfelle vil bli justert i henhold til de spesifikke forbindelsene som blir administrert, sykdommen som blir behandlet, tilstanden til individet, og de andre relevante medisinske faktaene som kan modifisere aktiviteten av medikamentet, eller responsen til individet, og som er velkjent for fagfolk innenfor dette området.

25

30

Inklusjonen av en kombinasjon av vitamin D<sub>3</sub>-supplement og vitamin D<sub>2</sub>-supplement i de ønskede leveringssystemer muliggjør at de resulterende formuleringene er nyttige i å både understøtte både vitamin D<sub>3</sub> og vitamin D<sub>2</sub> endokrine systemer. For tiden tilgjengelige orale vitamin D-supplementer, og tidligere markedsførte oral formulering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> er understøttet kun det ene eller det andre systemet.

35

#### EKSEMPEL 1

Koadministrering av forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-



hydroksyvitamin D<sub>2</sub> lindrer toksisitet observert ved behandling med 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene.

5 For å undersøke reduksjonen av toksisiteten assosiert med koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> med 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> sammenlignet med 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene, blir 90 hann Sprague-Dawley rotter behandlet intravenøst i fem påfølgende dager med forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>. En dag før initiering av studien blir rotter tilfeldig selektert, tildelt grupper og behandlet som følger i tabell 3:

10

**Tabell 3**

Gruppe	25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> dosering (µg/kg)	25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> dosering (µg/kg)	Antall dyr/kjønn	Dosevolum (ml/kg)	Frekvens av dosering	Blod-takningstid (t)
1	0	0				
2	0,1	0	6 hanner	0,8	én gang Pr. dag i 5 dager, i.v.	Pre-Dosering, 24 t (dag 2) og 120 T (dag 6)
3	0,3	0				
4	1,6	0				
5	6	0				
6	0	0,3				
7	0,1	0,3				
8	0,3	0,3				
9	1,6	0,3				
10	6	0,3				
11	0	6				
12	0,1	6				
13	0,3	6				
14	1,5	6				
15	6	6				

15

For hver behandlingsdag til hvert dyr ble det hensiktsmessige materialet administrert i.v. Daglige behandlinger ble utført innenfor et 3 t vindu på hver dag. På første behandlingsdag (pre-dose) og ved 24 timers tidspunkter på dag 2 før andre doseadministrering (0 er tidspunkt for første injeksjon), ble blod (~ 1 ml) samlet fra jugularvenekateteret fra dyr i gruppe 1 til 15 inn i ikke-konserverte rør. Serumet ble

separert ut, overført i nye rør som øyeblikkelig ble frosset ved omtrent  $-80^{\circ}\text{C}$ . Før  
ofring av alle dyrene ved 120 timer på dag 6 blod ( $\sim 2$  ml) samlet inn i ikke-  
konserverte rør fra jugularvenekateteret for alle dyr. Serumet ble separert ut, overført  
inn i nye rør, og øyeblikkelig frosset ved omtrent  $-80^{\circ}\text{C}$ . Videre, på dag 6, ved 120  
5 timer (24 timer etter siste dosering), ble alle dyrene avlivet ved  
karbondioksidinhalering, total blod ble samlet ved hjertepunktur. Blodet ble plassert i  
det ikke-konserverte (dvs. "red-stoppered") rør. Serumet ble separert, overført til nye  
rør (1 ml aliquoter) og øyeblikkelig frosset ved omtrent  $-80^{\circ}\text{C}$ . Alle dyrene ble  
deretter utsatt for nekroskopi. For å unngå autolytiske forandringer, ble  
10 nekroskopiundersøkelse av kadavre utført så fort som mulig. For hvert dyr bestod  
nekropsien av en ytre undersøkelse, inkludert referanse til alle kliniske registrerte  
lesjoner, i tillegg til indre "abbreviated" undersøkelser.

Konsentrasjonen av total 25-hydroksyvitamin D ved 120 timer etter opprinnelig dose  
15 ble bestemt i serumprøver ved anvendelse av en høytytelse væskechromatografimetode  
ved anvendelse av tandemmassespektrometrideteksjon. Metoden ble anvendt for å  
bestemme de individuelle konsentrasjonene av 25-hydroksyvitamin  $\text{D}_3$  og 25-  
hydroksyvitamin  $\text{D}_2$  i serum, og det totale ble bestemt som en sum av  
konsentrasjonene. 24 timer etter den endelige dosen ble serum som ble samlet fra  
20 dyrene analysert for forandringer i nivåer av 25-hydroksyvitamin  $\text{D}_3$ , 25-  
hydroksyvitamin  $\text{D}_2$  og deres metabolitter.

CYP24-induksjon ble målt i nyrene som følger: en åttendedel ( $1/8$ ) av nyren ble kuttet  
opp og homogenisert for RNA-isolering ved anvendelse TRIzol-metoden. Etter cDNA-  
25 syntese, ble nivåene av Cyp24 mRNA evaluert, og normalisert til Gadph mRNA, ved  
anvendelse av en spesifikk CY24-probe ved reell tid RT-PCR.

Figur 1, 25-hydroksyvitamin D-nivåer, viser forhøyning i total serum 25-  
hydroksyvitamin D når rottene blir administrert enten 25-hydroksyvitamin  $\text{D}_3$  enten  
30 alene eller i kombinasjon med den indikerte doseringen, daglig i en periode på 5  
dager.

Tabell 4, vist nedenfor, indikerer de observerte funnene ved gross nekroskopi av  
dyrene etter 5 dagers doseringsstudie. Alvorlige tegn på toksisitet (blod i lungene) ble  
35 observert kun i gruppen av dyrene som mottok den høyeste dosen av 25-  
hydroksyvitamin  $\text{D}_3$  ( $6 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) alene.

**Tabell 4**

Gruppe	5-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (µg/kg)	5-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (µg/kg)	Gross nekroskopi-funn
1	0	0	Ingen
2	0,1	0	Ingen
3	0,3	0	Ingen
4	1,6	0	Ingen
5	6	0	Ingen
6	0	0,3	Ingen
7	0,1	0,3	Ingen
8	0,3	0,3	Ingen
9	1,6	0,3	Ingen
10	6	0,3	Ingen
11	0	6	4/6 dyr hadde blod i lungen
12	0,1	6	Ingen
13	0,3	6	Ingen
14	1,6	6	Ingen
15	6	6	Ingen

Figur 2, serumkalsiumnivåer, viser det høyeste oppnådde nivået av serumkalsium ble observert i gruppe 11, som mottok kun 6 µg/kg 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene. Disse dyrene led også av tegn på toksisitet etter grossnekroskopi. Toksisiteten ble redusert eller eliminert ved koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, selv når totale 25-hydroksyvitamin D-doseringsnivåer overskred 6 µg/kg.

Resultatene av denne studien inkluderer at toksisitet assosiert med 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-dosering inkludert forhøyning i serumkalsium, kan bli redusert eller eliminert ved koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>. Selv en liten del (1:60) av tilsatt 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> kan signifikant redusere forhøyninger av serumkalsium forårsaket av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. I de mest ekstreme eksemplene viste dyr administrert 6 µg/kg 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> over en 5 dagers behandlingsperiode hyperkalsemi med 4 av 6 dyr behandlet utviste blod i lungevev ved nekropsi. Det var overraskende at dersom dyrene ble koadministrert 0,1 µg/kg 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> med 6µg/kg 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, tilnærmet serumkalsiumnivåene seg det normale, og dyrene utviste ingen tegn på toksisitet. Fordelene med trygghet ble opprettholdt selv når dyrene ble administrert en total mengde av 25-hydroksyvitamin D, som var det doble av mengden av 25-

hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, som induserer toksisitet (6 µg/kg/dag 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 6 µg/kg/dag 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>). Disse studiene demonstrerer anvendbarheten av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> som et beskyttende middel i 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>-terapi.

- 5 Data i figur 3 indikerer at koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> resulterer i mindre oppregulering av CYP24 sammenlignet med administrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene. Følgelig foreslår dataene at koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> sammen med 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> kan mer effektivt forhøye serumnivåene av 25-hydroksyvitamin D, enn administrering av  
10 én av disse alene.

#### EKSEMPEL 2

- En annen studie av koadministrering av forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> forhøyet toksisiteten observert ved  
15 behandling ved 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene.

- En annen studie ble utført for å vurdere effektene av koadministrering av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> med 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> sammenlignet med 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene på 102 hann Sprague-Dawley rotter. Rotter i alder 3 dager  
20 med vekt på omtrent 175-250 g, ble delt inn i grupper på seks hannkjønn i hver. Gruppene ble administrert forskjellige kombinasjoner av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> intravenøst (eller det samme volumet av kontrollbæreren) én gang daglig via jugularvenekateteret, i fem påfølgende dager, ifølge tabell 5 nedenfor.

25 **Tabell 5**

Behandlingsgruppe (µg/kg)	Antall dyr/kjønn	Rotte	Dosevolum (ml/kg)	Frekvens av dosering
1. Bærer	6 hann-kjønn	Normal med et jugularvenekateter	0,8	én gang Pr. dag i 5 dager, i.v. via jugularvenekateter
2. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4)				
4. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (0,2)				
5. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (0,4)				
6. 25-hydroksyvitamin				

D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (0,8)				
7. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (1,6)				
8. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (2,4)				
9. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (3)				
10. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (4) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (4)				
11. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (0,4)				
12. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (0,8)				
13. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (1,6)				
14. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (3,2)				
15. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydroksyvitamin D <sub>2</sub> (4,8)				
16. 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (8)				

+ 25-hydrokseyvitamin D <sub>2</sub> (6)				
17. 25-hydrokseyvitamin D <sub>3</sub> (8) + 25-hydrokseyvitamin D <sub>2</sub> (8)				

Dosering ble utført ved lignende tidspunkter hver dag, innenfor et tidsvindu på tre dimter siden siste dose. Blod ble oppsamlet på dag 0 (første behandlingsdag) for analyse, og dyrene ble registrert to ganger daglig. Dyr fra alle grupper ble avlivet på dag 5. 24 timer etter siste dose, og blod ble oppsamlet ved hjertepunktur. Alle dyrene ble utsatt for forkortet nekroskopi.

Serumkalsiumnivåene til rottene på dag 5 av behandlingen er vist i figur 6, og bekrefter data beskrevet ovenfor i eksempel 1. F.eks. resulterte doser på 4 µg/kg eller 8 µg/kg 25-hydrokseyvitamin D<sub>3</sub> alene i hyperkalsemi, mens en kombinert dose av 8 µg/kg og 8 µg/kg 25-hydrokseyvitamin D<sub>3</sub> med 25-hydrokseyvitamin D<sub>2</sub> resulterte i normale serumkalsiumnivåer, som indikerer at inkludering av 25-hydrokseyvitamin D<sub>2</sub> hadde evne til å lindre toksisiteten assosiert med 25-hydrokseyvitamin D<sub>3</sub>.

### 15 EKSEMPEL 3

Effektivitets- og trygghetsstudier i avanserte prostatacancerpasienter behandlet med høydoseformuleringer av vitamin D-hormon.

Effektiviteten og tryktheten til en oral preparering av 25-hydrokseyvitamin D<sub>2</sub> blir undersøkt i en 3 måneders studie av pasienter med fremadskredet prostatacancer som blir behandlet med høydose kalsitriol én gang pr. uke. I denne studien ble 25-hydrokseyvitamin D<sub>2</sub> formulert i bløtgelatinkapsler. 40 pasienter med fremskredet prostatacancer som gjennomgår behandling med høydose kalsitriol og docetaxel ble delt inn i to like grupper. Sammen med ukentlige kalsitrioldoser mottok gruppe nr. 1 mellom 2-20 mg 25-hydrokseyvitamin D<sub>2</sub>, mens gruppe nr. 2 mottok placebo. Før innlemming tilveiebringer alle individene to fastende morgenblodprøver, separert med minst én uke, for å etablere forbehandling grunnlinjeverdier av serumkalsium, plasma intakt PTH, og serum 25-hydrokseyvitamin D. Ytterligere fastende blodprøver og 24-timers urinoppsamlinger blir oppnådd fra hvert individ 24 t etter administrering av den ukentlige administrering av kalsitriol, for bestemmelse av serumkalsium og serum 25-hydrokseyvitamin D. I løpet av studien innlemmes alle individene til et daglig inntak på

omtrent 1000 til 1500 mg elementkalsium (fra selvvalgte dietter og kalsiumsupplementer, etter behov), under pågående overvåkning av en dietetiker. Ved endt studie blir laboratoriedataene analysert av behandlingsgruppen og av testformuleringen etter hensiktsmessig korreksjon for grunnlinjeverdier. Alle gruppene ble ventet å ha sammenlignbare gjennomsnittlige grunnlinjeverdier for 25-hydroksyvitamin D (område: 10,7 til 20,9 ng/ml) og serumkalsium (område 8,72 til 9,31 mg/dl). Forøkte laboratoriegjennomsnittlige verdier for serumkalsium er ventet å bli observert i placebo (kontrollgruppen) i løpet av forløpet av studien, men, mye lavere forandringer i serumkalsiumnivåer (f.eks., ingen forandring eller redusert økning) er ventet å bli observert i behandlingsgruppen. Individuer i behandlingsgruppen mottok 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> er ventet å utvise progressiv økning av serum 25-hydroksyvitamin D-nivåene i løpet av de første 2 månedene av doseringen, og oppnår lineære stadienivåer deretter. Episoder med hyperkalsemi, definert som serumkalsemi over 10,2 mg/dl, er ventet å bli mer hyppig observert i placebogruppen enn i behandlingsgruppen. Dataene i denne studien er ventet å demonstrere at forhøyning i serumkalsium ved behandling av prostatacancerpasienter med høydeose kalsitriol kan bli kontrollert eller lindret sammen med tilsetning av 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> til behandlingsregimet.

#### 20 EKSEMPEL 4

Effektivitets- og trykkeketsstudie i pasienter med ende-stadie nyresykdom utvisende vitamin D-mangel.

Effektivitet og trggheten til en intravenøs 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>/25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>-kombinasjon for gjenopprettelse av serum 25-hydroksyvitamin D til optimale nivåer (> 30 ng/ml) blir undersøkt i en 3-måneders studie av pasienter med endestadie nyresykdom (ESRD) som krever jevn hemodialyse og diagnose med vitamin D-insuffisiens. Formuleringene som blir undersøkt i denne studien er vandige isotone og sterile løsninger inneholdende enten 20 mcg 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene (testpreparering nr. 1), eller i kombinasjon med 10 mcg 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> (testpreparering nr. 2). Totalt 75 friske kaukasiske, asiatiske, latinamerikanske ("Hispanic") og afrikansk-amerikanske individer deltar i denne studien, alle som er minst 4-måneder på jevn hemodialyse, og har serum 25-hydroksyvitamin D-nivåer under 15 ng/ml. Før innlemming i studien tilveiebringer alle individene to fastende morgenblodprøver, separert med minst én uke, for å etablere 35 forbehandlingsgrunnlinjeverdier av serumkalsium, plasmaintaks PTH, og serum 25-hydroksyvitamin D. På morgenen på dag 1 blir individene tilfeldig oppdelt i én av tre

behandlingsgrupper, og de begynner med tre ukentlige doseringer med testpreparering nr. 1 eller nr 2, eller med en tilpasset placebo. All dosering foregår i løpet av hemodialysesesjoner jevnlig oppstilt, og blir oppnådd ved jevnlig injeksjon (over en periode på 1 til 5 minutter) inn i blodet uttatt fra hemodialysemaskinen.

5 Ytterligere fastende blodprøver og 24-timers urinsamlinger blir oppnådd fra hvert individ i kvartalsintervaller for bestemmelse av serumkalsium, plasmaintak PTH, og serum 25-hydroksyvitamin D. I løpet av studien innlemmes individene til et daglig inntak på omtrent 1000 til 1500 mg elementkalsium (fra selvvalgte dietter og kalsiumsupplementer, etter behov), under pågående observasjon av en dietetiker.

10 Etter endt studie blir laboratoriedataene analysert av behandlingsgruppen og av testformuleringen, etter hensiktsmessig korreksjon for grunnlinjeverdier. Alle gruppene er ventet å ha sammenlignbare gjennomsnittlige grunnlinjeverdier for serum 25-hydroksyvitamin D (område: 10,7 til 11,9 ng/ml), plasmaintakt PTH (område: 45,3 til 52,1 pg/ml), og serumkalsium (område: 8,72 til 9,31 mg/dl). Ingen signifikante

15 forandringer i noen av laboratoriegjennomsnittlige verdier er ventet å bli observert i placebo (kontroll) gruppen, i løpet av forløpet av studien. Individuer i begge behandlingsgruppene mottok 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene, eller 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>/25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>-kombinasjonen er ventet å utvise progressiv økning av serum 25-hydroksyvitamin D-nivåer i løpe av de første 3 månedene av doseringen, for

20 oppnåelse av lineære nivåer deretter. Gjennomsnittlig serumkalsium er ventet å øke signifikant fra grunnlinjen i behandlingsgruppen som mottar 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og er ventet å være betydelig høyere enn de som er observert i placebogruppen. Individuer i behandlingsgruppen som mottar 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>/25-

25 hydroksyvitamin D<sub>2</sub>-kombinasjonen er ventet å utvise serumkalsiumnivåer som er betydelig lavere enn de observert for 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> alene behandlingsgruppen, men ikke betydelig forskjellig enn de observert i placebogruppen. Episoder med hyperkalsemi, definert som serumkalsium over 10,2 mg/dl, er ventet å bli hyppig observert i behandlingsgruppen som kun mottar 25-

30 hydroksyvitamin D<sub>3</sub>. Data fra denne studien er ventet å demonstrere at den intravenøse formuleringen av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> kombinert med 25-

hydroksyvitamin D<sub>2</sub> er lik eller mer effektiv for å øke serum 25-hydroksyvitamin D enn den omfattende kun 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> uten å forårsake betydelig forhøyning av serumkalsiumnivåene. Konklusjonene fra studien er ventet å understøtte at

35 kombinerings av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> og 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub> er den trygge veien for å øke serum 25-hydroksyvitamin D-nivåene-



## PATENTKRAV

1. Medikament som omfatter et vitamin D<sub>3</sub>-supplement og et vitamin D<sub>2</sub>-supplement for koadministrering til et individ for anvendelse i behandling av nevnte individ, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementene er 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>.  
5
2. Medikament som omfatter et vitamin D<sub>3</sub>-supplement for anvendelse i behandling av et individ, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet er for koadministrering til et individ med et vitamin D<sub>2</sub>-supplement, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, og hvor koadministreringen involverer at de to supplementene blir administrert på en måte som muliggjør at de begge utviser deres respektive farmakologiske effekter i løpet av en overlappende tidsperiode, og som derfor involverer administrering av supplementene enten (a) på samme tid, eller (b) ved forskjellige tidspunkter i løpet av et behandlingsforløp, men ved at et supplement blir administrert mens det andre supplementet, eller minst ett av dets metabolske produkter, er detekterbar i serum.  
10  
15
3. Medikament som omfatter et vitamin D<sub>2</sub>-supplement for anvendelse for behandling av et individ, hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er for koadministrering til et individ, med et vitamin D<sub>3</sub>-supplement, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, og hvor koadministreringen involverer at de to supplementene blir administrert på en måte som muliggjør at de begge utviser deres respektive farmakologiske effekter i løpet av en overlappende tidsperiode, og som derfor involverer administrering av supplementene enten (a) på samme tid, eller (b) ved forskjellige tidspunkter i løpet av et behandlingsforløp, men idet et supplement blir administrert mens det andre supplementet, eller minst ett av dets metabolske produkter, er detekterbart i serum.  
20  
25
4. Medikament for anvendelse ifølge krav 1, 2 eller 3, omfattende administrering av en terapeutisk effektiv mengde av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet, og administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet i en mengde som er effektiv for å redusere vitamin D-toksisitet.  
30
5. Medikament for anvendelse ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor forholdet mellom vitamin D<sub>3</sub>-supplementet og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er i et område på 100:1 til 1:20; hvor eventuelt forholdet mellom vitamin D<sub>3</sub>-  
35

supplementet og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er minst 1:1; slik som minst 1,5:1; eller minst 2:1.

5 6. Medikament for anvendelse ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor administreringen er av 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> i en mengde som er større enn 2 µg/kg/dag.

10 7. Medikament for anvendelse ifølge hvilke som helst av de foregående kravene, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet blir administrert innenfor seks timer av hverandre; hvor eventuelt administreringen involverer (i) først administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet, og deretter administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet ved et tidspunkt når verken vitamin D<sub>3</sub>-supplementet eller et metabolsk produkt derav er detekterbart i serum; eller (ii) først administrering av vitamin D<sub>2</sub>-supplementet, og deretter administrering av vitamin D<sub>3</sub>-supplementet ved et tidspunkt  
15 når enten vitamin D<sub>2</sub>-supplementet eller et metabolsk produkt derav, er detekterbart i serum.

20 8. Medikament for anvendelse ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor  
(a) administrering av nevnte vitamin D-supplement er til en pasient diagnostisert med vitamin D-insuffisiens og/eller mangel; og/eller  
(b) administrering av nevnte vitamin D-supplement er i en mengde tilstrekkelig for å øke og/eller opprettholde serum 25-hydroksyvitamin D-nivået i individet på  
25 minst 30 ng/ml.

9. Medikament for anvendelse ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvor individet er et menneske.

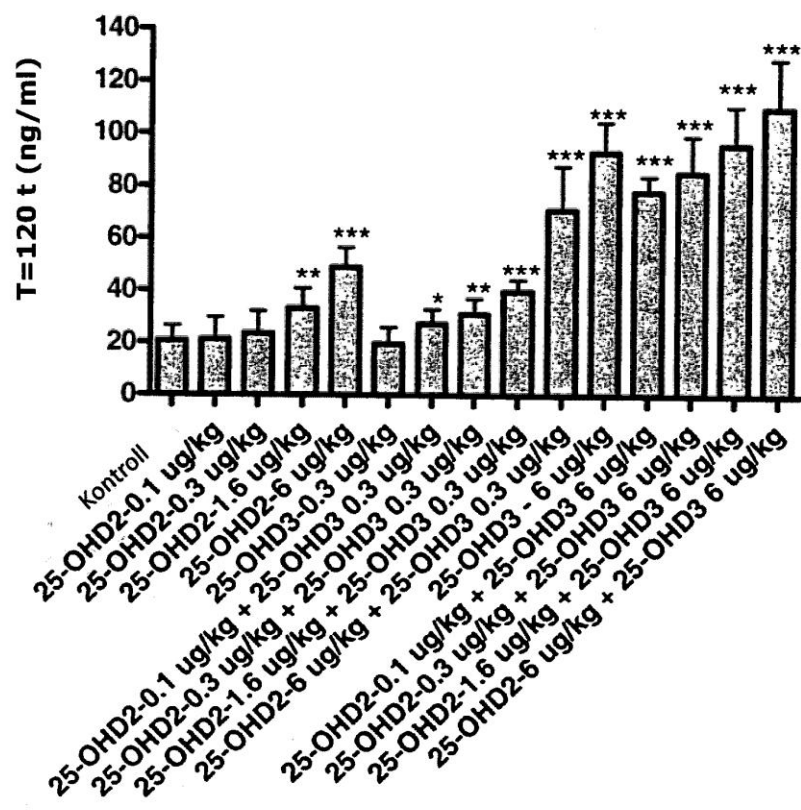
30 10. Sammensetning, omfattende en enhetsdoseform omfattende et vitamin D<sub>3</sub>-supplement som er 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> i en mengde som er høyere enn 50 µg, et vitamin D<sub>2</sub>-supplement som er 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>, og en farmasøytisk akseptabel eksipient.

35 11. Sammensetning ifølge krav 10, hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er tilstede i en mengde som er effektiv for å redusere vitamin D-toksisiteten.

12. Sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 10 eller 11, hvor forholdet mellom vitamin D<sub>3</sub>-supplementet og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er i området på 100:1 til 1:20.
- 5 13. Sammensetning ifølge krav 12, hvor forholdet mellom vitamin D<sub>3</sub>-supplementet og vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er minst 1:1; slik som minst 1,5:1; eller minst 2:1.
14. Sett, omfattende minst ett av et vitamin D<sub>3</sub>-supplement og et vitamin D<sub>2</sub>-supplement, og instruksjoner for koadministrering av supplementene til et individ, hvor vitamin D<sub>3</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub>, og hvor vitamin D<sub>2</sub>-supplementet er 25-hydroksyvitamin D<sub>2</sub>.
- 10
15. Sett ifølge krav 14, hvor:
- (a) settet videre omfatter instruksjoner for å administrere supplementene til et
- 15 humant individ; og/eller
- (b) settet videre omfatter instruksjoner for å administrere supplementene til en pasient diagnostisert som vitamin D-insuffisient og/eller mangel; og/eller
- (c) minst ett av supplementene er i enhetsdoseform.

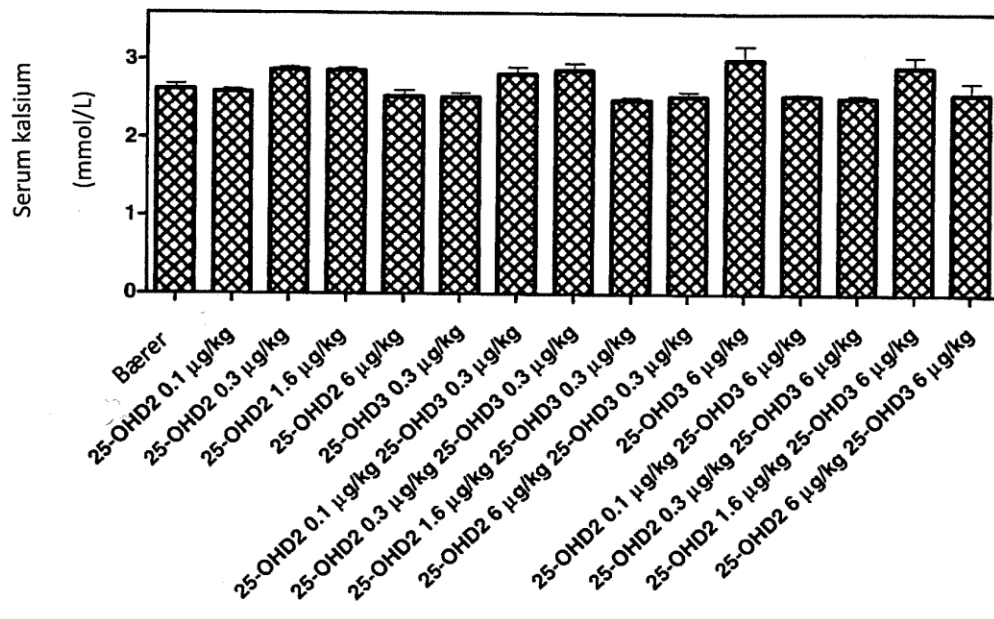
1/6

Total konsentrasjon av 25-OH vitamin D ved



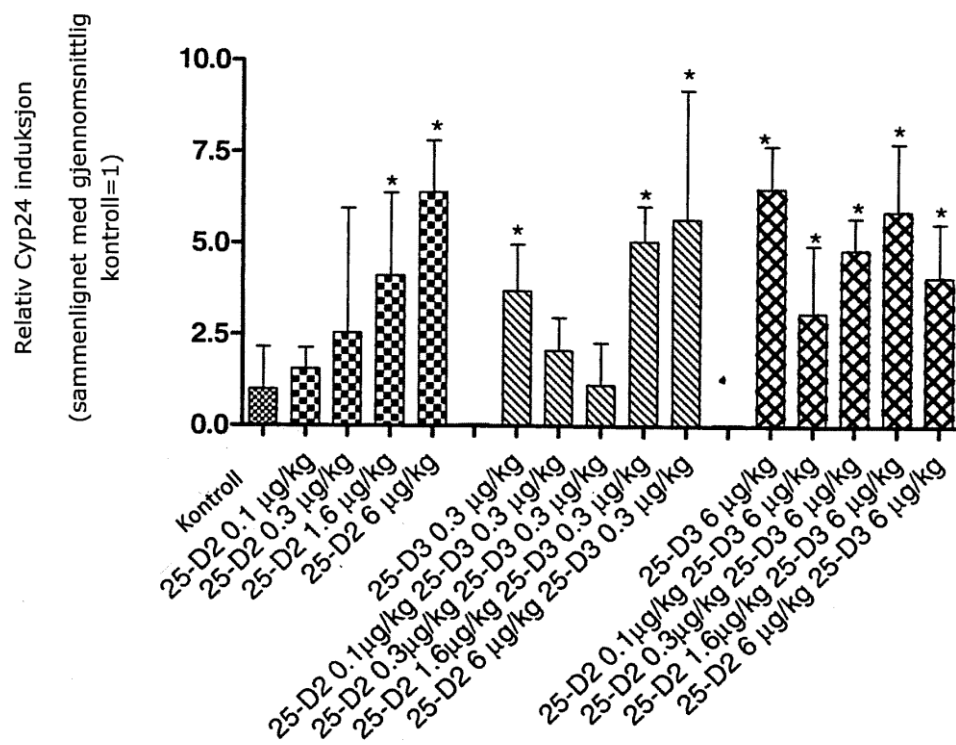
Figur 1

2/6



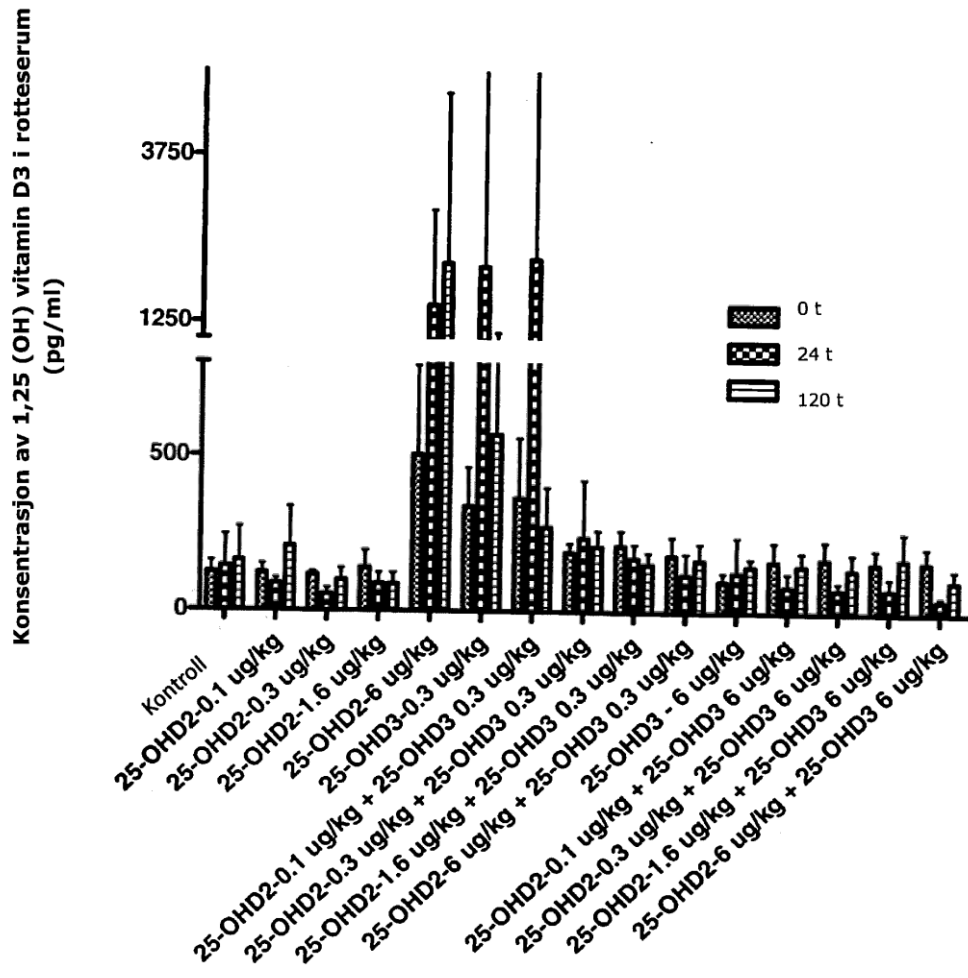
Figur 2

3/6



Figur 3

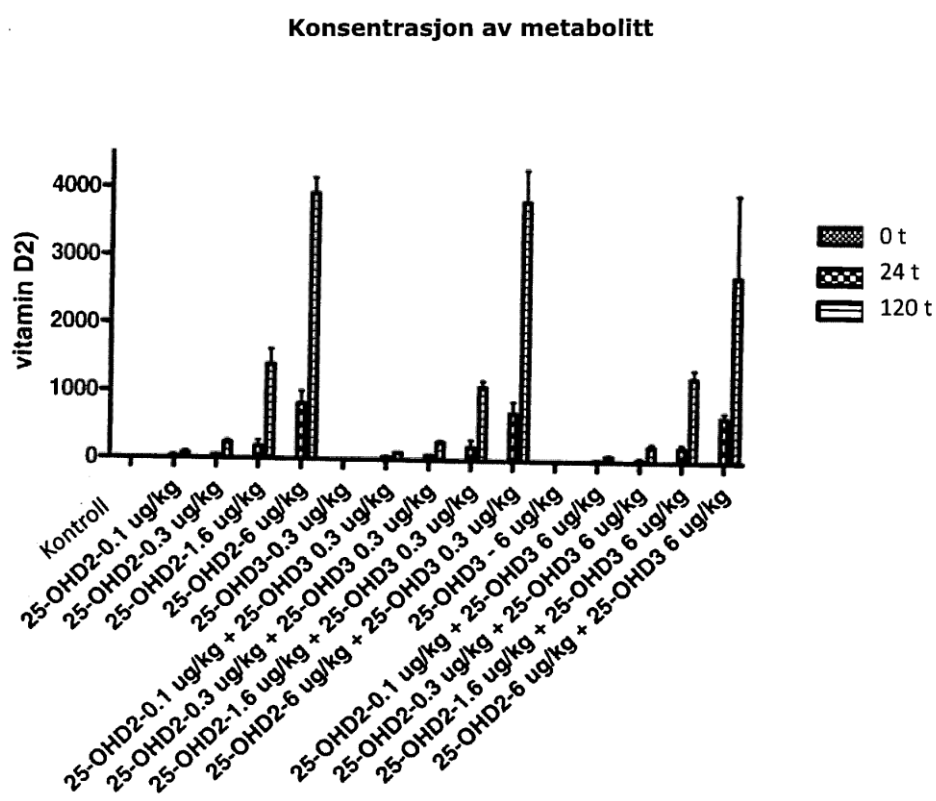
4/6



Figur 4

5/6

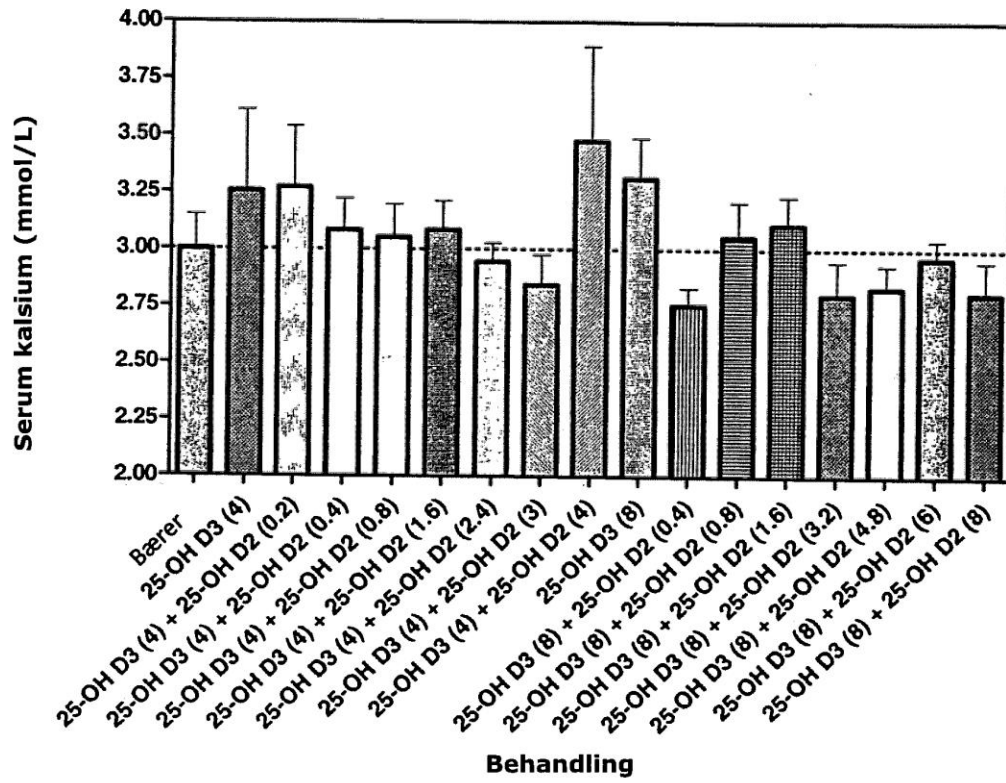
Konsentrasjon av metabolitt (pg/ml; ekvivalenter av 1,25 (OH)



Figur 5



6/6



Figur 6