

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 903**

21 Número de solicitud: 201130792

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4045** (2006.01)

**A61K 47/10** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**17.05.2011**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**14.12.2012**

Fecha de la concesión:

**10.01.2014**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**17.01.2014**

73 Titular/es:

**SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (50.0%)**  
**Avda. de la Constitución, 18**  
**41071 Sevilla (Sevilla) ES y**  
**UNIVERSIDAD DE GRANADA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BUENO LARAÑO, Pablo;**  
**MANSILLA ROSELLÓ, Alfonso;**  
**FERRON ORIHUELA, José Antonio;**  
**HERNÁNDEZ MAGDALENA, José Jorge;**  
**CALLEJA HERNÁNDEZ, Miguel Angel;**  
**GONZÁLEZ CALLEJAS, Desirée;**  
**COMINO PARDO, Ana;**  
**OLMEDO MARTÍN, Carmen;**  
**ACUÑA CASTROVIEJO, Darío y**  
**ESCAMES ROSA, Germaine**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

54 Título: **Preparación inyectable de melatonina**

57 Resumen:

Una composición inyectable farmacéuticamente aceptable que comprende agua, propilenglicol y melatonina, un derivado, una sal, un profármaco, o un solvato de la misma, la cual no contiene ningún otro disolvente, codisolvente o agente dispersante.

ES 2 392 903 B1

## DESCRIPCIÓN

Preparación inyectable de melatonina.

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se encuentra dentro del campo de la medicina y la farmacia, y se refiere a una composición inyectable de melatonina que presenta una mayor estabilidad. La presente invención también se refiere al uso de dicha composición como medicamento y a su uso en el tratamiento de diversas afecciones, como por ejemplo la sepsis en adultos.

10

**ESTADO DE LA TÉCNICA**

La melatonina (N-acetyl-5-metoxi-triptamina) es una neurohormona endógena producida por la glándula pineal (*epifisis cerebri*) de manera fisiológica. Su ritmo de secreción sigue un ritmo circadiano relacionado con el ciclo luz-oscuridad, y juega un papel fundamental en la inducción del sueño. Además, se ha comprobado cómo la melatonina juega un papel fundamental en la regulación de la respuesta inflamatoria, ya que actúa como un potente "scavenger" o barrador de radicales libres de oxígeno generados, por ejemplo, durante el Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), infartos de miocardio, daño mitocondrial, cirugía, edema pulmonar, y en el fallo renal o hepático. Se cree que activa cadenas enzimáticas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa), disminuye el número total de leucocitos polimorfonucleares circulantes y los niveles séricos de manodialdehído (Gitto *et al.*, 2004. *J Pediatr Surg* 39: 184), activa a los monocitos, NK y la producción de citoquinas, e inhibe la apoptosis (Mundigler *et al.*, 2002. *Crit Care Med* 30(3):536-40). Se ha comprobado también cómo en los pacientes críticos con sepsis existe una alteración del ritmo circadiano de la melatonina, mientras que la secreción endógena de melatonina estaba conservada en los pacientes sin sepsis (Mundigler *et al.*, 2002. *Crit Care Med* 30(3):536-40).

25

Su utilidad terapéutica se ha demostrado en distintas patologías (Seabra *et al.*, 2000. *J Pineal Res*, 29(4):193-200.). Así, se ha empleado con éxito en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (Molina-Carballo *et al.*, 1997. *J Pineal Res* 23(2):97-105), hiperpigmentación cutánea, y como regulador del ciclo sueño/vigilia en pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos (Mohan y Brunner, 2005. *Acta Anaesthesiol Scand*. Oct;49(9):1397-8). Su utilización por vía intravenosa en recién nacidos con sepsis produjo una disminución significativa de la mortalidad sin efectos secundarios (Gitto *et al.*, 2004. *J Pediatr Surg* 39: 184). En este caso, la melatonina se administró vía intravenosa utilizando etanol:agua (1:50).

30

35

Igualmente ha demostrado tener efecto cardioprotector tras un infarto agudo de miocardio (Kücükakin *et al.*, 2008. *J Pineal Res* May;44(4):426-31). Se ha demostrado su capacidad para atenuar la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo provocado por la agresión del acto quirúrgico, así como su seguridad, eficacia y ausencia de efectos secundarios al ser administrada en distintas dosis por vía intravenosa (Kücükakin *et al.*, 2009. *J Surg Res* 152 (2): 338-347, Naguib *et al.*, 2001. *British J Anaesth* 90:504-7). En esta última referencia el vehículo utilizado para la administración de melatonina es una mezcla de agua, propilenglicol (PPG) y 1-metil-2-pirrolidona (NMP) – 2:1:1. El NMP, un solvente ampliamente utilizado, parece en este caso esencial para solubilizar la melatonina, insoluble en agua. Sin embargo, el uso de NMP como vehículo farmacéutico está planteando ahora problemas debido a su toxicidad reproductiva.

40

45

Por tanto, a la vista de los resultados y de las evidencias científicas sobre el efecto, eficacia y seguridad de la administración de melatonina, resulta necesaria la elaboración de composiciones de melatonina mejoradas, que por ejemplo, sean estables y permitan su almacenamiento, o admitan altas concentraciones de melatonina.

**BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

50

Los autores de la presente invención han desarrollado una composición acuosa de melatonina que posee una sorprendente estabilidad y permite altas concentraciones de este principio activo insoluble en agua. Las propiedades de esta composición la hacen útil como inyectable, por ejemplo, para su administración intravenosa.

55

Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a una composición inyectable farmacéuticamente aceptable (composición de la invención) que comprende agua, propilenglicol y melatonina, un derivado, una sal, un profármaco, o un solvato de la misma, caracterizada porque no contiene ningún otro disolvente, co-disolvente o agente dispersante.

60

Un segundo aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención en la elaboración de un medicamento.

65

Un tercer aspecto de la invención se refiere a la composición de la invención para su uso como medicamento.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención en la elaboración de un medicamento para la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple

(MODS), el tratamiento de la sepsis en neonatos, el tratamiento de la sepsis en adultos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento de daño mitocondrial, el tratamiento de edema pulmonar, el tratamiento de un fallo renal o hepático, o el tratamiento de la situación de estrés oxidativo generado durante la cirugía, y particularmente durante la cirugía abdominal.

5 Por tanto, la presente invención se refiere a un método para la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS), el tratamiento de la sepsis en neonatos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento de daño mitocondrial, el tratamiento de edema pulmonar, el tratamiento de un fallo renal o hepático, o el tratamiento de la situación de estrés oxidativo provocado por cirugía, método que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento o regulación una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la invención.

10 Igualmente, la presente invención se refiere a la composición de la invención para su uso en la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS), el tratamiento de la sepsis en neonatos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento de daño mitocondrial, el tratamiento de edema pulmonar, el tratamiento de un fallo renal o hepático, o el tratamiento del estrés oxidativo provocado por cirugía.

15 Las composiciones de la invención se preparan usando métodos habituales tales como aquéllos descritos o a los que se hace referencia en las Farmacopeas Española y Estadounidense y textos de referencia similares. Un quinto aspecto se dirige a la preparación de la composición de la invención, que comprende mezclar agua, propilenglicol y melatonina un derivado, una sal, un profármaco, o un solvato de la misma.

20 Un sexto aspecto de la invención es el uso de la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos en la preparación de un medicamento para el tratamiento de sepsis en adultos, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en adultos o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS) en adultos. Por tanto, la presente invención se refiere también a un método para el tratamiento de sepsis en adultos, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en adultos o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS) en adultos que comprende administrar a un paciente adulto que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de melatonina, es decir, a la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos, para su uso para el tratamiento de sepsis en adultos, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en adultos o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS) en adultos..

25 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**  
Los autores han descubierto que el PPG por sí solo es sorprendentemente eficaz en la solubilización de la melatonina. Por el contrario, en el estado de la técnica la solubilización de la melatonina requería el uso de codisolventes, muchos de ellos potencialmente tóxicos, como el etanol o el NMP.

30 De acuerdo con una realización particular, la composición comprende entre un 50% y un 95% v/v de agua, y entre un 5% y un 50% v/v de propilenglicol, medidos en relación al volumen total de la disolución. En una realización particular la proporción de PPG es de entre 10% y 30% v/v, más particularmente entre 20% y 30% v/v, más particularmente de entre 23% y el 28%, más particularmente de entre 24% y el 26%, más particularmente alrededor de un 25% v/v, en donde los volúmenes se miden en relación al volumen total de la composición.

35 La composición de la invención permite cargas sorprendentemente elevadas de melatonina, al tiempo que resultan estables. Así, en otra realización particular de la invención, la concentración de melatonina es superior a 5 mg/ml de composición. En otra realización particular, la concentración de melatonina se encuentra entre 5 y 50 mg/ml de composición, más particularmente entre 7 y 20 mg/ml de composición, más particularmente entre 8 y 12 mg/ml de composición, más particularmente alrededor de 10 mg/ml de composición. Estas concentraciones permiten la administración en adultos de altas cantidades de melatonina sin riesgo de intoxicación por alguno de los excipientes presentes.

40 Se ha encontrado por tanto que concentraciones relativamente bajas de PPG también permite solubilizar significativamente la melatonina, reduciéndose así el riesgo irritación o dolor que como efecto secundario pueden acompañar a la administración de PPG en altas concentraciones. Así, una realización de la invención se refiere a una composición que comprende entre un 20% y 30% v/v de PPG, entre un 70% y 80% v/v de agua y entre 5 y 50 mg de melatonina por ml de composición, o entre 7 y 20 mg/ml de composición, más particularmente entre 8 y 12 mg/ml de composición, más particularmente alrededor de 10 mg/ml de composición.

45 Por ejemplo, debido a que es posible alcanzar altas concentraciones, es posible administrar altas dosis de melatonina sin administrar al mismo tiempo grandes cantidades de PPG, el cual en dosis muy elevadas, puede tener efectos tóxicos, y en cualquier caso reducen el riesgo de efectos secundarios.

50

La composición puede comprender también otros excipientes farmacéuticamente aceptables. De acuerdo con la definición de la EMEA, se considera excipiente cualquier componente en la composición distinto de un principio activo. Ejemplos de excipientes que se pueden utilizar en la composición inyectable de la composición incluyen conservantes antimicrobianos, tales como metilparabeno, propilparabeno; antioxidantes, tales como metabisulfito de sodio, galato de propilo; agentes estabilizantes y de suspensión, tales como celulosas modificadas solubles o hinchables, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio (Aquasorb, Blanose, Nymcel); agentes de tonicidad, tales como cloruro de sodio; o solubilizantes, tales como propilenglicol o polietilenglicoles. Estos excipientes deben encontrarse en los límites de la definición de la invención y no incluyen por tanto disolventes, co-disolventes o agentes dispersantes distintos del agua y el PPG. El experto en la materia conoce los disolventes, codisolventes o agentes dispersantes, y puede consultar en libros de referencia como el "Handbook of Pharmaceutical Excipients", sixth edition, Rowe, R. C; Sheskey, P. J.; Quinn, M. E., Ed. PhP; o "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 21<sup>st</sup> Ed.; Lippincott Williams & Wilkins. Disolventes y codisolventes típicos en las formulaciones inyectables son, por ejemplo el NMP, alcoholes con uno a dieciocho átomos de carbono, tales como el etanol o el *ter*-butanol, alcoholes arílicos, tal como el alcohol bencílico, sales de piridinio, glicerina y estearatos de la misma, tal como el monoestearato de glicerina, polímeros tales como la hipromelosa, éteres de polioxialquilinos (por ejemplo, polioxietileno, polioxipropileno o poloxámero), pirrolidona.

De acuerdo con la presente invención, una composición o un componente de la misma "farmacéuticamente aceptable" indica que son fisiológicamente tolerables y cuya administración conlleva un bajo riesgo de alergias, efectos secundarios, eventos adversos u otras reacciones similares, tal como trastornos gástricos, mareo y similares, cuando se administra a un ser humano. Preferiblemente, tal como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que ha sido aprobado por una agencia reguladora del gobierno de estado o federal o que está enumerado en la Farmacopea Estadounidense u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y más particularmente en seres humanos. Por tanto, la composición de la invención se encuentra libre de pirógenos.

La composición de la invención incluye melatonina, así como un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma. Por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables se sintetizan a partir de la melatonina mediante métodos químicos convencionales, generalmente, haciéndola reaccionar con un ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Los ejemplos de las sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido mineral tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, y sales de adición de ácido orgánico tales como, por ejemplo, acetato, maleato, fumarato, citrato, oxalato, succinato, tartrato, malato, mandelato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato.

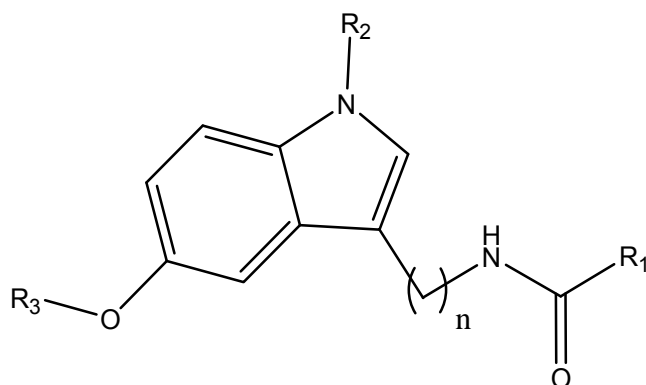
El término "profármaco" tal como se usa en esta solicitud se define en el presente documento como que significa un compuesto químico que ha experimentado una derivación química tal como una sustitución o adición de un grupo químico adicional para cambiar (para uso farmacéutico) cualquiera de sus propiedades fisicoquímicas, tales como la solubilidad o biodisponibilidad, por ejemplo derivados de éster, de éter o de amida de un compuesto activo que proporcionan el propio compuesto activo tras la administración a un sujeto. Los expertos en la técnica conocen ejemplos de métodos bien conocidos de producción de un profármaco de un compuesto activo dado y pueden encontrarse por ejemplo en Krosggaard-Larsen et al., Textbook of Drug design and Discovery, Taylor & Francis (abril de 2002).

Profármacos particularmente favorecidos son aquéllos que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de esta invención cuando se administran tales compuestos a un paciente (por ejemplo, permitiendo que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre) o que mejoran el suministro del compuesto original a un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o sistema linfático) con respecto a las especies originales.

El término "solvato" según esta invención ha de entenderse como que significa cualquier forma de melatonina según la invención que tiene otra molécula (lo más probablemente un disolvente polar) unido por medio de un enlace no covalente. Los ejemplos de tales solvatos incluyen hidratos y alcoholatos, por ejemplo metanolatos.

La preparación de sales, solvatos y profármacos puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos en la técnica. Se apreciará que sales, solvatos o profármacos no farmacéuticamente aceptables también se encuentran dentro del alcance de la invención puesto que aquéllos pueden ser útiles en la preparación de sales, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

En el estado de la técnica se conocen diversos derivados de la melatonina, los cuales también se incluyen en la presente invención. De acuerdo con una realización particular el derivado de melatonina se define de acuerdo con la fórmula (I), una sal, profármaco o solvato del mismo



Fórmula (I)  
en donde,

- 5 n es un número entero que se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;  
 R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, lineal o ramificado; y  
 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, lineal o ramificado, -C(=O)O-Ra y -  
 C(=O)-N(H)-Ra, en donde Ra es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, lineal o ramificado.

10 En una realización particular, la composición de la invención es inyectable por vía intravenosa. Un aspecto particular incluye la presencia de un segundo medicamento en la composición de la invención. Dicho segundo medicamento puede formar parte de la composición o puede proporcionarse como una composición separada para la administración al mismo tiempo o en momentos diferentes.

15 Generalmente una "cantidad terapéuticamente eficaz" de la composición de la invención, y por tanto de melatonina, dependerá de diversos factores como la gravedad del trastorno que está tratándose, el sexo, la edad, o el peso del enfermo, entre otros muchos. Por ejemplo, la composición de la invención puede administrarse una o más veces por día por ejemplo 1, 2, 3 ó 4 veces al día, con dosificaciones diarias totales típicas en el intervalo de desde 0,1 hasta 1000 mg/kg/día.

20 La presente invención se dirige al uso de la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos en la preparación de un medicamento para el tratamiento de sepsis en adultos, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en adultos o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS) en adultos. En una realización particular, dicho uso implica la administración de entre 5 y 100 mg de melatonina cada 24 horas. En otra realización particular, la cantidad de melatonina administrada a un paciente  
 25 está comprendida entre 30 y 90 mg cada 4 horas, preferiblemente, entre 40 y 70. En una realización particular, se administran al paciente entre 55 y 75 mg de melatonina cada 24 horas.

30 En una realización particular, la administración se realiza por perfusión. En otra realización, la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos, se administra 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 veces al día hasta alcanzar la dosis total diaria indicada en el párrafo anterior. En una realización particular la administración se realiza 1, 2 ó 3 veces al día, preferiblemente una vez a día. El periodo de tratamiento puede variar de acuerdo con la evolución del paciente, y normalmente dura entre 1 y 30 días, preferiblemente entre 3 y 10 días.

35 En una realización particular, dicha sepsis en adultos es sepsis severa. El SIRS es una respuesta inflamatoria generalizada de una variedad de injurias clínicas severas. Según la definición acordada por la "American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine", este síndrome es reconocido clínicamente por la presencia de 2 o más de los siguientes síntomas (i) a (iv):

- 40 (i) Temperatura >38°C o <36°C.  
 (ii) Frecuencia cardiaca >90 latidos/min.  
 (iii) Frecuencia respiratoria >20 respiraciones/min o PaCO<sub>2</sub> <32 mmHg.  
 (iv) Recuento de glóbulos blancos >12.000 células/mm<sup>3</sup>, <4000 células/mm<sup>3</sup>, o >10 % de formas inmaduras (en banda).

45 La sepsis corresponde a la SIRS debida a un foco claro infeccioso. Precisa para su diagnóstico de dos o más criterios de SIRS y la presencia de cuadro clínico evidente de infección o estudios microbiológicos (presencia de microorganismos patógenos en líquidos habitualmente estériles, más de 100.000 UFC/ml en orina o en cultivos cuantitativos de secreciones bronquiales). Por otro lado, la sepsis es considerada severa cuando está asociada con disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión (< 90 mm Hg de tensión arterial sistólica). Las manifestaciones de hipoperfusión se pueden incluir pero no están limitadas a acidosis láctica (ácido láctico > 3 mmol/l), oliguria (diuresis < 30 ml/h durante 3 horas o 700 ml en 24 horas), coagulopatía (prolongación del tiempo de protrombina o plaquetopenia inferior a 100.000/ml), o alteración aguda en el estado mental (agitación, obnubilación).

Los métodos para determinar situaciones de estrés oxidativo son conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, situaciones de estrés oxidativo se pueden determinar midiendo los niveles de peróxido de hidrógeno, o la respuesta en el organismo de la actividad de enzimas antioxidantes (por ejemplo, midiendo las actividades enzimáticas antioxidantes como la superóxido dismutasa/ catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa) o los niveles de malondialdehído. Un descenso de estas enzimas es indicativo de la respuesta inadecuada a una situación de estrés oxidativo.

En el contexto de la presente invención se considera que un adulto es un paciente con una edad de 18 años o más. Concretamente, se considera generalmente, que un neonato es un paciente con una edad entre 0 y 27 días, un bebé entre 28 días y 23 meses, un niño de los 24 meses a los 11 años, y un adolescente de los 12 a los 17 años. Aunque existe una correlación entre el peso y la dosis, dicha correlación no es siempre lineal y debe identificarse para cada grupo de pacientes.

El término "tratamiento" o "tratar" en el contexto de este documento se refiere a la administración de un compuesto o una formulación según la invención para prevenir, mejorar o eliminar la enfermedad o uno o más síntomas asociados con dicha enfermedad. "Tratamiento" también abarca la prevención, mejora o eliminación de las secuelas fisiológicas de la enfermedad.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## EJEMPLOS

A continuación se ilustrara la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la estabilidad y efectividad de la composición de la invención.

### Preparación de composiciones de la invención

La melatonina para la solución inyectable se ha preparado a una concentración de 10 mg/ml en propilenglicol al 25%, con agua libre de pirógenos en cantidad suficiente (API).

El lote de inyectables preparado estaba compuesto de consta de 17 viales con Melatonina (10mg/ml) en Propilenglicol (al 25%) API c.s. de los 17 viales, 9 de ellos se autoclavaron (121°C durante 20 min) y los 8 restantes no. Todos los viales se protegieron de la luz.

### Ensayos de estabilidad

Los viales, tanto los autoclavados como los que no lo fueron, todos resguardados de la luz, se sometieron a un ensayo de estabilidad mediante HPLC. Estabilidad de conservación, tanto a temperatura ambiente como conservados a 4°C y -20°C.

Las distintas preparaciones de melatonina se analizaron una vez por semana desde su preparación. Las concentraciones medidas por HPLC se realizaron en un envase diferente de cada grupo a lo largo de las catorce semanas, como se recoge en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Concentraciones de melatonina a lo largo de 3 meses desde su preparación

Tipo de conservación de la melatonina	Semanas desde la preparación de la solución de melatonina								
	0	1	2	3	4	5	14	MEDIA	SD
autoclavada (-20 °C)	11.15	11.01	9.83	9.62	9.36	9.96	10.23	10.16	0.68
no autoclavada (-20 °C)	9.21	10.08	10.33	8.89	10.61	10.16	9.63	9.84	0.62
autoclavada (4 °C)	9.49	10.61	9.84	11.24	9.33	8.83	8.62	9.71	0.94
no autoclavada (4 °C)	9.87	9.49	8.75	9.19	8.87	8.07	8.44	8.95	0.61
autoclavada (T.A. )	9.96	9.30	9.57	11.17	9.46	8.73	9.12	9.61	0.78
no autoclavada (T. A.)	9.57	9.35	10.35	10.05	9.31	9.34	9.67	9.66	0.40

Los resultados indican una buena estabilidad de la melatonina en todas las preparaciones. Sólo la mantenida a 4°C presenta normalmente una pequeña cristalización de la solución, que se resuspende rápidamente al ponerla a

temperatura ambiente. Las preparaciones a -20°C no presentan cristalización, y se descongelan perfectamente. No hay diferencias aparentes entre las soluciones autoclavadas y no autoclavadas; en ambos casos la estabilidad es similar.

5 Ensayo de Estabilidad de la melatonina disuelta en solución salina

10 Se disolvieron dos viales (8 ml de cada uno) de la preparación de melatonina en propilenglicol (10 mg/ml) en sendas bolsas de 500 ml de solución salina para administración intravenosa. Se ha evaluado el contenido de melatonina en esta disolución manteniendo una bolsa a temperatura ambiente y otra a 4 °C. La melatonina se determinó en alícuotas de cada bolsa hasta 7 días después de su preparación.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos (concentración teórica en la solución salina = 0.157 mg/ml):

Tiempo (horas)	Tipo de conservación	
	T. A.	4 °C
1	0.153	0.153
2	0.168	0.166
4	0.152	0.145
6	0.153	0.158
12	0.160	0.159
24	0.161	0.154
48	0.150	0.152
72	0.162	0.156
104.5	0.157	0.152
168	0.152	0.159

15 De los datos de la Tabla 2, obtenemos la siguiente estadística:

	Datos de T.A.	Datos de 4 °C
20	Media: 0.158 mg/ml	Media: 0.155 mg/ml
	SD: 0.006	SD: 0.0056
	ES: 0.0018	ES: 0.0017
	CV (%): 3.69	CV (%): 3.61

25 Por tanto, una vez diluida en el salino para uso intravenoso, la solución es estable al menos durante 7 días, tanto a temperatura ambiente como a 4°C.

30 Por otra parte, se realizó un control de endotoxinas bacterianas a los inyectables de melatonina preparados. Para ello se utilizó el equipo Endosafe®-PTS (Charles River, Francia) cuya técnica de detección se encuentra validada por la Food and Durgs Administration de Estados unidos de América (FDA, U.S.A.). Los resultados obtenidos en cuanto a control de endotoxinas bacterianas se muestran a continuación:

35 Límite endotoxinas: 87.7 UE/ml. M.D.V : 1.754. λ cartucho: 0.05-5 UE/ml. Lote cartuchos: 3434160. Código calibración cartuchos: 513337283560. Dilución: 1:100  
 RESULTADO: la muestra analizada presenta < 5UE/ml. El límite de endotoxinas calculado es de 87.7 UE/ml. El resto de valores obtenidos se encuentran en el porcentaje permitido.  
 Conclusión: En esta muestra el ensayo de endotoxinas es satisfactorio.

Los valores de la detección de endotoxinas bacterianas se presentan en la Tabla 2.

Sustancia	Valor en l muestra	muestra R T CV (<25%)	valor pico	pico RT CV(<25%)	recuperación del pico (50-200%)
Melatonina-1	<5UE/ml	0 %	0.469 UE/ml	3.6 %	85 %
Ok / No Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok

40 **Tabla2**  
 Ensayo de detección de endotoxinas bacterianas en un equipo Endosafe-PTS, de inyectables de melatonina (10mg/ml en propilenglicol al 25%).

**Ensayo clínico para el tratamiento de la sepsis severa en adultos**

El ensayo clínico se diseña como controlado a doble ciego con 40 pacientes quirúrgicos con criterios de "sepsis severa" distribuidos en 2 grupos (n=20):

- 5 A) Grupo Melatonina, que recibe 60mg/24h intravenosa en perfusión continua durante 5 días.  
 B) Grupo Placebo, que reciben un placebo en la misma forma que el grupo A) recibiendo el tratamiento adecuado a su patología y tipo de intervención quirúrgica realizada.  
 C) Grupo de Referencia (n=20) compuesto por pacientes intervenidos de colecistectomía, y cuyos datos sirven como grupo de referencia.

- 10 Se toman muestras de sangre periférica en los días 0, 1, 2, 3, 4 y 5 tras la intervención quirúrgica para proceder a valorar la respuesta inflamatoria, inmunológica y de apoptosis mediante la determinación por técnica de CBA (*Cytometric Beads Arrays*) que combina ELISA con citometría de flujo de los niveles plasmáticos de citoquinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1), y marcadores de apoptosis (caspasa-3, Bcl-2), los niveles de enzimas antioxidantes (SOD, catalasa, glutatión-peroxidasa y glutatión-reductasa) e índice de peroxidación lipídica (malondialdehído) se determinan mediante espectrofotometría. Los niveles de melatonina y 6-sulfatoximelatonina se determinan mediante HPLC.

- 20 **SUJETOS DE ESTUDIO:** Pacientes ingresados en el Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada que vayan a ser intervenidos quirúrgicamente por patología abdominal con carácter de urgencia.

- 25 **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:** Pacientes que se encuentren en estado clínico de "sepsis severa" según los criterios diagnósticos de la "*American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine*" definidos anteriormente, es decir, pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica de etiología infecciosa asociado a disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión, y que vayan a ser intervenidos quirúrgicamente.

**CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:** Edad menor de 18 años, embarazo, enfermedad terminal médica o quirúrgica, insuficiencia hepática o renal crónica, enfermedad psiquiátrica en tratamiento o negativa a participar en el estudio.

- 30 **PROTOCOLO:** El tamaño de la muestra se ha calculado en base a aceptar un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,20 en un contraste unilateral. Se precisan 20 pacientes en cada grupo de estudio para detectar una diferencia mínima del 10% entre grupos, asumiendo que existen 3 grupos de estudio y una desviación estándar del 7%.

- 35 **VALORACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA E INMUNOLÓGICA:** Determinación de los niveles plasmáticos de citoquinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), molécula de adhesión sICAM-1, marcadores de apoptosis (sFas, FasL, sFasL), proteínas de apoptosis (caspasa-3, Bcl-2, y PARP), enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, SOD), catalasa glutatión peroxidasa y glutatión reductasa) así como los niveles de peroxidación lipídica (malondialdehído) durante los días 0 (pre-intervención quirúrgica y previa administración de melatonina o placebo) y 1, 2, 3, 4 y 5 posteriores a la intervención quirúrgica y durante el tratamiento de melatonina o placebo. Determinación en muestras de sangre periférica total de hemograma, fórmula leucocitaria así como de los niveles de Fas, caspasa-3, Bcl-2 y PARP en leucocitos polimorfonucleares y linfocitos durante los días 0 (pre-intervención quirúrgica y pretratamiento con melatonina o placebo) y 1, 2, 3, 4 y 5 días posteriores a la intervención quirúrgica y durante el tratamiento de melatonina o placebo. Valoración de la funcionalidad de distintos sistemas orgánicos mediante determinaciones bioquímicas en plasma obtenido de las muestras de sangre, como se indica más adelante, de los parámetros transaminasas (GOT, GPT, GGT), bilirrubina total y directa, LDH, urea y creatinina. Así como los niveles de calcio, sodio, potasio y cloro.

- 50 **VALORACION CLÍNICA:** Para valorar la evolución clínica de los pacientes y la situación funcional de sus sistemas orgánicos en los días posteriores a la intervención quirúrgica, se utilizará la escala de calificación del síndrome de disfunción orgánica múltiple relacionado con la sepsis (SOFA) cada 24 horas durante el periodo de estudio.

- 55 **MANEJO Y RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS:** En las muestras de sangre se estudia el nivel de citoquinas, moléculas de adhesión, marcadores y proteínas de apoptosis, enzimas antioxidantes, malondialdehído; el marcaje inmediato y determinación de apoptosis celular en leucocitos y linfocitos tras su aislamiento y separación en ficoll-hypaque y se hacen determinaciones bioquímicas de los parámetros de funcionalidad orgánica utilizando un analizador automático Hitachi-912 (Roche). También se miden los niveles plasmáticos de melatonina.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición inyectable farmacéuticamente aceptable que comprende agua, propilenglicol y melatonina, un derivado, una sal, un profármaco, o un solvato de la misma, caracterizada porque no contiene ningún otro disolvente, codisolvente o agente dispersante.
2. La composición según la reivindicación 1, donde la melatonina se encuentra en una concentración de entre 8 y 12 mg/ml de composición.
- 10 3. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en donde la melatonina se encuentra en una concentración de aproximadamente 10 mg/ml de composición.
- 15 4. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la proporción del Propilenglicol está comprendida entre un 20 y el 30% con respecto al peso total de la composición.
5. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la proporción de Propilenglicol está comprendida entre un 23 y un 28% con respecto al peso total de la disolución.
- 20 6. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la proporción de Propilenglicol está comprendida entre un 24 y un 26% con respecto al peso total de la disolución.
7. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 8. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende un segundo principio activo.
9. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en forma de inyectable intravenoso.
- 30 10. Uso de la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la elaboración de un medicamento.
11. La composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para su uso como medicamento.
- 35 12. Uso de la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la elaboración de un medicamento para la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple, el tratamiento de la sepsis en neonatos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento de daño mitocondrial, el tratamiento de edema pulmonar, el tratamiento de un fallo renal o hepático, o el tratamiento del estrés oxidativo provocado por cirugía.
- 40 13. Uso de la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos en la preparación de un medicamento para el tratamiento de sepsis en adultos, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en adultos o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS) en adultos.
- 45 14. Uso según la reivindicación 13 en donde se administran entre 55 y 65 mg cada 24 horas.
15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 13 ó 14, en donde la administración se realiza por perfusión una vez al día.
- 50 16. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 13, 14 ó 15, en donde la administración se prolonga en el tiempo entre 3 y 10 días.
17. Método para la preparación de la composición inyectable farmacéuticamente aceptable definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende mezclar agua, propilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco, o un solvato de la misma.



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 201130792

22 Fecha de presentación de la solicitud: 17.05.2011

32 Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: **A61K31/4045** (2006.01)  
**A61K47/10** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CHEUNG RAYMOND TAK FAI, et al.; Preclinical evaluation of pharmacokinetics and safety of melatonin in propylene glycol for intravenous administration; Journal of Pineal Research, noviembre 2006, volumen 41, nº 4, páginas 337-343; ISSN 0742-3098.	1-7,9-12,17
X	PAZO, JORGE H.; Effects of melatonin on spontaneous and evoked neuronal activity in the mesencephalic reticular formation; Brain Research Bulletin, 1979, volumen 4, páginas 725-730.	1-7,9-11,17
X	KESIK, VURAL et al.; Melatonin and 1400W ameliorate both intestinal and remote organ injury following mesenteric ischemia/reperfusion; Journal of Surgical Research, 2009, volumen 157, páginas e97-e105.	13-17
X	LIN XIAO-JING, et al.; Therapeutic effects of melatonin on heatstroke-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats; Journal of Pineal Research, 2011, volumen 50, páginas 436-444; publicado online 11.03.2011.	13-17

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
18.09.2012

Examinador  
N. Vera Gutiérrez

Página  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, CAS, WPI, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, NPL, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 18.09.2012

#### Declaración

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 4-6, 14-16	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-3, 7-13, 17	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-17	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

#### Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	CHEUNG RAYMOND TAK FAI, et al.; Preclinical evaluation of pharmacokinetics and safety of melatonin in propylene glycol for intravenous administration; Journal of Pineal Research, noviembre 2006, volumen 41, nº 4, páginas 337-343; ISSN 0742-3098.	2006
D02	PAZO, JORGE H.; Effects of melatonin on spontaneous and evoked neuronal activity in the mesencephalic reticular formation; Brain Research Bulletin, 1979, volumen 4, páginas 725-730.	1979
D03	KESIK, VURAL et al.; Melatonin and 1400W ameliorate both intestinal and remote organ injury following mesenteric ischemia/reperfusion; Journal of Surgical Research, 2009, volumen 157, páginas e97-e105.	2009

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La invención se refiere a una composición inyectable farmacéuticamente aceptable que comprende agua, propilenglicol y melatonina, caracterizada porque no contiene ningún otro disolvente, codisolvente o agente dispersante. Se refiere también a su uso en el tratamiento de diversas afecciones.

El documento D01 divulga un estudio para evaluar la farmacocinética y seguridad de una preparación para administración intravenosa de melatonina en propilenglicol. Para la obtención de la preparación se disolvió la melatonina en propilenglicol 10% y solución salina para conseguir una concentración final de 7,5 mg/mL,

El documento D02 divulga un estudio acerca de los efectos de la melatonina sobre la actividad neuronal en la formación reticular mesoencefálica. Para los ensayos se preparan soluciones de melatonina en propilenglicol y solución salina, en una concentración final de 400 microgramos en 50 microlitros, para ser administradas por vía intravenosa.

El documento D03 recoge un estudio sobre el efecto de la melatonina y el compuesto 1400W en los daños originados como consecuencia de la isquemia/reperfusión mesentérica. Los autores concluyen que estos compuestos, administrados juntos o por separado, previenen el daño en la mucosa intestinal y en órganos remotos como pulmón, hígado y riñón. En el artículo se cita la relación existente entre la isquemia/reperfusión mesentérica y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y el síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS).

A la vista de los documentos D01-D03, se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1-3, 7-13, 17 no es nueva (Artículo 6.1 L.P.).

Respecto a las reivindicaciones 4-6, relativas a las proporciones de propilenglicol en la composición, se considera que no poseen actividad inventiva en ausencia de una ventaja técnica asociada a dicha selección. En cuanto a las reivindicaciones 14-16, relativas a la forma de administración de la melatonina, se considera que no poseen actividad inventiva dado que se encuentra dentro de la práctica habitual del experto en la materia de cara a alcanzar el efecto terapéutico deseado (Artículo 8.1 L.P.).