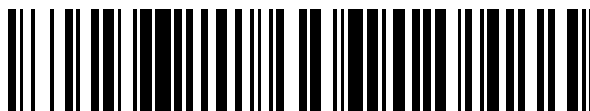


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 965 521**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4045 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.03.2015 PCT/ES2015/070236**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015 WO15144965**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2015 E 15769253 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2023 EP 3124023**

54 Título: **Preparación duradera de un producto inyectable de melatonina que presenta estabilidad a largo plazo**

30 Prioridad:

27.03.2014 ES 201430442

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.04.2024

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

ACUÑA CASTROVIEJO, DARÍO;
ESCAMES ROSA, GERMAINE;
BUENO LARAÑO, PABLO;
MANSILLA ROSELLÓ, ALFONSO;
FERRÓN ORIHUELA, JOSÉ ANTONIO;
HERNÁNDEZ MAGDALENA, JOSÉ JORGE;
CALLEJA HERNÁNDEZ, MIGUEL ÁNGEL;
GONZÁLEZ CALLEJAS, DESIRÉE;
COMINO PARDO, ANA;
OLMEDO MARTÍN, CARMEN y
VENEGAS MALDONADO, CARMEN

74 Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

ES 2 965 521 T3

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

DESCRIPCIÓN

Preparación duradera de un producto inyectable de melatonina que presenta estabilidad a largo plazo

5 **Campo de la invención**

La presente invención está comprendida en el campo de la medicina y la farmacia y se refiere a una composición inyectable de melatonina que tiene alta estabilidad. La presente invención también se refiere al uso de dicha composición como medicamento y a su uso en el tratamiento de diversas afecciones, tales como, por ejemplo, la septicemia.

Estado de la técnica

La melatonina (N-acetil-5-metoxi-triptamina) es una neurohormona endógena producida fisiológicamente por la glándula pineal (epíflisis cerebral). Su tasa de secreción sigue un ritmo circadiano ligado al ciclo de luz-oscuridad y desempeña un papel fundamental en la inducción del sueño. Además, se ha hallado que la melatonina desempeña un papel fundamental en la regulación de la respuesta inflamatoria, ya que actúa como un potente eliminador de radicales libres de oxígeno que se generan, por ejemplo, durante la septicemia y el posterior desarrollo del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) y el posterior síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), también conocido como insuficiencia orgánica múltiple; durante infartos de miocardio; en daño mitocondrial; en procedimientos de cirugía abdominal; en edema pulmonar; y en insuficiencia renal o hepática.

Se sabe que activa las rutas de las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa) (Reiter *et al.* 1995. J Pineal Res 18:1-11), regula la homeostasis mitocondrial (Acuña-Castroviejo *et al.* 2011. Curr Top Med Chem 11:221-240), reduce el número total de leucocitos polimorfonucleares circulantes y los niveles en suero de malondialdehído (Gitto *et al.*, 2004. J Pediatr Surg 39: 184), modula los monocitos, las NK y la producción de citocinas e inhibe la apoptosis (Mundigler *et al.*, 2002. Crit Care Med 30:536-40; Carrillo-Vico *et al.* 2005. J. Pineal Res 39:400-408), y reduce los niveles de citocinas proinflamatorias y el daño oxidativo en pacientes con distrofia muscular de Duchenne (Chahbouni *et al.* 2010, J Pineal Res 48:282-289), entre otras funciones. También se ha hallado que en pacientes críticos con septicemia hay una alteración en el ritmo circadiano de la melatonina, mientras que la secreción endógena de melatonina se conserva en pacientes sin septicemia (Mundigler *et al.*, 2002. Crit Care Med 30:536-40).

Su utilidad terapéutica se ha demostrado en diferentes patologías (Sánchez-Barceló *et al.* 2010, Curr Med Chem 17:2070-2095), donde por regla general muestra una falta de toxicidad después de su administración (Acuña-Castroviejo *et al.* 2014. Cell Mol Life Sci DOI: 10.1007/s00018-014-1579-2). Por tanto, se ha usado con éxito en el tratamiento de la epilepsia (Molina-Carballo *et al.*, 1997. J Pineal Res 23:97-105), como regulador del ciclo sueño-vigilia en general (Burke *et al.* 2013. Sleep 36:1617-1624) y en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos (Mohan y Brunner, 2005. Acta Anesthesiol Scand 49:1397). Su uso intravenoso en recién nacidos con septicemia provocó una disminución significativa de la mortalidad sin efectos secundarios (Gitto *et al.*, 2004. J PediatrSurg 39: 184). En este caso, la melatonina se administró por vía intravenosa usando una composición en etanol:agua (1:50). También se ha demostrado que tiene un efecto cardioprotector después de un infarto agudo de miocardio (Kücükakin *et al.*, 2008. J Pineal Res 44:426-31). Se ha demostrado su capacidad para reducir la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo inducido por procedimientos agresivos durante la cirugía, así como su seguridad, eficacia y ausencia de efectos secundarios cuando se administra por vía intravenosa en diferentes dosis (Kücükakin *et al.*, 2009. J Surg Res 152:338-347; Naguib *et al.*, 2001. British J Anaesth 90:504-507). En esta última referencia, el portador usado para administrar melatonina es una mezcla 2:1:1 de agua, propilenglicol (PPG) y 1-metil-2-pirrolidona (NMP). Sin embargo, 40 NMP, un disolvente ampliamente usado, parece esencial en este caso para solubilizar la melatonina insoluble en agua. Sin embargo, el uso de NMP como portador farmacéutico plantea actualmente problemas debido a su toxicidad para la reproducción.

Por tanto, en vista de los resultados y de las evidencias científicas sobre el efecto, la eficacia y la seguridad de la administración de melatonina, es necesario producir composiciones de melatonina mejoradas que presenten estabilidad a largo plazo y, por tanto, permitan su almacenamiento.

En este sentido, la solicitud de patente internacional WO2012/156565 divulga una composición acuosa de melatonina "estable" que comprende 10 mg/ml de propilenglicol. Esta composición acuosa es estable durante 3 meses después de su preparación, pero 6 meses después de su preparación se observan las siguientes características:

- La preparación a temperatura ambiente, tanto esterilizada en autoclave como no esterilizada en autoclave, tiene un aspecto amarillento, que probablemente se produce como resultado de la oxidación de la melatonina.
- La preparación a 4 °C, tanto esterilizada en autoclave como no esterilizada en autoclave, cristaliza y no se resuspende completamente cuando está a temperatura ambiente.

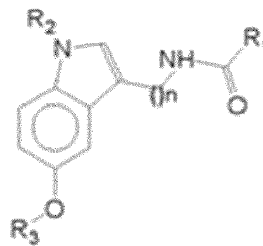
- La preparación a -20 °C, tanto esterilizada en autoclave como no esterilizada en autoclave, es turbia y esta turbidez no se elimina con éxito cuando la preparación se lleva hasta temperatura ambiente.

5 Por tanto, las preparaciones de este tipo no permiten periodos de almacenamiento superiores a 3 meses dada su escasa estabilidad a largo plazo en todas las condiciones de almacenamiento descritas en la solicitud de patente WO2012/156565. Por este motivo, todavía se requiere la producción de composiciones de melatonina mejoradas que presenten estabilidad a largo plazo y, por tanto, permitan un almacenamiento superior a 3 meses.

10 **Breve descripción de la invención**

Los autores de la presente invención han desarrollado una composición acuosa de melatonina que presenta una sorprendente estabilidad a largo plazo y permite altas concentraciones de dicho principio activo insoluble en agua. Las propiedades de dicha composición la hacen útil como producto inyectable, por ejemplo, para la administración intravenosa de la misma.

15 Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéuticamente aceptable en forma de una disolución inyectable que comprende agua o una solución salina, propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma, en la que la melatonina está a una concentración de entre 0,1 y 30 gramos por cada 100 ml de disolución total (p/v), en la que la proporción de propilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de disolución total (p/v), en la que la proporción de polietilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), y en la que el derivado de melatonina se define según la fórmula (I),



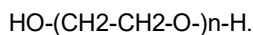
25 Fórmula I

en la que:

- 30 - n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;
- R₁ y R₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado; y
- 35 - R₂ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, -C(=O)O-Ra y -C(=O)-N(H)-Ra, en la que Ra es un grupo alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado.

Para llevar a cabo la presente invención puede usarse cualquier polietilenglicol (a continuación en el presente documento, PEG) adecuado para su uso en una formulación inyectable por vía intramuscular, subcutánea o intravenosa. El PEG tendrá preferiblemente un peso molecular de entre 200 y 600 unidades de masa atómica (uma), y más preferiblemente de 400 uma (PEG 400).

El PEG (polietilenglicol) es un poliéter muy usado en la industria y se expresa con la siguiente fórmula general:



45 También se le conoce con el nombre de "Macrogol", por lo que el PEG400 también puede describirse como Macrogol 400, y se encuentra como componente en la industria farmacéutica en gotas, disoluciones inyectables, lágrimas artificiales, cápsulas de gelatina, etc.

50 Las diferencias de peso molecular entre los distintos tipos de PEG hacen que además de dar un "apellido" al tipo de polietilenglicol, tengan diferente presentación y afinidad por el agua. Por ejemplo, el PEG 400 es un líquido viscoso incoloro con una alta higroscopicidad cercana a la del PG, mientras que el PEG 6000 es una sustancia sólida con una apariencia cerosa y baja higroscopicidad.

55 Todos tienen baja toxicidad, por ejemplo, la DL50 de PEG400 es de aproximadamente 30 g/kg (administración oral en ratas). Si se extrapolan los resultados, para una persona que pese 70 kg, la dosis tóxica sería de 2100 g. Estas características hacen que el PEG o Macrogol sea ideal para su uso como material base para la disolución de la presente invención.

Un segundo aspecto de la invención se refiere al uso de la composición descrita en el primer aspecto de la invención en la producción de un medicamento. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, a las composiciones farmacéuticas y a los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a la composición descrita en el primer aspecto de la invención para su uso como medicamento o para su uso en terapia.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de la composición descrita en el primer aspecto de la invención en la producción de un medicamento útil en sujetos humanos para el tratamiento de la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), el tratamiento de la septicemia en recién nacidos y niños; el tratamiento de la septicemia en adultos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento del daño mitocondrial, el tratamiento del edema pulmonar, el tratamiento de la insuficiencia renal o hepática o el tratamiento de una situación de estrés oxidativo generada durante la cirugía, y particularmente durante la cirugía abdominal.

Un aspecto alternativo con respecto al cuarto aspecto de la invención se refiere a la composición descrita en el primer aspecto de la invención para el tratamiento en un sujeto humano de la regulación del ritmo circadiano, la regulación de la respuesta inflamatoria, el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), el tratamiento de la septicemia en recién nacidos y niños; el tratamiento de la septicemia en adultos, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento del daño mitocondrial, el tratamiento del edema pulmonar, el tratamiento de la insuficiencia renal o hepática o el tratamiento de una situación de estrés oxidativo generada durante la cirugía, y particularmente durante la cirugía abdominal.

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

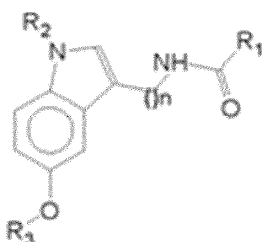
Las composiciones de la invención (véanse las composiciones del primer aspecto de la invención) se preparan usando métodos convencionales tales como los descritos o a los que se hace referencia en las farmacopeas española y estadounidense y textos de referencia similares.

Un quinto aspecto se refiere a la preparación de la composición de la invención, que comprende mezclar agua, propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma, sus sales, profármacos, derivados o solvatos.

Descripción detallada de la invención

Los autores han descubierto que el propilenglicol (PPG) solo sin complementarse con el uso de codisolventes, muchos de los cuales son potencialmente tóxicos, tales como etanol o NMP, es eficaz para solubilizar la melatonina; sin embargo, el PPG solo no permite la producción de composiciones de melatonina que presenten estabilidad a largo plazo. En ese sentido, los autores de la presente invención han descubierto cómo sorprendentemente el PPG complementado con polietilenglicol permite no sólo solubilizar la melatonina sino también producir composiciones que presentan estabilidad a largo plazo.

Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéuticamente aceptable en forma de una disolución inyectable que comprende agua o una solución salina, propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma, en la que la melatonina está a una concentración de entre 0,1 y 30 gramos por cada 100 ml de disolución total (p/v), en la que la proporción de propilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de disolución total (p/v), en la que la proporción de polietilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), y en la que el derivado de melatonina se define según la fórmula (I),



en la que:

- n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;
 - 5 - R₁ y R₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado; y
 - R₂ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, -C(=O)O-Ra y -C(=O)-N(H)-Ra, en la que Ra es un grupo alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado.
- 10 En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, la composición está liofilizada y comprende una proporción adecuada de cada uno de los siguientes componentes: propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma, con el fin de poder obtener, una vez rehidratada, cualquiera de las composiciones inyectables definidas en el primer aspecto de la invención.
- 15 Según una realización preferida del primer aspecto de la invención, la composición o disolución inyectable comprende:
- entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v) de propilenglicol, preferiblemente entre 10 y 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente aproximadamente 20 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v);
 - 20 - entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v) de polietilenglicol, preferiblemente entre 20 y 40 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente aproximadamente 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v);
 - 25 - entre 0,1 y 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v) de melatonina, preferiblemente entre 0,3 y 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente entre 0,3 y 20 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente entre 0,3 y 10 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente entre 0,3 y 2 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente entre 0,3 y 1 gramo por cada 100 ml de la disolución total (p/v), más preferiblemente entre 0,3 y 0,8 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v) e incluso más preferiblemente aproximadamente 0,6 g/100 ml de la disolución total; y
 - 30 - una cantidad suficiente de agua o solución salina.

35 Por tanto, la composición descrita en el primer aspecto de la invención permite cargas sorprendentemente altas de melatonina y al mismo tiempo es estable, ya que se encontró que a concentraciones relativamente bajas de propilenglicol (PPG) usado en la presente invención, la melatonina se solubiliza significativamente, reduciendo así el riesgo de irritación o dolor que puede presentarse como efecto secundario con la administración de PPG a altas concentraciones. Por tanto, es posible administrar dosis elevadas de melatonina sin administrar al mismo tiempo grandes cantidades de propilenglicol, que puede tener efectos tóxicos a dosis muy elevadas, y en cualquier caso reduciendo el riesgo de efectos secundarios.

40 La composición del primer aspecto de la invención también puede comprender otros excipientes farmacéuticamente aceptables. Según la definición de la EMEA, se considera excipiente cualquier componente de la composición que no sea un principio activo. Los ejemplos de excipientes que pueden usarse 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 solubles o hinchables modificadas, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio (Aquasorb, Blanose, Nymcel); agentes de tonicidad, tales como cloruro de sodio; o solubilizadores, tales como propilenglicol o polietilenglicoles. Estos excipientes deben estar dentro de los límites de la definición de la invención.

45 Según la presente invención, una composición o un componente de la misma "farmacéuticamente aceptable" indica que son fisiológicamente tolerables y la administración de los mismos conlleva un bajo riesgo de alergias, efectos secundarios, acontecimientos adversos u otras reacciones similares, tales como trastornos gástricos, mareos y similares, cuando se administran 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 estatal o federal o que está incluido 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 está libre de pirógenos.

50 La composición de la invención incluye melatonina, así como un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma. Por ejemplo, las sales farmacéuticamente aceptables se sintetizan a partir de melatonina mediante métodos químicos convencionales, generalmente haciéndola reaccionar con un ácido adecuado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de ambos. Generalmente se prefieren medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de adición de

ácidos minerales tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, y sales de adición de ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acetato, maleato, fumarato, citrato, oxalato, succinato, tartrato, malato, mandelato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato.

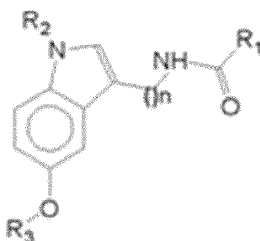
5 Tal como se usa en esta solicitud, el término "profármaco" se define en el presente documento como un compuesto químico que ha experimentado una derivatización química, tal como una sustitución o adición de un grupo químico adicional para cambiar (para uso farmacéutico) cualquiera de sus propiedades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

15 Los profármacos particularmente preferidos son aquellos que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de esta invención cuando tales compuestos se administran a un paciente (por ejemplo, permitiendo que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre) o que mejoran la liberación del compuesto original a un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o el sistema linfático) con respecto a la especie original.

20 Según esta invención, el término "solvato" debe entenderse como cualquier forma de melatonina según la invención que tenga otra molécula (muy probablemente un disolvente polar) unida mediante 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. Cabe señalar que las sales, los solvatos o los profármacos no farmacéuticamente aceptables también están dentro del alcance de la invención ya que pueden ser útiles en la preparación de sales, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

25 En el estado de la técnica se conocen diversos derivados de melatonina que también se incluyen en la presente invención. Según una realización particular, el derivado de melatonina se define según la fórmula (I), una sal, un profármaco o un solvato del mismo.

30



en la que,

35 n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;

R₁ y R₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado; y

40 R₂ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, -C(=O)O-Ra y -C(=O)-N(H)-Ra, en la que Ra es un grupo alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado.

45 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 diferentes momentos.

50 Generalmente, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de la composición de la invención y, por tanto, de la melatonina, dependerá de diversos factores, tales como la gravedad del trastorno que está tratándose, el sexo, la edad o el peso del paciente, entre muchos otros. Por ejemplo, la composición de la invención puede administrarse en el intervalo de 0,1 a 1000 mg/kg/día una o más veces al día con dosificaciones diarias totales convencionales.

55 La presente invención se refiere al uso de melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos en la preparación de un medicamento para el tratamiento en humanos o animales de procesos tales como la septicemia, para el tratamiento del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) o para el tratamiento del síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento del daño mitocondrial, el tratamiento del edema pulmonar, el tratamiento de la insuficiencia renal o hepática o el tratamiento de una situación de estrés oxidativo inducida por cirugía. En una realización particular, dicho uso implica la administración de entre 5 y 1.000 mg, entre 5 y 700 mg, entre 5 y 600 mg o entre 5 y 300 mg de melatonina cada 24 horas. En otra realización particular, la cantidad de melatonina administrada a un paciente 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. En general y según el cálculo de la dosis equivalente humana (Reagan-Shaw *et al.* 2007. Faseb J 22:659-661), las dosis mínimas de melatonina oscilarían entre 50 y 500 mg/día (Venegas *et al.* 2012. J. Pineal Res 52:217-227).

5 En otra realización preferida de la invención, dicho uso implica la administración de al menos 300 mg, preferiblemente al menos 400 mg e incluso más preferiblemente al menos 500 mg de melatonina cada 24 horas. En esta realización preferida de la invención, dicho uso se refiere preferiblemente al tratamiento de la septicemia.

10 En una realización particular, la administración se realiza mediante perfusión. En otra realización, la melatonina, sus sales, profármacos, derivados o solvatos se administran 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 veces o más al día hasta alcanzar la dosis diaria total requerida. El periodo de tratamiento puede variar según la evolución del paciente, y suele durar entre 1 y 30 días.

15 En una realización particular, dicha septicemia en adultos es una septicemia grave. El SRIS es una respuesta inflamatoria generalizada de una variedad de lesiones clínicas graves. Según la definición acordada por el Colegio Americano de Médicos del Tórax/Sociedad de Medicina de Cuidados Críticos, este síndrome se reconoce clínicamente por la presencia de dos o más de los siguientes síntomas (i) a (iv):

- 20 (i) Temperatura >38 °C o <36 °C.
- (ii) Frecuencia cardiaca >90 latidos/min.
- (iii) Frecuencia respiratoria >20 respiraciones/min o PaCO₂ <32 mmHg.
- 25 (iv) Recuento de glóbulos blancos >12.000 células/mm³, <4.000 células/mm³ o >10 % de las formas inmaduras (bandas).

30 La septicemia corresponde al SRIS debido a un foco claro de infección. Su diagnóstico requiere dos o más criterios de SRIS y la presencia de un cuadro clínico claro de infección o estudios microbiológicos (presencia de microorganismos patógenos en líquidos normalmente estériles, más de 100.000 UFC/ml en orina o en cultivos cuantitativos de secreciones bronquiales). Además, la septicemia se considera grave cuando se asocia con disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión (< 90 mm Hg de presión arterial sistólica). Las manifestaciones de hipoperfusión pueden incluir, pero no se limitan a, acidosis láctica (ácido láctico > 3 mmol/l), oliguria (diuresis 50 < 30 ml/h durante 3 horas o 700 ml en 24 horas), coagulopatía (prolongación del tiempo de protrombina) o trombocitopenia inferior a 100.000/ml) o un cambio agudo en el estado mental (agitación, obnubilación).

35 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 erradicar la enfermedad o uno o más síntomas asociados con dicha enfermedad. "Tratamiento" abarca también la prevención, mejora o erradicación de las secuelas fisiológicas de la enfermedad.

40 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, no se pretende que el término "comprende" y variantes del mismo excluyan otras características técnicas, complementos, componentes o etapas. Para los expertos en la técnica, otros objetos, ventajas y características de la invención se deducirán en parte a partir de la descripción y en parte a partir de la puesta en práctica de la invención.

Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración de la presente invención.

50 **Ejemplos**

La invención se ilustrará a continuación mediante pruebas realizadas por los inventores, mostrando claramente la estabilidad y eficacia de la composición de la invención.

55 Ejemplo 1. Preparación de la composición de la invención

Se preparó la melatonina para la disolución inyectable a una concentración de 6 mg/ml en aproximadamente el 20 % de propilenglicol y aproximadamente el 30 % de polietilenglicol y con agua libre de pirógenos en una cantidad suficiente (API).

60 Tabla 1. Composición cualitativa y cuantitativa de la composición sometida a prueba

Componente	Composición (por ml)	Función
Melatonina	6,0 mg	Principio activo

ES 2 965 521 T3

Propilenglicol	200,0 mg	Excipiente
Polietilenglicol (Macrogol)	300,0 mg	Excipiente
Agua para productos inyectables	Cantidad suficiente 1 ml	Disolvente

El material usado para envasar la composición descrita en la tabla 1 fueron ampollas de vidrio tipo I (EP) previamente esterilizadas en un horno.

5 Ejemplo 2. Pruebas de estabilidad

2.1. Principios generales

10 El presente estudio es un estudio de estabilidad del producto especificado en la tabla 1 después de la preparación y durante un periodo de 6 meses. Para ello se usaron tres baños de tamaño industrial que comprendían, cada uno, 1.000 ampollas del producto especificado en la tabla 1.

2.2 Resultados de la prueba de estabilidad

15 Tabla 2: Datos de estabilidad a largo plazo que contienen la disolución que comprende 6 mg/ml descrita en la tabla 1.

Disolución que comprende 6 mg/ml de melatonina para inyección en ampollas.				
Tamaño del lote: 1.000 ampollas		Tipo de baño: Lote reducido		
Fecha de fabricación: 27/02/2013		Envase del producto una vez cerrado: Ampollas de vidrio tipo I que contienen una disolución incolora, transparente y libre de partículas.		
Condiciones de prueba: Temperatura 25 °C +/- 2 °C				
Humedad relativa 60 % +/- 5 %				
Posición del producto: correcta				
Parámetro	Especificaciones técnicas	0 (03/2013)	3 (06/2013)	6 (06/2013)
Aspecto del producto	Ampolla de vidrio que contiene una disolución transparente e incolora. Libre de partículas.	Cumple con la especificación técnica	Cumple con la especificación técnica	Cumple con la especificación técnica
Identificación de melatonina/UV-visible	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Determinación del pH	5,5-7,5	6,6	6,6	6,5
Densidad	1,04-1,08	1,07	1,06	1,06
Volumen extraíble	Mayor de o igual a 9 ml	9,5	9,4	9,3
Productos de degradación individuales desconocidos totales de 5-metoxitriptamina TRR0,7 TRR2,0	< o = 1,5 %	n.d.	n.d.	0,11
	< o = 0,50 %	n.d.	n.d.	n.d.
	< o = 0,10 %	n.d.	n.d.	
	< o = 0,10 %			0,01
	< o = 0,10 %			0,08
Contenido de melatonina	5,7-6,5 mg/ml	5,96	5,84	5,76
Partículas subvisibles	> = 10 um: < o = 6.000 partículas/vial	115	135	108
	> = 25 um: < o = 600 partículas/vial	21	25	18
Estanqueidad	Ampolla hermética	Cumple con la especificación	Cumple con la especificación	Cumple con la especificación

		técnica	técnica	técnica
Endotoxinas bacterianas (prueba LAL)	< o = 35,1 UE/ml	<35,1	-	-
Prueba de esterilidad	Estéril	Estéril	-	-

A partir de la prueba de estabilidad a largo plazo mostrada, puede concluirse que las ampollas descritas que contienen la disolución que comprende 6 mg/ml de melatonina para inyección, después de un almacenamiento durante un periodo de 6 meses, cumplen con las especificaciones técnicas requeridas para un producto que tiene estas características.

Ejemplo 3. Estudio clínico con pacientes sépticos

La composición de la invención, la disolución que comprende 6 mg/ml de melatonina para inyección en ampollas descrita en el ejemplo 1, a continuación en el presente documento "producto inyectable de melatonina", se usó en un estudio clínico con 14 pacientes sépticos después de una cirugía abdominal distribuidos aleatoriamente en 2 grupos de estudio (A y B). El grupo A corresponde a los pacientes que, además del tratamiento convencional, recibieron el producto inyectable de melatonina a una dosis de 60 mg/día durante 5 días, tomándose muestras de sangre diariamente para realizar sucesivas determinaciones analíticas. El grupo de tratamiento B recibió tratamiento convencional y placebo, siendo este último el mismo vial con los mismos excipientes pero sin el principio activo melatonina; también se obtienen muestras de sangre diarias de cada paciente de este grupo para realizar sucesivas determinaciones analíticas. Las muestras de sangre se denominan T0, T1, T2, T3, T4 y T5.

De estas muestras se analizaron los siguientes parámetros sanguíneos de cada uno de los pacientes participantes: número de leucocitos, número de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, porcentaje de neutrófilos, porcentaje de linfocitos y número de plaquetas. Los parámetros bioquímicos determinados en cada paciente participante en el estudio fueron: transaminasas (GOT y GPT), gamma-glutamil transferasa, creatinina, urea, fosfatasa alcalina (ALP) y deshidrogenasa láctica (LDH).

Justificación de las determinaciones realizadas

Los parámetros sanguíneos que comprenden el número de leucocitos, neutrófilos y linfocitos, así como el número de plaquetas, son parámetros indicativos de un estado séptico. En este sentido, se sabe que la septicemia provoca una disminución del porcentaje de linfocitos.

Los parámetros bioquímicos determinados están relacionados con la función hepática, tales como:

- Glutamato oxalacetato transaminasa o aspartato aminotransferasa (GOT/AST): enzima perteneciente al grupo de las transaminasas que, mediante la transferencia de grupos amino, cataliza la conversión de aminoácidos en los correspondientes α -oxoácidos y viceversa. Se encuentra en el citoplasma y las mitocondrias. Es muy específica de una enfermedad hepática.
- Glutamato piruvato transaminasa o alanina aminotransferasa (GPT/ALT): enzima que también pertenece al grupo de las transaminasas y que, mediante la transferencia de grupos amino, cataliza la conversión de aminoácidos en los correspondientes α -oxoácidos y viceversa. Su mayor nivel de actividad se encuentra en el hígado.
- Gamma-glutamil transferasa (GGT): contribuye al diagnóstico y control de enfermedades hepato biliares. La actividad enzimática de la GGT a menudo es el único parámetro que aumenta respecto a enfermedades de este tipo y es muy sensible.
- Fosfatasa alcalina (ALP/FA): en el suero humano existen cuatro genotipos estructurales: el tipo hígado-hueso-riñón, el tipo intestinal, el tipo placentario y la variante de células madre. Esta enzima se encuentra en los osteoblastos, los hepatocitos, los riñones, el bazo, la placenta, la próstata, los leucocitos y el intestino delgado. De particular importancia es el tipo hígado-hueso-riñón.

En relación con la función renal, se han determinado los siguientes parámetros:

- La creatinina es una molécula de desecho que se genera a partir del metabolismo muscular. La creatinina proviene de la creatina, una molécula muy importante para la producción de energía en los músculos. Aproximadamente el 2 % de la creatina del cuerpo se convierte en creatinina todos los días. La creatinina se transporta desde los músculos hasta el riñón a través de la sangre. Los riñones filtran la mayor parte de la creatinina y la eliminan por la orina. La determinación de la creatinina en suero es una prueba que indica con bastante fiabilidad el estado de la función renal.

- Urea, cuya determinación es la prueba más ampliamente usada para evaluar la función renal. La urea es el producto final del metabolismo de proteínas y aminoácidos. En la degradación de proteínas, las proteínas se descomponen en aminoácidos y se desaminan. Con el amoniaco que se forma se sintetiza urea en el hígado. Esta es la ruta más importante en el cuerpo humano para la degradación del exceso de nitrógeno.

Para detectar lesiones en tejidos tales como el hígado, se ha determinado la enzima lactato deshidrogenasa (también denominada "ácido láctico deshidrogenasa" (LDH)), una enzima que se encuentra prácticamente en todos los tejidos del cuerpo humano. Desempeña un papel importante en la respiración celular (el proceso en el que la glucosa proveniente de los alimentos se convierte en energía que las células pueden usar).

Incluso si la LDH es abundante en las células de los tejidos, los niveles en sangre son generalmente bajos. Sin embargo, cuando los tejidos se dañan debido a una lesión o enfermedad, liberan más LDH al torrente circulatorio. Las condiciones que habitualmente provocan este aumento de la cantidad de LDH en el torrente circulatorio son las siguientes: hepatopatías, infartos, anemia, traumatismos musculares, fracturas óseas, cáncer, infecciones tales como meningitis, encefalitis o VIH.

Resultados y discusión

Los datos del estudio han sido analizados estadísticamente por un estadístico independiente y se obtienen los siguientes resultados:

- Leucocitos: los resultados muestran una disminución en los niveles de leucocitos tanto en el grupo A como en el grupo B; aunque los valores de leucocitos disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Glóbulos rojos: aunque los valores de glóbulos rojos disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Hemoglobina: aunque los valores de hemoglobina disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Hematocrito: aunque los valores de hematocrito disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Plaquetas: aunque los valores de plaquetas aumentan en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Linfocitos: existen diferencias significativas entre los grupos ($p=0,015$), es decir, el promedio de linfocitos es mayor en el grupo A (tratado con el producto inyectable de melatonina) que en el grupo B (placebo), independientemente del tiempo (las diferencias son las mismas en todos los momentos medidos). Además, el efecto del tiempo es estadísticamente significativo ($p=0,005$, ya que no se cumple la esfericidad), lo que significa que el aumento de los niveles de linfocitos es diferente en los distintos momentos medidos en el tiempo. Específicamente las diferencias se deben a los tiempos 4 y 5 respecto al tiempo inicial.
- Neutrófilos: al igual que en el caso de los linfocitos, existen diferencias significativas entre los grupos de estudio ($p=0,007$), es decir, el promedio de neutrófilos es mayor en el grupo B (placebo) que en el grupo A (melatonina), independientemente del tiempo (las diferencias son las mismas en todos los momentos medidos). Las diferencias en el tiempo son estadísticamente significativas ($p=0,042$, ya que no se cumple la esfericidad). Prácticamente puede decirse que, a partir del momento 3, la disminución empieza a ser significativa en el grupo A (melatonina).
- GOT: si bien los niveles iniciales de GOT son mayores en los pacientes sometidos a tratamiento (grupo A), las diferencias en los valores promedio no son estadísticamente significativas ($p=0,633$). Tampoco es significativo el cambio en los diferentes momentos en el tiempo, es decir, los niveles de GOT siguen siendo prácticamente idénticos.
- GPT: el cambio en los niveles de GPT no es significativo en los diferentes momentos medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.
- GGT: el cambio en los niveles de GGT no es significativo en los diferentes momentos medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.
- ALP (fosfatasa alcalina): el cambio en la fosfatasa alcalina no es significativo en los diferentes momentos

medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.

- 5 • Urea: no existen diferencias significativas en los niveles de urea a lo largo del tiempo; siguen siendo prácticamente idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,205$ para el grupo A y $p=0,959$ para el grupo B). Si se comparan los niveles de urea entre los dos grupos en cada momento medido, puede observarse que los niveles de urea son más altos en el grupo B (placebo) en todos los momentos medidos (excepto el último). Las diferencias son estadísticamente significativas.
- 10 • Creatinina: no existen diferencias significativas en los niveles de creatinina a lo largo del tiempo; siguen siendo idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,122$ para el grupo A y $p=0,831$ para el grupo B). Si se comparan los niveles de creatinina entre los dos grupos en cada momento medido, puede observarse que no existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de creatinina entre los grupos A y B.
- 15 • LDH: no existen diferencias significativas en los niveles de LDH a lo largo del tiempo; siguen siendo prácticamente idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,355$ para el grupo A y $p=0,921$ para el grupo B). Si se comparan los niveles de LDH entre los dos grupos en cada momento medido, puede observarse que los niveles de LDH son más altos en el grupo A (melatonina) en todos los momentos medidos, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas.

20

Análisis con pruebas no paramétricas:

Si bien se cumple la hipótesis de normalidad de todas las variables a pesar del pequeño tamaño de la muestra, se usaron pruebas no paramétricas por ser más robustas y adecuadas cuando las muestras son tan pequeñas.

25

Teniendo esto en cuenta, por un lado se ha comparado por separado la evolución en el tiempo de los diferentes parámetros de cada grupo mediante la prueba de Friedman para muestras independientes. Para la evolución en el tiempo se obtienen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,10$) en los siguientes parámetros:

30

- El nivel de hemoglobina observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,069$).
- El nivel de plaquetas observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,056$) y B ($p=0,069$).
- 35 • El nivel de linfocitos observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,030$) y B ($p=0,085$).
- El nivel de neutrófilos observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,070$).
- El nivel de GOT observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,013$) y B ($p=0,077$).
- 40 • El nivel de GPT observado en diferentes momentos para el grupo B ($p=0,004$).
- El nivel de GGT observado en diferentes momentos para el grupo A ($p=0,079$).

40

Además, se han comparado las diferencias directas entre los grupos A y B en cada momento de manera independiente mediante la prueba de Mann-Whitney para muestras independientes, dando los siguientes resultados:

45

- En el momento T2, existen diferencias entre A y B en los niveles de glóbulos rojos ($p=0,026$), hemoglobina ($p=0,038$) y hematocrito ($p=0,053$).
- 50 • En todo momento existen diferencias en los niveles de linfocitos.
- Existen diferencias en los niveles de neutrófilos entre A y B en T2 ($p=0,007$) y T3 ($p=0,011$).
- Existen diferencias en los niveles de GPT entre A y B en T5 ($p=0,038$).

55

Conclusiones

El tratamiento con el producto inyectable de melatonina en pacientes sépticos del grupo A que reciben el producto inyectable muestra un aumento progresivo del porcentaje de linfocitos. Este aumento es estadísticamente significativo. Estos pacientes también muestran una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de neutrófilos. Tanto el aumento de linfocitos como la disminución de neutrófilos se producen en todos los momentos del estudio, alcanzando niveles cercanos a los valores normales en individuos sanos al final del periodo de estudio. Esta situación conlleva una recuperación inmunológica en los pacientes que reciben tratamiento con el producto inyectable de melatonina, ya que se consigue el equilibrio entre linfocitos y neutrófilos en los pacientes que reciben

60

tratamiento con el producto inyectable.

Además, el tratamiento con el producto inyectable de melatonina no implica ningún daño hepático o renal en pacientes que reciben tratamiento con el producto inyectable.

5

Detalles del análisis estadístico

A continuación se proporcionan los detalles del análisis realizado sobre los parámetros medidos en todos los momentos (T0, ..., T5) del estudio.

10

Leucocitos

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Leucocitos 10_3 ml T0	A	14,7329	9,09637	7
	B	19,2857	7,82250	7
	Total	17,0093	8,48601	14
Leucocitos 10_3 ml T1	A	14,4200	9,59540	7
	B	19,0529	8,86479	7
	Total	16,7364	9,19473	14
Leucocitos 10_3 ml T2	A	11,6614	4,49294	7
	B	16,6786	5,94305	7
	Total	14,1700	5,69169	14
Leucocitos 10_3 ml T3	A	10,1457	4,71706	7
	B	15,5086	5,02559	7
	Total	12,8271	5,44697	14
Leucocitos 10_3 ml T4	A	11,9529	8,60995	7
	B	15,4971	3,56829	7
	Total	13,7250	6,59341	14
Leucocitos 10_3 ml T5	A	12,1114	6,91874	7
	B	12,8900	2,85623	7
	Total	12,5007	5,10116	14

15

Aunque los valores de leucocitos disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

Glóbulos rojos

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Glóbulos rojos 10_3 ml T0	A	4,1243	0,83320	7
	B	3,4043	1,06878	7
	Total	3,7643	0,99358	14
Glóbulos rojos 10_3 ml T1	A	3,8457	0,62612	7
	B	3,7671	0,74904	7
	Total	3,8064	0,66449	14
Glóbulos rojos 10_3 ml T2	A	3,8100	0,32655	7
	B	3,1486	0,64300	7
	Total	3,4793	0,59818	14
Glóbulos rojos 10_3 ml T3	A	3,6071	0,31700	7
	B	3,2843	0,49315	7

ES 2 965 521 T3

	Total	3,4457	0,43207	14
Glóbulos rojos 10_3 ml T4	A	3,6371	0,52506	7
	B	3,4357	0,56151	7
	Total	3,5364	0,53262	14
Glóbulos rojos 10_3 ml T5	A	3,6900	0,52173	7
	B	3,2643	0,66795	7
	Total	3,4771	0,61672	14

Aunque los valores de glóbulos rojos disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

5 Hemoglobina

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Hemoglobina 10_3 ml T0	A	12,0714	2,59597	7
	B	10,1143	2,72484	7
	Total	11,0929	2,75107	14
Hemoglobina 10_3 ml T1	A	11,0857	1,94202	7
	B	11,3143	1,88275	7
	Total	11,2000	1,84140	14
Hemoglobina 10_3 ml T2	A	11,0571	0,85021	7
	B	9,4143	1,63649	7
	Total	10,2357	1,51536	14
Hemoglobina 10_3 ml T3	A	10,6429	1,01301	7
	B	9,8143	1,15243	7
	Total	10,2286	1,12758	14
Hemoglobina 10_3 ml T4	A	10,6143	1,37408	7
	B	10,1429	1,28693	7
	Total	10,3786	1,30217	14
Hemoglobina 10_3 ml T5	A	10,7286	1,52065	7
	B	9,5143	1,54103	7
	Total	10,1214	1,60009	14

Aunque los valores de hemoglobina disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

10

Hematocrito

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Hematocrito (%) T0	A	34,2857	7,21097	7
	B	29,4714	8,19445	7
	Total	31,8786	7,82503	14
Hematocrito (%) T1	A	32,1143	5,31583	7
	B	32,9571	5,82662	7
	Total	32,5357	5,37610	14
Hematocrito (%) T2	A	31,9714	2,38447	7
	B	27,6143	5,00447	7

ES 2 965 521 T3

	Total	29,7929	4,39256	14
Hematocrito (%) T3	A	30,3857	2,65796	7
	B	28,7143	3,62971	7
	Total	29,5500	3,17702	14
Hematocrito (%) T4	A	30,6571	4,25435	7
	B	30,0571	3,99452	7
	Total	30,3571	3,97680	14
Hematocrito (%) T5	A	31,1143	4,22588	7
	B	28,5714	5,12826	7
	Total	29,8429	4,70331	14

Aunque los valores de hematocrito disminuyen en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

5 Plaquetas

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Plaquetas 10_3 ml T0	A	249,0000	165,65526	7
	B	387,7143	215,01451	7
	Total	318,3571	197,94778	14
Plaquetas 10_3 ml T1	A	234,4286	183,64355	7
	B	374,5714	229,87958	7
	Total	304,5000	212,70375	14
Plaquetas 10_3 ml T2	A	240,2857	196,55594	7
	B	316,8571	194,91146	7
	Total	278,5714	192,20771	14
Plaquetas 10_3 ml T3	A	256,1429	187,80879	7
	B	301,7143	213,66930	7
	Total	278,9286	194,70469	14
Plaquetas 10_3 ml T4	A	317,7143	250,15576	7
	B	320,8571	201,71880	7
	Total	319,2857	218,32313	14
Plaquetas 10_3 ml T5	A	380,1429	309,16847	7
	B	277,7143	220,31017	7
	Total	328,9286	263,32941	14

Aunque los valores de plaquetas aumentan en promedio en ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas.

10

Linfocitos

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Linfocitos 10_3 ml T0	A	7,9571	3,79599	7
	B	4,8286	2,78132	7
	Total	6,3929	3,58554	14
Linfocitos (%) T1	A	8,9571	5,23159	7
	B	4,6714	1,12207	7

ES 2 965 521 T3

	Total	6,8143	4,26125	14
Linfocitos (%) T2	A	11,9714	5,03545	7
	B	5,6143	2,59257	7
	Total	8,7929	5,06807	14
Linfocitos (%) T3	A	14,3571	7,43928	7
	B	5,5714	2,36130	7
	Total	9,9643	6,99270	14
Linfocitos (%) T4	A	16,6143	11,13903	7
	B	7,4143	3,56718	7
	Total	12,0143	9,26971	14
Linfocitos (%) T5	A	17,1571	9,21590	7
	B	8,2571	5,01825	7
	Total	12,7071	8,49402	14

Pruebas de efectos intraindividuales

Variable transformada: Promedio

5

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
Ordenada en el origen	7497,630	1	7497,630	62,512	0,000
Grupo	964,252	1	964,252	8,040	0,015
Error	1439,268	12	119,939		

Existen diferencias significativas entre grupos ($p=0,015$), es decir, el promedio de linfocitos es mayor en el grupo A que en el grupo B, independientemente del momento (las diferencias son las mismas en todos los momentos medidos).

10

Además, el efecto del tiempo es estadísticamente significativo ($p=0,005$, ya que no se cumple la esfericidad), lo que significa que el aumento de los niveles de linfocitos es diferente en los diferentes momentos medidos en el tiempo.

Específicamente, las diferencias se deben a los tiempos 4 y 5 respecto al tiempo inicial:

15

Pruebas de efectos intraindividuales

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
tiempo	Esfericidad asumida	478,435	5	95,687	6,345	0,000
	Greenhouse-Geisser	478,435	2,190	218,472	6,345	0,005
	Huynh-Feldt	478,435	2,921	163,772	6,345	0,002
	Límite inferior	478,435	1,000	478,435	6,345	0,027
tiempo grupo *	Esfericidad asumida	119,374	5	23,875	1,583	0,179
	Greenhouse-Geisser	119,374	2,190	54,511	1,583	0,223
	Huynh-Feldt	119,374	2,921	40,862	1,583	0,212
	Límite inferior	119,374	1,000	119,374	1,583	0,232
Error(tiempo)	Esfericidad asumida	904,861	60	15,081		
	Greenhouse-	904,861	26,279	34,433		

ES 2 965 521 T3

	Geisser					
	Huynh-Feldt	904,861	35,056	25,812		
	Límite inferior	904,861	12,000	75,405		

Pruebas de contrastes intraindividuales

Fuente	Tiempo	Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
tiempo	Nivel 2 respecto al nivel 1	2,486	1	2,486	0,119	0,736
	Nivel 3 respecto al nivel 1	80,640	1	80,640	4,410	0,058
	Nivel 4 respecto al nivel 1	178,571	1	178,571	4,678	0,051
	Nivel 5 respecto al nivel 1	442,406	1	442,406	6,974	0,022
	Nivel 6 respecto al nivel 1	558,183	1	558,183	8,240	0,014
tiempo grupo *	Nivel 2 respecto al nivel 1	4,686	1	4,686	0,225	0,644
	Nivel 3 respecto al nivel 1	36,483	1	36,483	1,995	0,183
	Nivel 4 respecto al nivel 1	112,011	1	112,011	2,934	0,112
	Nivel 5 respecto al nivel 1	129,018	1	129,018	2,034	0,179
	Nivel 6 respecto al nivel 1	116,583	1	116,583	1,721	0,214
Error(tiempo)	Nivel 2 respecto al nivel 1	249,977	12	20,831		
	Nivel 3 respecto al nivel 1	219,437	12	18,286		
	Nivel 4 respecto al nivel 1	458,117	12	38,176		
	Nivel 5 respecto al nivel 1	761,286	12	63,440		
	Nivel 6 respecto al nivel 1	812,914	12	67,743		

5 Neutrófilos

Grupo		Media	Desviación estándar	N
Neutrófilos (%) T0	A	87,1143	6,82799	7
	B	92,4286	5,35435	7
	Total	89,7714	6,50792	14
Neutrófilos (%) T1	A	86,3143	8,33175	7
	B	92,2714	2,84413	7
	Total	89,2929	6,73252	14
Neutrófilos (%) T2	A	81,2143	6,01953	7
	B	90,6429	4,01325	7
	Total	85,9286	6,93480	14
Neutrófilos (%) T3	A	79,0714	8,00411	7
	B	91,7571	3,77618	7
	Total	85,4143	8,91497	14
Neutrófilos (%) T4	A	77,8143	12,25988	7
	B	87,7857	6,93023	7
	Total	82,8000	10,87693	14
Neutrófilos (%) T5	A	76,7286	12,21757	7
	B	87,9571	6,84930	7
	Total	82,3429	11,15752	14

Como en el caso anterior, existen diferencias significativas entre grupos ($p=0,007$), es decir, el promedio de neutrófilos es mayor en el grupo B que en el grupo A, independientemente del momento (las diferencias son las mismas en todos los momentos medidos).

5

Pruebas de efectos intraindividuales

Variable transformada: Promedio

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
Ordenada en el origen	103363,479	1	103363,479	3804,053	0,000
Grupo	289,683	1	289,683	10,661	0,007
Error	326,063	12	27,172		

10

Las diferencias a lo largo del tiempo son estadísticamente significativas ($p=0,042$, ya que no se cumple la esfericidad). Prácticamente puede decirse que, después del momento 3, la disminución empieza a ser significativa.

Pruebas de efectos intraindividuales

15

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
tiempo	Esfericidad asumida	685,940	5	137,188	3,898	0,004
	Greenhouse-Geisser	685,940	1,725	397,654	3,898	0,042
	Huynh-Feldt	685,940	2,156	318,204	3,898	0,030
	Límite inferior	685,940	1,000	685,940	3,898	0,072
tiempo * grupo	Esfericidad asumida	148,626	5	29,725	0,845	0,524
	Greenhouse-Geisser	148,626	1,725	86,162	0,845	0,428
	Huynh-Feldt	148,626	2,156	68,947	0,845	0,449
	Límite inferior	148,626	1,000	148,626	0,845	0,376
Error(tiempo)	Esfericidad asumida	2111,492	60	35,192		
	Greenhouse-Geisser	2111,492	20,700	102,007		
	Huynh-Feldt	2111,492	25,868	81,626		
	Límite inferior	2111,492	12,000	175,958		

Pruebas de contrastes intraindividuales

Fuente	Tiempo	Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
tiempo	Nivel 2 respecto al nivel 1	3,206	1	3,206	0,073	0,791
	Nivel 3 respecto al nivel 1	206,746	1	206,746	14,423	0,003
	Nivel 4 respecto al nivel 1	265,786	1	265,786	3,255	0,096
	Nivel 5 respecto al nivel 1	680,411	1	680,411	4,826	0,048
	Nivel 6 respecto al nivel 1	772,571	1	772,571	4,499	0,055
tiempo * grupo	Nivel 2 respecto al nivel 1	1,446	1	1,446	0,033	0,859
	Nivel 3 respecto al nivel 1	59,246	1	59,246	4,133	0,065
	Nivel 4 respecto al nivel 1	190,183	1	190,183	2,329	0,153

ES 2 965 521 T3

Error(tiempo)	Nivel 5 respecto al nivel 1	75,911	1	75,911	0,538	0,477
	Nivel 6 respecto al nivel 1	122,426	1	122,426	0,713	0,415
	Nivel 2 respecto al nivel 1	525,577	12	43,798		
	Nivel 3 respecto al nivel 1	172,009	12	14,334		
	Nivel 4 respecto al nivel 1	979,811	12	81,651		
	Nivel 5 respecto al nivel 1	1691,737	12	140,978		
	Nivel 6 respecto al nivel 1	2060,663	12	171,722		

GOT

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
GOT T0	A	65,1667	51,40201	6
	B	27,9500	25,27795	6
	Total	46,5583	43,23398	12
GOT T1	A	56,3333	48,38457	6
	B	38,8333	22,24785	6
	Total	47,5833	37,04901	12
GOT T2	A	41,0000	41,26984	6
	B	45,6667	53,67184	6
	Total	43,3333	45,71121	12
GOT T3	A	38,3333	34,93232	6
	B	35,0333	24,83881	6
	Total	36,6833	28,94954	12
GOT T4	A	38,1667	35,92446	6
	B	40,7667	33,31556	6
	Total	39,4667	33,06020	12
GOT T5	A	44,8333	48,67614	6
	B	35,2500	29,48856	6
	Total	40,0417	38,69488	12

- 5 Si bien los niveles iniciales de GOT son mayores en los pacientes del tratamiento A, las diferencias en los valores promedio no son estadísticamente significativas ($p=0,633$). El cambio en los diferentes momentos tampoco es significativo, es decir, los niveles de GOT siguen siendo prácticamente idénticos.

Pruebas de efectos intraindividuales

10

Variable transformada: Promedio

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	df	Media cuadrática	F	Sig.
Ordenada en el origen	21448,926	1	21448,926	17,157	0,002
Grupo	303,343	1	303,343	0,243	0,633
Error	12501,881	10	1250,188		

GPT

15

Grupo	Media	Desviación estándar	N
GPT T0	A	51,0000	54,22791
	B	15,7167	9,56147

ES 2 965 521 T3

	Total	34,7154	42,93710	13
GPT T1	A	45,0000	46,54747	7
	B	25,5000	18,09696	6
	Total	36,0000	36,36161	13
GPT T2	A	40,2857	29,78654	7
	B	24,0000	12,69646	6
	Total	32,7692	24,12866	13
GPT T3	A	32,7143	21,06114	7
	B	17,7500	7,27839	6
	Total	25,8077	17,43982	13
GPT T4	A	30,5714	19,26012	7
	B	17,6000	7,75113	6
	Total	24,5846	15,99405	13
GPT T5	A	30,2857	21,47645	7
	B	13,6667	6,59293	6
	Total	22,6154	17,97470	13

El cambio en los niveles de GPT no es significativo en los diferentes momentos medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.

5 GGT

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
GGT T0	A	150,2857	158,16206	7
	B	94,9333	50,15283	6
	Total	124,7385	119,91896	13
GGT T1	A	131,7143	144,03786	7
	B	94,6667	53,64202	6
	Total	114,6154	109,27911	13
GGT T2	A	130,2857	140,32904	7
	B	82,3333	35,61835	6
	Total	108,1538	104,85136	13
GGT T3	A	142,4286	160,26526	7
	B	128,0000	94,47963	6
	Total	135,7692	128,91027	13
GGT T4	A	147,7143	134,40575	7
	B	211,5000	186,63735	6
	Total	177,1538	156,97709	13
GGT T5	A	240,8571	204,12858	7
	B	194,5000	194,53611	6
	Total	219,4615	192,82445	13

El cambio en los niveles de GGT no es significativo en los diferentes momentos medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.

ES 2 965 521 T3

Fosfatasa alcalina

	Grupo	Media	Desviación estándar	N
Fosfatasa T0	A	116,6667	87,96969	6
	B	95,0000	22,47665	6
	Total	105,8333	62,25145	12
Fosfatasa T1	A	100,5000	87,36761	6
	B	84,0000	30,02665	6
	Total	92,2500	62,87813	12
Fosfatasa T2	A	97,0000	54,85618	6
	B	74,8333	16,40020	6
	Total	85,9167	40,29992	12
Fosfatasa T3	A	106,3333	65,98081	6
	B	109,1667	70,30339	6
	Total	107,7500	65,02045	12
Fosfatasa T4	A	108,8333	54,57258	6
	B	159,3333	118,81021	6
	Total	134,0833	92,00836	12
Fosfatasa T5	A	112,1667	43,56336	6
	B	143,8333	102,89104	6
	Total	128,0000	77,12446	12

El cambio de fosfatasa alcalina no es significativo en los diferentes momentos medidos. Los valores medios tampoco son estadísticamente significativos.

5 Análisis con pruebas no paramétricas:

Por un lado, se compara por separado la evolución en el tiempo de los diferentes parámetros en cada grupo (mediante la prueba de Friedman para muestras independientes), obteniéndose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,10$) en:

10

- El nivel de hemoglobina observado en diferentes momentos para el grupo A ($p = 0,069$):

Grupo		hemoglobina 10_3 ml T0	hemoglobina 10_3 ml T1	hemoglobina 10_3 ml T2	hemoglobina 10_3 ml T3	hemoglobina 10_3 ml T4	hemoglobina 10_3 ml T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	12,0714	11,0857	11,0571	10,6429	10,6143	10,7286
	Mediana	12,3000	11,4000	11,0000	10,7000	10,3000	10,9000
	DE	2,59597	1,94202	0,85021	1,01301	1,37408	1,52065
	Mínimo	7,40	6,90	9,50	8,80	9,20	8,40
	Máximo	16,10	12,90	12,30	11,50	13,30	13,00
B	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	10,1143	11,3143	9,4143	9,8143	10,1429	9,5143
	Mediana	9,1000	11,1000	9,0000	9,9000	10,0000	9,6000
	DE	2,72484	1,88275	1,63649	1,15243	1,28693	1,54103
	Mínimo	8,40	8,60	7,60	8,70	8,80	7,40
	Máximo	16,10	14,10	12,50	11,90	12,30	11,40

ES 2 965 521 T3

• El nivel de plaquetas observado en diferentes momentos para los grupos A (p=0,056) y B (p=0,069):

Grupo		plaquetas 10_3 ml T0	plaquetas 10_3 ml T1	plaquetas 10_3 ml T2	plaquetas 10_3 ml T3	plaquetas 10_3 ml T4	plaquetas 10_3 ml T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	249,0000	234,4286	240,2857	256,1429	317,7143	380,1429
	Mediana	205,0000	147,0000	152,0000	185,0000	220,0000	269,0000
	DE	165,65526	183,64355	196,55594	187,80879	250,15576	309,16847
	Mínimo	87,00	44,00	33,00	33,00	59,00	97,00
	Máximo	521,00	558,00	578,00	549,00	784,00	963,00
B	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	387,7143	374,5714	316,8571	301,7143	320,8571	277,7143
	Mediana	350,0000	243,0000	185,0000	195,0000	267,0000	196,0000
	DE	215,01451	229,87958	194,91146	213,66930	201,71880	220,31017
	Mínimo	163,00	155,00	149,00	67,00	61,00	37,00
	Máximo	635,00	738,00	595,00	638,00	611,00	607,00

• El nivel de linfocitos observado en diferentes momentos para los grupos A (p=0,030) y B (p=0,085):

5

Grupo		linfocitos 10_3 ml T0	linfocitos (%) T1	linfocitos (%) T2	linfocitos (%) T3	linfocitos (%) T4	linfocitos (%) T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	7,9571	8,9571	11,9714	14,3571	16,6143	17,1571
	Mediana	7,2000	8,2000	11,0000	11,9000	12,5000	15,3000
	DE	3,79599	5,23159	5,03545	7,43928	11,13903	9,21590
	Mínimo	3,00	2,70	4,50	2,80	2,60	5,40
	Máximo	13,40	18,90	18,20	24,60	36,60	29,70
Perce- ntiles	25	4,3000	5,2000	8,0000	10,6000	11,5000	9,7000
	50	7,2000	8,2000	11,0000	11,9000	12,5000	15,3000
	75	12,1000	10,8000	17,2000	20,6000	25,6000	27,1000
B	N	Válido	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0
	Media	4,8286	4,6714	5,6143	5,5714	7,4143	8,2571
	Mediana	3,9000	5,2000	4,9000	5,4000	5,8000	7,7000
	DE	2,78132	1,12207	2,59257	2,36130	3,56718	5,01825
	Mínimo	3,30	2,60	3,10	2,20	4,30	2,00
	Máximo	11,10	5,70	10,30	9,40	14,10	17,90
Perce- ntiles	25	3,5000	3,9000	3,8000	4,3000	4,6000	4,5000
	50	3,9000	5,2000	4,9000	5,4000	5,8000	7,7000
	75	4,1000	5,6000	8,0000	7,6000	9,9000	10,1000

• El nivel de neutrófilos observado en diferentes momentos para el grupo A (p=0,070):

ES 2 965 521 T3

Grupo		neutrófilos (%) T0	neutrófilos (%) T1	neutrófilos (%) T2	neutrófilos (%) T3	neutrófilos (%) T4	neutrófilos (%) T5	
A	N	Válido	7	7	7	7	7	
		Perdido	0	0	0	0	0	
	Media		87,1143	86,3143	81,2143	79,0714	77,8143	76,7286
	Mediana		88,6000	86,9000	81,1000	75,8000	79,5000	79,7000
	DE		6,82799	8,33175	6,01953	8,00411	12,25988	12,21757
	Mínimo		74,00	73,30	72,90	71,30	56,80	61,90
	Máximo		95,20	95,40	91,80	92,90	94,10	91,90
	Percen- tiles	25	83,1000	78,7000	77,5000	74,1000	67,3000	65,7000
		50	88,6000	86,9000	81,1000	75,8000	79,5000	79,7000
		75	91,0000	94,8000	84,5000	87,6000	85,0000	89,6000
B	N	Válido	7	7	7	7	7	
		Perdido	0	0	0	0	0	
	Media		92,4286	92,2714	90,6429	91,7571	87,7857	87,9571
	Mediana		94,3000	92,5000	92,2000	92,4000	88,4000	89,9000
	DE		5,35435	2,84413	4,01325	3,77618	6,93023	6,84930
	Mínimo		80,50	87,30	83,80	84,90	77,30	76,30
	Máximo		96,20	96,10	95,60	96,10	94,50	97,30
	Percen- tiles	25	92,9000	90,4000	87,0000	89,5000	80,5000	81,7000
		50	94,3000	92,5000	92,2000	92,4000	88,4000	89,9000
		75	94,9000	94,1000	93,3000	95,3000	94,2000	90,8000

• El nivel de GOT observado en diferentes momentos para los grupos A ($p=0,013$) y B ($p=0,077$):

Grupo		GOT T0	GOT T1	GOT T2	GOT T3	GOT T4	GOT T5	
A	N	Válido	7	7	7	7	7	
		Perdido	0	0	0	0	0	
	Media		60,4286	54,0000	41,7143	38,3333	36,2857	42,0000
	Mediana		36,0000	40,0000	32,0000	22,5000	22,0000	25,0000
	DE		48,56905	44,59821	37,72141	34,93232	33,16984	45,06292
	Mínimo		16,00	13,00	8,00	15,00	18,00	21,00
	Máximo		147,00	145,00	122,00	106,00	110,00	144,00
	Percen- tiles	25	29,0000	26,0000	18,0000	17,2500	20,0000	23,0000
		50	36,0000	40,0000	32,0000	22,5000	22,0000	25,0000
		75	108,0000	74,0000	46,0000	61,0000	38,0000	30,0000
B	N	Válido	6	6	6	6	6	
		Perdido	1	1	1	1	1	
	Media		27,9500	38,8333	43,4286	33,8857	38,2286	33,2143
	Mediana		19,2500	28,5000	25,0000	23,0000	23,0000	24,5000
	DE		25,27795	22,24785	49,35199	22,87702	31,14534	27,45277
	Mínimo		11,00	20,00	13,00	15,00	13,00	15,00
	Máximo		78,00	74,00	151,00	72,20	99,60	94,00
Percen-	25	11,9000	22,2500	16,0000	19,0000	18,0000	19,0000	

ES 2 965 521 T3

tiles	50	19,2500	28,5000	25,0000	23,0000	23,0000	24,5000
	75	40,5000	62,7500	53,0000	61,0000	60,0000	34,0000

• El nivel de GPT observado en diferentes momentos para el grupo B (p=0,004):

Grupo		GPT T0	GPT T1	GPT T2	GPT T3	GPT T4	GPT T5	
A	N	Válido	7	7	7	7	7	
		Perdido	0	0	0	0	0	
	Media		51,0000	45,0000	40,2857	32,7143	30,5714	30,2857
	Mediana		36,0000	32,0000	27,0000	31,0000	31,0000	27,0000
	DE		54,22791	46,54747	29,78654	21,06114	19,26012	21,47645
	Mínimo		7,00	7,00	8,00	5,00	9,00	10,00
	Máximo		167,00	143,00	79,00	56,00	59,00	73,00
	Percentiles	25	15,0000	16,0000	15,0000	15,0000	12,0000	13,0000
		50	36,0000	32,0000	27,0000	31,0000	31,0000	27,0000
		75	60,0000	55,0000	76,0000	54,0000	49,0000	40,0000
B	N	Válido	6	6	7	7	7	
		Perdido	1	1	0	0	0	
	Media		15,7167	25,5000	22,2857	16,2143	16,2286	12,2857
	Mediana		14,0000	19,5000	20,0000	15,0000	17,0000	12,0000
	DE		9,56147	18,09696	12,44607	7,78812	7,95188	7,04070
	Mínimo		5,50	12,00	11,00	7,00	8,00	4,00
	Máximo		33,50	60,00	43,00	28,00	31,00	23,00
	Percentiles	25	9,6250	12,7500	12,0000	10,0000	9,0000	4,0000
		50	14,0000	19,5000	20,0000	15,0000	17,0000	12,0000
		75	20,6000	36,7500	36,0000	22,0000	19,0000	18,0000

5 • El nivel de GGT observado en diferentes momentos para el grupo A (p=0,079):

Grupo		GGT T0	GGT T1	GGT T2	GGT T3	GGT T4	GGT T5	
A	N	Válido	7	7	7	7	7	
		Perdido	0	0	0	0	0	
	Media		150,2857	131,7143	130,2857	142,4286	147,7143	240,8571
	Mediana		68,0000	56,0000	69,0000	74,0000	98,0000	163,0000
	DE		158,16206	144,03786	140,32904	160,26526	134,40575	204,12858
	Mínimo		33,00	28,00	29,00	33,00	34,00	39,00
	Máximo		418,00	377,00	398,00	481,00	432,00	610,00
	Percentiles	25	37,0000	30,0000	34,0000	46,0000	76,0000	112,0000
		50	68,0000	56,0000	69,0000	74,0000	98,0000	163,0000
		75	335,0000	296,0000	246,0000	210,0000	190,0000	436,0000
B	N	Válido	6	6	7	7	7	
		Perdido	1	1	0	0	0	
	Media		94,9333	94,6667	81,7143	119,1429	190,0000	176,5714
	Mediana		108,0000	79,0000	83,0000	87,0000	110,0000	120,0000
	DE		50,15283	53,64202	32,55618	89,37455	179,62090	183,81227

ES 2 965 521 T3

	Mínimo	31,60	32,00	39,00	40,00	37,00	37,00	
	Máximo	144,00	191,00	140,00	281,00	476,00	554,00	
	Perce- ntiles	25	35,6500	64,2500	51,0000	41,0000	40,0000	54,0000
		50	108,0000	79,0000	83,0000	87,0000	110,0000	120,0000
75		141,7500	131,7500	94,0000	193,0000	396,0000	271,0000	

• Si se comparan las diferencias directas entre los grupos A y B en cada momento de manera independiente (prueba de Mann-Whitney para muestras independientes), en el momento T2, existen diferencias entre A y B en los niveles de glóbulos rojos ($p=0,026$), hemoglobina ($p=0,038$) y hematocrito ($p=0,053$).

5

• En los niveles de linfocitos hay diferencias en todo momento:

	linfocitos 10_3 ml T0	linfocitos (%) T1	linfocitos (%) T2	linfocitos (%) T3	linfocitos (%) T4	linfocitos (%) T5
U de Mann-Whitney	11,000	9,500	6,500	6,000	10,000	9,000
W de Wilcoxon	39,000	37,500	34,500	34,000	38,000	37,000
Z	-1,727	-1,919	-2,302	-2,366	-1,853	-1,981
Sig. asintót. (bilateral)	0,084	0,055	0,021	0,018	0,064	0,048
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	0,097a	0,053a	0,017a	0,017a	0,073a	0,053a

• Existen diferencias en los niveles de neutrófilos entre A y B en T2 ($p=0,007$) y T3 ($p=0,011$)

10

• Existen diferencias en los niveles de GPT entre A y B en T5 ($p=0,038$)

• No existen diferencias significativas en los niveles de urea a lo largo del tiempo; siguen siendo prácticamente idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,205$ para el grupo A y $p=0,959$ para el grupo B):

15

UREA

Grupo			urea T0	urea T1	urea T2	urea T3	urea T4	urea T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0	0
		Media	51,4286	47,7143	45,0000	39,4286	40,2857	43,5714
		Mediana	57,0000	61,0000	60,0000	57,0000	54,0000	55,0000
		DE	26,13973	27,13985	28,56571	25,81897	30,05946	31,57455
		Mínimo	9,00	5,00	10,00	7,00	2,00	4,00
		Máximo	83,00	74,00	77,00	67,00	72,00	79,00
	Percentiles	25	23,0000	19,0000	14,0000	11,0000	8,0000	10,0000
		50	57,0000	61,0000	60,0000	57,0000	54,0000	55,0000
		75	69,0000	73,0000	71,0000	58,0000	66,0000	78,0000
B	N	Válido	7	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0	0
		Media	111,2857	115,0000	109,0000	114,2857	117,5714	115,7143
		Mediana	117,0000	120,0000	92,0000	100,0000	90,0000	99,0000
		DE	37,94168	33,78856	46,38965	54,75921	73,16160	85,85397
		Mínimo	62,00	68,00	66,00	69,00	44,00	30,00
		Máximo	169,00	172,00	191,00	213,00	250,00	260,00
	Percentiles	25	64,0000	84,0000	71,0000	71,0000	61,0000	55,0000
		50	117,0000	120,0000	92,0000	100,0000	90,0000	99,0000

ES 2 965 521 T3

75	133,0000	130,0000	150,0000	166,0000	182,0000	208,0000
----	----------	----------	----------	----------	----------	----------

• Sin embargo, si se comparan los niveles de urea entre los dos grupos en cada momento medido, los niveles de urea son más altos en el grupo B en todos los momentos medidos excepto en el último. Las diferencias son estadísticamente significativas:

5

Grupo		N	Media	DE	EEM	p
urea T0	A	7	51,4286	26,13973	9,87989	0,011
	B	7	111,2857	37,94168	14,34061	
urea T1	A	7	47,7143	27,13985	10,25790	0,002
	B	7	115,0000	33,78856	12,77087	
urea T2	A	7	45,0000	28,56571	10,79682	0,004
	B	7	109,0000	46,38965	17,53364	
urea T3	A	7	39,4286	25,81897	9,75865	0,001
	B	7	114,2857	54,75921	20,69704	
urea T4	A	7	40,2857	30,05946	11,36141	0,026
	B	7	117,5714	73,16160	27,65248	
urea T5	A	7	43,5714	31,57455	11,93406	0,073
	B	7	115,7143	85,85397	32,44975	

Además, la evolución en el tiempo de los siguientes parámetros en cada grupo por separado no ha mostrado diferencias significativas:

10 CREATINA

• No existen diferencias significativas en los niveles de creatinina a lo largo del tiempo; siguen siendo idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,122$ para el grupo A y $p=0,831$ para el grupo B):

Grupo			creatinina T0	creatinina T1	creatinina T2	creatinina T3	creatinina T4	creatinina T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0	0
		Media	1,7614	1,4957	1,3343	1,1929	1,1300	1,0571
		Mediana	1,4400	1,1000	0,9700	1,1200	1,2200	0,7600
		DE	1,15338	0,99052	0,90526	0,79229	0,61709	0,61302
		Mínimo	0,49	0,48	0,46	0,39	0,46	0,40
		Máximo	3,70	2,80	2,47	2,18	2,05	1,94
	Percentiles	25	0,7500	0,6800	0,5000	0,4100	0,5200	0,5900
		50	1,4400	1,1000	0,9700	1,1200	1,2200	0,7600
		75	2,9100	2,7400	2,2200	1,9500	1,6700	1,7100
B	N	Válido	7	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0	0
		Media	2,1157	2,1000	1,8843	1,8357	1,7600	1,5829
		Mediana	2,0400	1,9700	1,9600	1,4100	1,6900	1,7200
		DE	1,11884	0,84766	0,79521	0,93259	0,99698	1,05880
		Mínimo	0,54	0,80	0,64	0,67	0,54	0,39
		Máximo	4,18	3,47	2,85	3,10	2,77	2,89
	Percentiles	25	1,6000	1,5800	1,1900	1,2300	00,7600	0,6100
		50	2,0400	1,9700	1,9600	1,4100	1,6900	1,7200
		75	2,6300	2,7000	2,7400	2,8900	2,7600	2,8200

ES 2 965 521 T3

• Si se comparan los niveles de creatinina entre los dos grupos en cada momento medido, puede observarse que no existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de creatinina entre los grupos A y B:

Grupo		N	Media	DE	EEM	p
creatinina T0	A	7	1,7614	1,15338	0,43594	0,456
	B	7	2,1157	1,11884	0,42288	
creatinina T1	A	7	1,4957	0,99052	0,37438	0,318
	B	7	2,1000	0,84766	0,32039	
creatinina T2	A	7	1,3343	0,90526	0,34216	0,318
	B	7	1,8843	0,79521	0,30056	
creatinina T3	A	7	1,1929	0,79229	0,29946	0,165
	B	7	1,8357	0,93259	0,35249	
creatinina T4	A	7	1,1300	0,61709	0,23324	0,209
	B	7	1,7600	0,99698	0,37682	
creatinina T5	A	7	1,0571	0,61302	0,23170	0,318
	B	7	1,5829	1,05880	0,40019	

5 LDH

• No hay diferencias significativas en los niveles de LDH a lo largo del tiempo; siguen siendo prácticamente idénticos en ambos grupos (prueba de Friedman, $p=0,355$ para el grupo A y $p=0,921$ para el grupo B):

Grupo			LDH T0	LDH T1	LDH T2	LDH T3	LDH T4	LDH T5
A	N	Válido	7	7	7	7	7	7
		Perdido	0	0	0	0	0	0
		Media	708,5714	685,8571	638,0000	658,7143	602,4286	707,8571
		Mediana	561,0000	631,0000	418,0000	499,0000	380,0000	552,0000
		DE	345,48992	345,16538	474,81435	445,02723	458,08255	354,42462
		Mínimo	504,00	320,00	327,00	377,00	364,00	397,00
		Máximo	1474,00	1369,00	1677,00	1659,00	1623,00	1421,00
	Percentiles	25	524,0000	421,0000	405,0000	480,0000	367,0000	491,0000
		50	561,0000	631,0000	418,0000	499,0000	380,0000	552,0000
		75	713,0000	836,0000	714,0000	570,0000	556,0000	912,0000
B	N	Válido	6	7	7	7	7	7
		Perdido	1	0	0	0	0	0
		Media	430,6667	591,4286	580,2857	570,5714	544,4286	609,5714
		Mediana	420,0000	565,0000	545,0000	532,0000	590,0000	537,0000
		DE	156,18024	142,31989	189,49557	159,89982	187,55964	257,69805
		Mínimo	197,00	359,00	391,00	329,00	305,00	351,00
		Máximo	617,00	781,00	979,00	811,00	789,00	1066,00
	Percentiles	25	306,5000	540,0000	468,0000	465,0000	343,0000	408,0000
		50	420,0000	565,0000	545,0000	532,0000	590,0000	537,0000
		75	594,5000	756,0000	611,0000	697,0000	683,0000	819,0000

10 • Si se comparan los niveles de LDH entre los dos grupos en cada momento medido, los niveles de LDH son más altos en el grupo A en todos los momentos medidos, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas:

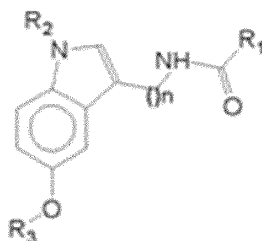
Grupo	N	Media	DE	EEM	p
LDH T0 A	7	708,5714	345,48992	130,58292	0,073

ES 2 965 521 T3

	B	6	430,6667	156,18024	63,76032	
LDH T1	A	7	685,8571	345,16538	130,46025	0,805
	B	7	591,4286	142,31989	53,79186	
LDH T2	A	7	638,0000	474,81435	179,46296	0,535
	B	7	580,2857	189,49557	71,62259	
LDH T3	A	7	658,7143	445,02723	168,20448	0,710
	B	7	570,5714	159,89982	60,43645	
LDH T4	A	7	602,4286	458,08255	173,13893	0,710
	B	7	544,4286	187,55964	70,89088	
LDH T5	A	7	707,8571	354,42462	133,95991	0,620
	B	7	609,5714	257,69805	97,40071	

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéuticamente aceptable en forma de una disolución inyectable que comprende agua o una solución salina, propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma, en la que la melatonina está a una concentración de entre 0,1 y 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), en la que la proporción de propilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), en la que la proporción de polietilenglicol está comprendida entre 5 y 50 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), y en la que el derivado de melatonina se define según la fórmula (I),



en la que:

- n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;
 - R₁ y R₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado; y
 - R₂ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, -C(=O)O-Ra y -C(=O)-N(H)-Ra, en la que Ra es un grupo alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado.
2. Composición farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1, en la que la melatonina está a una concentración de 0,6 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v), en la que la proporción de propilenglicol es de 20 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v) y en la que la proporción de polietilenglicol es de 30 gramos por cada 100 ml de la disolución total (p/v).
3. Composición farmacéuticamente aceptable según las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada porque dicha composición está liofilizada.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende un segundo principio activo.
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en forma de disolución inyectable intravenosa.
7. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la producción de un medicamento.
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en terapia.
9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento en humanos (adultos, niños y/o recién nacidos) o animales de 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 septicemia, el tratamiento de infartos de miocardio, el tratamiento del daño mitocondrial, el tratamiento del edema pulmonar, el tratamiento de la insuficiencia renal o hepática o el tratamiento del estrés oxidativo inducido por cirugía.
10. Composición para su uso según las reivindicaciones 8 a 9, en la que la administración se realiza mediante perfusión.
11. Composición para su uso según las reivindicaciones 8 a 9, en la que la administración se extiende a lo largo del tiempo entre 1 y 30 días.
12. Método para la preparación de la composición inyectable farmacéuticamente aceptable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende mezclar agua, propilenglicol, polietilenglicol y melatonina o un derivado, una sal, un profármaco o un solvato de la misma.