

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 798**

21 Número de solicitud: 201101158

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/4045** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **19.10.2011**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **12.07.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**12.07.2012**

71 Solicitante/s:  
**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**Cuesta del Hospicio, s/n**  
**18071 Granada, ES**

72 Inventor/es:  
**ESCAMES ROSA , GERMAINE y**  
**ACUÑA CASTROVIEJO, DARÍO**

74 Agente/Representante:  
**No consta**

54 Título: **USO DE MELATONINA PARA EL TRATAMIENTO Y/O PREVENCIÓN DE LA MUCOSITIS.**

57 Resumen:

Uso de melatonina para el tratamiento y/o prevención de la mucositis.

La presente invención se refiere al uso de una composición que comprende melatonina o un derivado de la misma en una proporción del 25% al 5% p/v para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis. La mucositis preferiblemente está causada por radioterapia y/o quimioterapia y se refiere preferiblemente a mucositis oral.

ES 2 384 798 A1

**DESCRIPCIÓN**

**USO DE MELATONINA PARA EL TRATAMIENTO Y/O PREVENCIÓN DE LA MUCOSITIS**

La presente invención se refiere al uso de una composición que comprende  
5 melatonina (N-Acetil-5-metoxitriptamina) o de sus derivados en una  
concentración del 2'5% al 5% peso/volumen (p/v) para la elaboración de una  
composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis.  
Preferentemente la mucositis está causada por radioterapia y/o quimioterapia.  
Por tanto, la invención se podría encuadrar en el campo de la medicina.

10

**ESTADO DE LA TÉCNICA**

El tratamiento de los tumores malignos con radioterapia o quimioterapia, o la  
asociación de ambas, es cada vez más efectivo, pero se asocia a efectos  
15 secundarios a corto y largo plazo. Entre los efectos secundarios se encuentran  
los trastornos en la función e integridad de la mucosa oral. Las consecuencias  
incluyen ulceración grave (mucositis) y sobreinfección fúngica de la boca  
(candidiasis, muguet). Estas complicaciones inducidas por la enfermedad y sus  
tratamientos, conllevan dolor en la deglución, disfagia, desnutrición, retrasos en  
20 la administración de quimioterapia, interrupciones del esquema de radioterapia,  
pérdida de la efectividad de los tratamientos oncológicos, estancias  
hospitalarias prolongadas, costes elevados y, en algunos pacientes,  
infecciones potencialmente letales (sepsis).

25 La mucositis es una reacción inflamatoria que afecta a todo el tracto  
gastrointestinal, desde la boca al ano, y es uno de los principales efectos  
adversos de la quimioterapia y/o radioterapia y de los trasplantes de médula  
ósea. La mucositis además puede ser causada por agentes químicos tales  
como corticoides, fármacos inmunosupresores (azatioprina, ciclosporina A),  
30 fármacos xerostomizantes, ansiolíticos, antidepresivos, antihistamínicos,  
estimulantes simpaticomiméticos, antiparkinsonianos, antipsicóticos,  
tratamientoos gingivales, hidantoínas o antibióticos de amplio espectro.

La mucositis oral (u oromucositis) inducida por radiaciones ionizantes (o también denominada, radioinducida) y por agentes quimioterápicos constituye actualmente uno de los principales problemas de la terapia de los pacientes con cáncer. Un 40% de los pacientes que reciben quimioterapia y/o radioterapia, y hasta un 76% de los pacientes trasplantados de médula ósea, desarrollan problemas bucales, siendo los más frecuentes: mucositis, infección local, dolor y hemorragia. En los pacientes con cáncer de cabeza y cuello, el 97% desarrolla algún grado de mucositis, y el 100% de los sometidos a radioterapia fraccionada durante un tiempo prolongado también la desarrollan (Trotti A *et al.* Radiotherapy and Oncology 2003, 66:253-262). El daño producido por las radiaciones ionizantes es debido a mecanismos directos e indirectos. Los efectos directos se deben a la acción mutagénica de la radiación en el ácido desoxirribonucleico (ADN), mientras que los mecanismos indirectos (aproximadamente el 70% de los mismos) son debido al efecto de la radiación sobre las moléculas de agua dando lugar a la formación de radicales libres (Trotti A *et al.* Radiotherapy and Oncology 2003, 66:253-262).

La mucositis se clasifica ,según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en diferentes grados atendiendo a la sintomatología. Grado 0: normalidad; grado 1: eritema generalizado, mucosa rosada no dolorosa y con abundante saliva, voz normal; grado 2: eritema, úlceras poco extensas, se mantiene la deglución de sólidos; grado 3: eritema, edema o úlceras extensas, el paciente sólo puede deglutir líquidos, conlleva dolor y dificultad para hablar; grado 4, úlceras muy extensas, encías sangrantes, infecciones, no hay saliva, dolor muy intenso, soporte enteral o parenteral.

La mucositis aparece como consecuencia de una serie de eventos biológicos que empiezan en la submucosa y progresan hacia el epitelio y son comunes para las mucositis de distintas etiologías. En radioterapia y quimioterapia se ha descrito que en una primera fase hay un aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de daño del ADN. Se activan factores de transcripción como

el factor nuclear kappa-B (NF-kB). Hay un aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias, incluidas la interleukina 1(IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), que provocan apoptosis y daño celular. Esta reacción inflamatoria produce daño en la mucosa con la consecuente aparición

5 de úlceras. Estas células van a ser colonizadas por bacterias y se activan macrófagos que producen más citoquinas responsables de todo el daño tisular. En todo este proceso hay un gran aumento de radicales libres que contribuyen a incrementar el proceso inflamatorio y el daño celular. En una segunda fase, la radioterapia y/o la quimioterapia inhiben la replicación de las células epiteliales

10 disminuyendo la renovación celular. En una tercera fase la colonización bacteriana y la superficie ulcerada sigue incrementándose, facilitando la aparición de una infección sistémica (Volpato LE *et al.* Mol Cancer Ther 2007, 6:3122-3130). La mucositis es una patología inflamatoria que no responde al tratamiento con los antiinflamatorios conocidos. La mucositis es un proceso en

15 el cual podría intervenir algún mecanismo bioquímico diferente al resto de los procesos inflamatorios, como podría ser la vía del inflammasoma (Escames G, *et al.* Hum Genet, Julio, 2011, DOI 10.1007/s00439-011-1057),.En la actualidad no tiene tratamiento que provoque una reversión total de la misma o que prevenga totalmente su aparición.

20

Con el fin de tratar y prevenir la mucositis se han utilizado una gran variedad de terapias hasta el momento sin resultados de reversión total de la misma, por ejemplo, se ha descrito el tratamiento con aciclovir, bencidamina, betacaroteno, fosfato de calcio, enjuagues con alopurinol, aloe vera, clorhexidina, manzanilla,

25 etopósido, ácido folínico, glutamina, factor estimulante de colonias y granulocitos-macrófagos (GM-CSF), nistatina, misonidazol, povidona, pilocarpina, hematoxilina, prednisona o sucralfato (Worthington HV *et al.* Cochrane Database Syst Rev. Octubre de 2007,17;(4) DOI: 10.1002/14651858.CD000978.pub3; Clarkson JE *et al.*, Cochrane Database

30 Syst Rev. Agosto de 2010, 4;(8)), DOI: 10.1002/14651858.CD001973.pub4.

En consecuencia, existe la necesidad de una herramienta que permita la reversión y la prevención total de la mucositis, concretamente en pacientes sometidos a radioterapia y/o quimioterapia.

## 5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En la presente invención se describe el uso de una composición que comprende melatonina o un derivado de la misma a una concentración del 2'5 al 5% p/v para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis..

Se muestran resultados *in vivo* de protección de la mucosa oral al daño producido por radioterapia o quimioterapia. La composición de la invención es útil para proteger la mucosa oral así como la mucosa gastrointestinal. En la presente invención se demuestra que concentraciones inferiores a las recogidas en la composición de la invención no son capaces de revertir por completo la mucositis, mientras que concentraciones iguales o superiores al 3% p/v son capaces de tratar y de revertir al 100% la mucositis causada por radiaciones ionizantes. Se muestran resultados de distintas vías de administración, siendo la vía tópica la que mejor protección ofrece a la mucositis oral.

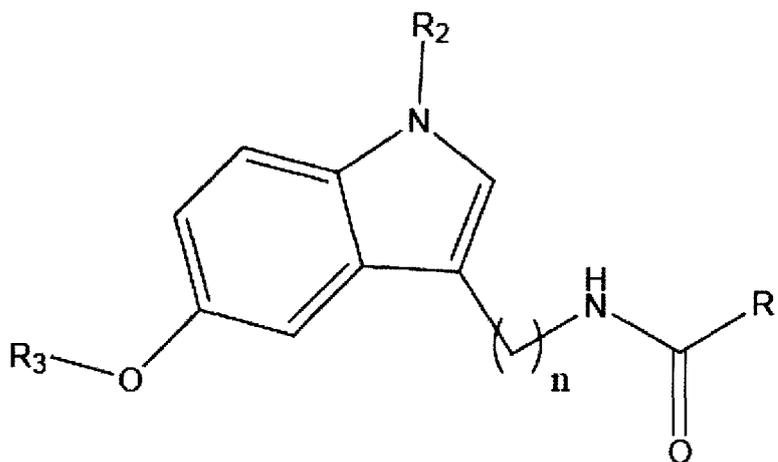
Por lo aquí descrito, la presente invención se refiere al uso de una composición que comprende melatonina o un derivado de la misma a una concentración del 2'5% al 5% p/v para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis. En adelante nos referiremos a ella como a la "composición de la invención".

Se entiende por "concentración del 2'5 al 5% p/v" a que la composición comprende entre 2'5 a 5 gramos de melatonina o un derivado de la misma en 100 ml de composición final. La abreviatura "p/v" se refiere a peso/volumen o masa/volumen (m/v).

Una realización preferida se refiere al uso donde la concentración de melatonina o de un derivado de la misma es del 3% p/v. Por lo tanto, dicha composición preferida se refiere a una composición que comprenda 3 gramos  
 5 de melatonina o un derivado de la misma en 100 ml de volumen total de la composición. En adelante nos referiremos a ésta como a la “composición preferida de la invención”.

Se entiende por “melatonina o un derivado del la misma” cualquier compuesto  
 10 comprendido dentro de la fórmula general I, así como sus sales, solvatos o profármacos, farmacéuticamente aceptables y que son útiles para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis.

15 Los compuestos de fórmula general I se refieren a:



**Fórmula (I)**

donde:

“n” es un número entero entre 1 y 4;

R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> son, iguales o diferente, un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) lineal o ramificado; y

20 R<sub>2</sub> es hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, lineal o ramificado, un grupo -C(=O)O-Ra o un grupo -C(=O)-N(H)-Ra, en donde Ra es un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, lineal o ramificado,

El término "alquilo" se refiere en la presente invención a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, tert-butilo, sec-butilo, n-pentilo, etc.  
5 Preferiblemente el grupo alquilo tiene entre 1 y 2 átomos de carbono. Y más preferiblemente son un grupo metilo.

En una realización preferida de la presente invención  $R_1$  y  $R_3$  son un grupo metilo. Más preferiblemente  $n$  es 1 y aún más preferiblemente  $R_2$  es hidrógeno.

10

El término "melatonina" se refiere a la N-acetil-5-metoxi-triptamina, también denominada en la literatura melatonin, melatonine, melatol, melovine, circadin, regulin, acetaminde, N-acetyl-methoxy-tryptamine, 5-methoxy-N-acetyltryptamine, N-[2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]acetamide o N-[2-(5-  
15 methoxyindol-3-yl)ethyl]acetamide o cuando en el compuesto de fórmula general (I)  $R_1$  y  $R_3$  son un grupo metilo,  $n$  es 1 y  $R_2$  es hidrógeno. El número CAS de la melatonina es el 73-31-4.

La melatonina es una neurohormona endógena producida por la glándula pineal (*epífisis cerebri*), así como por otros órganos, como por ejemplo el tracto  
20 gastrointestinal, la retina, linfocitos y células de la médula ósea, de manera fisiológica en animales, entre ellos en humanos.

La melatonina se produce en animales, entre ellos humanos, a partir de serotonina (5-hydroxytryptamina, 5-HT), la cual deriva a su vez del aminoácido triptófano. Por lo tanto, la presente invención podría referirse también al uso de una composición que comprende alguno de los precursores de melatonina (5-HT, triptófano o metabolitos intermedios tales como la N-acetilserotonina, o NAS), en una concentración suficiente para que en el cuerpo humano fueran  
25 transformados a melatonina en las concentraciones descritas en la presente invención, para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis.  
30

Por lo tanto la presente invención también se refiere a las sales farmacéuticamente aceptables de melatonina o de sus derivados que pueden ser generadas mediante métodos químicos conocidos por el experto en la materia, por ejemplo, mediante una reacción con un ácido en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos. Como disolvente orgánico puede utilizarse 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 ptoluenosulfonato.

El término "profármaco" tal como se usa en esta solicitud se refiere a un compuesto químico que ha experimentado una derivación química, por ejemplo una sustitución o una adición de un grupo químico adicional, para modificar cualquiera de sus propiedades fisicoquímicas, tales como la solubilidad o biodisponibilidad, pero que no modifica las características técnicas de la molécula original. Un profármaco podría ser por ejemplo un derivado de éster, de éter o de amida. La biodisponibilidad se refiere a la disponibilidad del mismo en un compartimento biológico concreto.

El término "solvato" según esta invención ha de entenderse como aquel derivado de melatonina que tiene otra molécula, por ejemplo 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 el estado de la técnica. Las sales, solvatos o profármacos no farmacéuticamente aceptables también se encuentran dentro del alcance de la invención puesto que pueden ser útiles en la preparación de sales, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

La composición de la invención o la composición preferida de la invención también se pueden referir a una composición que comprende un equivalente biológico funcional de la melatonina en una concentración que sea equivalente a la descrita en las composiciones de la invención.

El término “equivalente biológico funcional” o “variable bioequivalente” tal y como se emplea en la presente descripción, se refiere a una molécula con la misma función que la molécula descrita, que puede presentar ligeras variaciones con respecto a la molécula descrita sin que dichas variaciones aporten ningún efecto técnico añadido a dicha molécula. En la presente invención se refiere por lo tanto a variantes de melatonina que presenten la misma función y que presenten ligeras variaciones sin que dichas variaciones aporten ningún efecto técnico añadido a la melatonina.

Por “concentración que sea equivalente” se entiende aquella concentración necesaria para el equivalente biológico funcional de melatonina que produzca el mismo efecto que el descrito en la presente invención por la composición de la invención.

La melatonina también se produce en vegetales. Por ejemplo, se ha descrito la presencia de melatonina en algas, plantas comestibles, cereales, frutos, semillas, raíces, tallos, hojas y hierbas medicinales. (Paredes SD et al. J Exp Bot 20089, 60(1):57-69). Por ejemplo se ha descrito la presencia de melatonina en el cacao, las uvas, los tomates, el té, el té verde, algas, cereales y las aceitunas. Por lo que el origen de la melatonina de la composición de la invención puede ser vegetal. La obtención de la melatonina de origen vegetal (también denominada fitomelatonina) se puede realizar por cualquier método conocido por el experto en la materia para tal fin.

El origen de la melatonina utilizada en la composición de la invención también puede ser sintético. La síntesis química de la melatonina se puede realizar mediante las técnicas conocidas por el experto en la materia para tal fin.

- 5 El término “composición farmacéutica”, o medicamento, se refiere a cualquier sustancia usada para la prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre o los animales. En el contexto de la presente invención se refiere, a una composición capaz de tratar y/o prevenir la mucositis.

10

En la presente invención “tratamiento y/o prevención” se refiere tanto a tratamiento terapéutico como profiláctico o medidas preventivas. Aquellas situaciones susceptibles de tratamiento incluyen las ya asociadas con alteraciones así como en aquellas en las que se previene la alteración. Una  
15 “alteración” es cualquier condición que se beneficiaría del tratamiento con la composición de la invención, tal y como se describe en el presente documento.

El término “mucositis” tal y como se usa aquí, se refiere principalmente a la enfermedad que cursa con inflamación de las mucosas del tracto  
20 gastrointestinal, es decir, mucosa oral, faríngea, esofágica, estomacal e intestinal, y que se caracteriza por afectación a la integridad y función de la mucosa y que puede conllevar ulceración e infección en la misma. La mucositis puede ser causada por diversas etiologías, entre ellas tratamientos de radioterapia, quimioterapia, trasplantes de médula ósea o tratamientos con  
25 fármacos.

Una realización preferida se refiere al uso donde la mucositis está causada por radioterapia y/o quimioterapia.

- 30 Se entiende por radioterapia aquel tratamiento basado en el empleo de radiaciones ionizantes capaces de ionizar la materia, como por ejemplo rayos X o radiactividad, la cual incluye tanto los rayos gamma como las partículas alfa.

En la presente invención se refiere al tratamiento con radiaciones ionizantes que se utiliza en tratamientos de cáncer y que incluye cualquier tratamiento conocido por el experto en la materia que genere mucositis.

- 5 Se entiende por quimioterapia aquel tratamiento basado en la administración de un agente que produce inhibición en el crecimiento tumoral y que incluye cualquier tratamiento conocido por el experto en la materia que genere mucositis, por ejemplo el agente químico se puede referir a metotrexato, frocarbacin, tioguanina, mercaptopurina, citarabina, fluoruracilo, floxuridina,  
10 vinblastina, vincristina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, mitramicina, bleomicina, asparaginasa o irinotecán.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la mucositis es oral, faríngea, esofágica, estomacal o intestinal. Otra realización preferida se refiere al uso  
15 donde la mucositis es oral.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la mucositis es en humanos.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición comprende  
20 además al menos un excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

El término "excipiente" hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción de la composición farmacéutica o medicamento de la invención, estabiliza dicha composición farmacéutica o ayuda a su preparación en el  
25 sentido de darle consistencia o aportar sabores que lo hagan más agradable. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los ingredientes unidos como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, función de endulzar, función de colorante, función de protección del medicamento como por ejemplo para aislarlo del aire y/o la humedad, función de relleno de una  
30 pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación como por ejemplo el fosfato de calcio dibásico, función desintegradora para facilitar la disolución de

los componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo. Para que la composición de la invención tenga un sabor agradable se puede añadir una esencia como por ejemplo, esencia de canela, limón, naranja, mandarina o vainilla.

5

El término “adyuvante” se refiere a cualquier sustancia que potencie la respuesta de un principio activo. En la presente invención se refiere a cualquier sustancia que potencie los efectos de la composición de la invención, puede referirse a cualquier adyuvante conocido por el experto en la materia.

10

El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a que el compuesto al que hace referencia esté permitido y evaluado de modo que no cause daño a los organismos a los que se administra.

15

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición además comprende un agente gelificante. Preferiblemente el agente gelificante se selecciona de la lista que comprende copolímero de polietileno y polipropileno, celulosa y goma guar. Preferentemente se refiere a copolímero de polietileno y polipropileno. Por lo aquí descrito, otra realización referida se refiere al uso donde la composición es un gel (o también denominado “hidrogel”).

20

El término “agente gelificante” se refiere a una sustancia que conforma un gel, es decir, una red tridimensional formada por el agente gelificante y que generalmente contiene una fase líquida. Los agente gelificante que pueden utilizarse pueden ser aquellos conocidos por el experto en la material para la elaboración de una composición farmacéutica. Por ejemplo, entre los copolímeros de polietileno y polipropileno se podría utilizar copolímeros de poloxamer (o poloxamer), por ejemplo los agentes denominados Pluronic®, entre ellos, Pluronic® F127 (número CAS 9003-11-6) o Pluronic® F127NF.

30

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición además comprende al menos un conservante.

5 Se entiende por conservante aquella sustancia que mantenga las propiedades del medicamento al inhibir la contaminación por gérmenes, pueden ser conservante iónico o no-iónico. El conservante empleado no será tóxico, será estable químicamente, y compatible con la melatonina. Como agentes conservantes pueden utilizarse los conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo, el conservante puede referirse a ácido benzóico, benzoato sódico, 10 ácido ascórbico, sorbato potásico, metilparaben, etilparaben o butilparaben. Se entiende por “gérmenes” cualquier célula que pueda crecer y multiplicarse en la composición de la invención, por ejemplo bacterias, hongos y levaduras.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición además 15 comprende un antioxidante.

El término “antioxidante” se refiere a aquella sustancia que es capaz de retardar o prevenir la oxidación. Como agentes antioxidante pueden utilizarse los conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo tocoferol, ácido ascórbico, 20 ascorbato sódico, ácido tartárico, butilhidroxianisol, ácido cítrico, vitamina A o vitamina E.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición además comprende al menos otro principio activo.

25 Como se emplea aquí, los términos “principio activo”, “sustancia activa”, “sustancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” o “ingrediente farmacéuticamente activo” se refiere a cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente 30 en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad, o que afecte a la estructura o función del cuerpo del ser humano u otros animales. Por ejemplo, se podría utilizar el alopurinol.

Otra realización preferida se refiere al uso donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 5 Un “vehículo farmacéuticamente aceptable”, o farmacológicamente aceptable, se refiere a aquellas sustancias, o combinación de sustancias, conocidas en el sector farmacéutico, utilizadas en la elaboración de formas farmacéuticas de administración e incluye, pero sin limitarse, sólidos, líquidos, disolventes o tensoactivos. El vehículo puede ser una sustancia inerte o de acción análoga a
- 10 cualquiera de los compuestos de la presente invención. La función del vehículo es facilitar la incorporación del producto de expresión de la invención así como también de otros compuestos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición farmacéutica. Cuando la forma de presentación es líquida, el vehículo es el diluyente. Los vehículos
- 15 farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en la invención pueden ser los conocidos por el experto en la materia, por ejemplo, lisosomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, milipartículas, micropartículas y nanopartículas.
- 20 La composición farmacéutica de la invención puede formularse para su administración en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Tales formulaciones pueden administrarse a un animal y, preferiblemente, a un mamífero, y más preferiblemente a un humano, por una variedad de vías, incluyendo, pero sin limitarse a tópica, oral, parenteral, intraperitoneal,
- 25 intravenosa, intradérmica, intralesional, intraarterial, intramuscular, intranasal, o subcutánea.

Por lo aquí descrito, otra realización preferida se refiere al uso donde la composición se presenta en una forma adaptada a la administración tópica,

30 oral, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea. Una realización aún más preferida se refiere al uso donde la composición se presenta en una forma adaptada a la administración tópica.

EL término “administración tópica” en la presente invención se refiere a que la composición se administra en la superficie de la mucosa. La administración puede ser realizada en la mucosa de cualquier parte del tracto digestivo, preferentemente en la mucosa oral. La administración de la composición de la invención puede ser realizada utilizando un enjuague oral durante unos minutos, de tal forma que se impregne la mucosa oral, y a continuación se puede ingerir para que bañe, esté en contacto, con toda la mucosa gastrointestinal.

10

En el caso de la administración tópica, las formulaciones que pueden utilizarse en la composición de la invención pueden ser las siguientes: emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, leches, lociones, geles, pomadas, bálsamos, espumas, aceites corporales, jabones, barras, lápices, vaporizadores, cremas, linimentos, ungüentos, sueros y mousses. La composición puede también estar incorporada en soportes sólidos seleccionados del grupo formado por hidrogeles, toallitas, parches y mascarillas faciales.

20 La dosificación para obtener una cantidad terapéuticamente efectiva depende de una variedad de factores, como, por ejemplo, edad, peso, sexo o tolerancia del animal, preferentemente mamífero y más preferentemente humano. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad de la composición farmacéuticamente efectiva que produzca el efecto deseado y, en general, vendrá determinada entre otras causas, por las características propias de dicha composición farmacéutica y del efecto terapéutico a conseguir.

30 Una realización preferida de la invención se refiere al uso donde la dosis diaria administrada es de entre 37,5 mg y 75 mg. Una realización aún más preferida se refiere al uso donde la dosis diaria administrada es de entre 45 mg. Y otra

realización aún más preferida se refiere al uso donde la dosis se administra en una pauta de 15 mg 3 veces al día.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus  
5 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 figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la  
10 presente invención.

## DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

**FIG. 1. Niveles de estrés oxidativo en homogenado de lengua de ratas.** Se muestra los resultados del índice de peroxidación lipídica (LPO) en ratas  
15 control, irradiadas e irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% o 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral. Grupo control (C); grupo irradiado (IR); grupos irradiados y tratados con gel de melatonina al 1%, 3% o 5%. (IR + melatonina). MDA, malonildialdehido; 4-HDA, hidroxialquenal; \*\*p<0.01 y  
20 \*\*\*p<0.001 frente a C; ###p<0.001 frente a IR.

**FIG. 2. Niveles de estrés oxidativo en mitocondrias de lengua de ratas.** Se muestra los resultados del índice de peroxidación lipídica (LPO) en ratas  
25 control, irradiadas e irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% o 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral. Grupo control (C); grupo irradiado (IR); grupos irradiados y tratados con gel de melatonina al 1%, 3% o 5% (IR+melatonina). MDA, malonildialdehido; 4-HDA, hidroxialquenal; \*\*p<0.01 y  
\*\*\*p<0.001 frente a C; ###p<0.001 frente a IR.

**FIG. 3. Niveles de glutatión en lengua de rata.** Se muestra los resultados de los niveles de glutatión en ratas control, irradiadas e irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% o 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral. **A,**

Niveles de glutathion reducido (GSH); **B**, oxidado (GSSG); **C**, glutathion total ( $G_T$ ); **D**, índice (GSSG/GSH) en mitocondrias de lengua de ratas controles (C), irradiadas (IR), y tratadas con melatonina al 1%, 3% y 5% (IR+melatonina). \*\*\* $p < 0.001$  frente a C; #### $p < 0.001$  frente a IR.

5

**FIG. 4. Actividad de la glutathion peroxidasa y glutathion reductasa en mitocondrias de la lengua en ratas.** Se muestra los resultados de la actividad de: **A**, la glutathion peroxidasa (GPx); y **B**, de la glutathion reductasa (GRd), ambas en ratas control, irradiadas e irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% o 5%. Controles (C), ratas irradiadas (IR), y ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% y 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral (IR+melatonina). \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$  frente a C; #### $p < 0.001$  frente a IR.

**FIG. 5. Aspecto macroscópico de la lengua de la rata tras tratamiento con la composición de la invención.** Se muestra los resultados macroscópicos de la lengua de ratas control, irradiadas e irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% o 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral. Control, ratas irradiadas (IR), y ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 1%, 3% y 5% (IR+MT 1%; IR+MT 3%, e IR+MT 5%, respectivamente).

20

**FIG. 6. Comparación entre la administración tópica y la administración intraperitoneal respecto a los niveles de glutathion en lengua de rata.** Se muestra los resultados de los niveles de glutathion en ratas control, irradiadas e irradiadas y tratadas con melatonina al 3% p/v por vía tópica o al 3% p/v por vía intraperitoneal (i.p.). **A**, Niveles de glutathion reducido (GSH); **B**, niveles de glutathion oxidado (GSSG); **C**, niveles de glutathion total ( $G_T$ ); **D**, e índice GSSG/GSH en mitocondrias de lengua de ratas. Controles (C), irradiadas (IR), tratadas con gel de melatonina al 3% (IR+3%), y tratadas con melatonina por vía i.p. (IR+IP). \*\*\* $p < 0.001$  frente a C; ## $p < 0.01$  y #### $p < 0.001$  frente a IR.

25

**FIG. 7. Actividad y expresión de la GPx en lengua de ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina por vía tópica en la cavidad oral y con**

**melatonina por vía intraperitoneal. A**, Actividad de la GPx; **B**, Análisis de la densitometría de los “inmunoblot” (“western blot”) de la GPx **C**, Imagen de los western blot de la GPx realizados en mitocondrias de lengua de ratas controles (C), irradiadas (IR), tratadas con gel de melatonina al 3% p/v por vía tópica en la cavidad oral (IR+ 3%), y tratadas con melatonina al 3% p/v por vía i.p. (IR+IP). \*\*p<0.01 y \*\*\*p<0.05 frente a C; ##p<0.01 y ###p<0.001 frente a IR.

**FIG. 8. Actividad y expresión de la GRd en lengua de rata irradiadas y tratadas con gel de melatonina por vía tópica en la cavidad oral y con melatonina por vía intraperitoneal. A**, Actividad de la GRd ; **B**, Análisis de la densitometría de los “inmunoblot” (“western blot”) de la GRd y **C**, Imagen de los western blot de la GRd realizados en mitocondrias de la lengua de ratas controles (C), irradiadas (IR), tratadas con gel de melatonina al 3% p/v por vía tópica en la cavidad oral (IR+ 3%), y tratadas con melatonina al 3% p/v por vía i.p. (IR+IP). \*\*\*p<0.001 frente a C; #p<0.05 y ###p<0.001 frente a IR.

**FIG. 9. Actividad de los complejos CI, CII, CIII y CIV de la cadena respiratoria mitocondrial en mitocondrias de la lengua en ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina por vía tópica en la cavidad oral y con melatonina por vía intraperitoneal. A**, Complejo I; **B**, complejo II; **C**, complejo III; **D**, complejo IV. Controles (C), irradiadas (IR), tratadas con gel de melatonina al 3% p/v por vía tópica en la cavidad oral (IR+ 3%), y tratadas con melatonina al 3% p/v por vía i.p. (IR+IP). \*p<0.05, \*\*p<0.01, y \*\*\*p<0.001 frente a C; #p<0.05, y ###p<0.001 frente a IR.

25

**FIG. 10. Expresión de los complejos CI, CIII, CIV y CV de la cadena respiratoria mitocondrial mediante western blot en la lengua en ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina al 3% y con melatonina por vía intraperitoneal. A**, Densitometría de las bandas del “inmunoblot” correspondiente al Complejo I; **B**, al complejo III; **C**, al complejo IV; **D**, al complejo V. **E**. Imagen del “inmunoblot” correspondiente a los complejos I, III, IV y V. Controles (C), irradiadas (IR), tratadas con gel de melatonina al 3% p/v

30

por vía tópica en la cavidad oral (IR+3%), y tratadas con melatonina al 3% p/v por vía i.p. (IR+IP). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , y \*\*\* $p < 0.001$  frente a C; # $p < 0.05$  y ### $p < 0.001$  frente a IR.

5 **FIG. 11. Niveles de melatonina en mitocondrias de la lengua de ratas irradiadas y tratadas con gel de melatonina por vía tópica en la cavidad oral y con melatonina por vía intraperitoneal.** Controles (C), ratas irradiadas (IR), ratas irradiadas tratadas con gel de melatonina al 3% p/v por vía tópica en la cavidad oral (IR+aMT 3%), y ratas irradiadas tratadas con melatonina al 3%  
10 p/v administrada por vía i.p. (IR+IP). \*\*\* $p < 0.001$  frente a C; ### $p < 0.001$  frente a IR.

**FIG. 12. Aspecto macroscópico de la lengua de la rata tras tratamiento con la composición de la invención por vía intraperitoneal.** Se muestra el  
15 resultado macroscópico de la lengua de rata irradiada, y tratada con melatonina al 3% p/v y por vía intraperitoneal..

### **EJEMPLOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCIÓN**

Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en este documento  
20 de patente sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos más adelante ilustran la invención sin limitar el campo de aplicación de la misma.

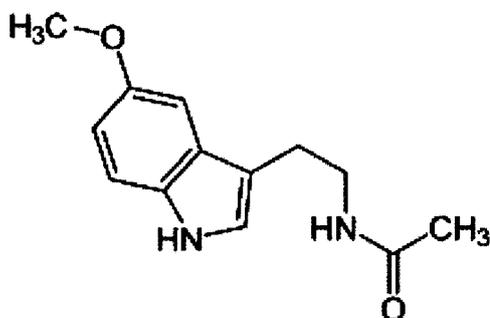
25

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la utilidad del gel de melatonina en la mucositis y se muestran resultados a distintas concentraciones.

30 **A. Material y métodos:**

Se administró la composición de la invención a animales de experimentación por diferentes vías de administración y también se realizaron experimentos con pacientes humanos.

- 5 Para la administración tópica en la cavidad oral, la composición empleada fue un hidrogel (gel) que comprendía melatonina al 1%, 3% o al 5% (1, 3 o 5 gramos de melatonina en 100 ml del volumen final de la composición respectivamente) y en la que se emplearon copolímeros de polietileno y polipropileno al 20% como sustancia gelificante. Como copolímeros de
- 10 polietileno y polipropileno se utilizó Pluronic® F127, (poloxamer). Se empleó benzoato sódico como conservante al 0,3%. Se utilizó esencia de naranja dulce. al 0,5 %. Todos los componentes utilizados se obtuvieron de FAGRON IBERICA, S.A.U., números de referencia: melatonina, 33457-27; Pluronic® F127, 33353-SP; benzoato de solio, 31360-12; esencia de naranja, 30620-08.
- 15 La estructura química de la melatonina se muestra a continuación:



- Como animales de experimentación se utilizaron ratas, de 280 g de peso, que se sometieron, bajo condiciones controladas, a radiaciones ionizantes en la
- 20 Unidad de Radiología Experimental del Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada. Los animales se sometieron a una exposición total de 50 grays (Gy). La dosis de irradiación utilizada cada día fue de 10 Gy que se administran a 100,75 cGy/min, 210 kilovoltios (kV) y 12 miliamperios (mA), y colocando el animal a una distancia de 40 cm con respecto a la fuente de
- 25 radiación.

La aplicación de las diferentes formulaciones en los animales se realizó de la siguiente manera. Una aplicación tópica en la cavidad oral antes de la irradiación, otra después, y otras sucesivas cada 8 horas durante 21 días. Los animales se sacrificaron a los 21 días del inicio de la irradiación que es cuando se observó en los animales irradiados sin tratamiento con melatonina el grado máximo de mucositis. Las formulaciones utilizadas en los animales de experimentación fueron las siguientes: gel de pluronic F-127 con melatonina al 1%, 3% o al 5% (1, 3 o 5 gramos de melatonina/100 ml gel respectivamente), aplicados tres veces al día de forma tópica en la cavidad oral en un volumen de 500 µl/cada vez, lo que hace un total de 1'5 ml/día. La aplicación tópica en la cavidad oral conlleva que los animales ingieran el gel que se aplica en la cavidad bucal.

También realizaron los experimentos, administrando a los animales la misma concentración de melatonina que la utilizada con el hidrogel al 3% p/v, pero por vía intraperitoneal, para comprobar si la melatonina plasmática podría reducir la mucositis o es necesaria la aplicación de dicha molécula por vía tópica. Para la vía parenteral se utilizó una solución isotónica que comprendía un 70% v/v (volumen/volumen) de solución salina isotónica, y 30% v/v de propilenglicol, medidos en relación al volumen total de la disolución. Se inyectó una dosis diaria de 45 mg de melatonina durante 21 días. Los animales se sacrificaron a los 21 días del inicio de la irradiación, al igual que los animales tratados con el gel de melatonina aplicado por vía tópica en la cavidad oral.

25

También evaluó el papel protector de la composición de melatonina al 3% p/v en pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a radioterapia. El estudio se realizó a doble ciego (5 pacientes tratados con un gel de melatonina al 3% p/v y 5 pacientes con gel sin melatonina). Los pacientes se sometieron a enjuagues orales con el gel descrito anteriormente, con 500 microlitros durante tres veces al día, es decir, los pacientes recibieron un total de 45 mg/día de melatonina repartidos en una pauta de 15 mg 3 veces al día.. Los pacientes

30

mantuvieron el gel con melatonina en la cavidad bucal durante 2 minutos, y a continuación lo ingirieron para que el gel bañara toda la mucosa gastrointestinal. Se realizaron dos evaluaciones semanales en consulta programada del grado objetivo de oromucositis (Escala objetiva de toxicidad RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) según la OMS): Grado 0-4.

## **B. Parámetros evaluados**

### **B.1. Marcadores del daño oxidativo**

#### **10 -Evaluación de la oxidación de las membranas celulares y subcelulares (LPO)**

Un mecanismo muy importante por el que los radicales libres de oxígeno son capaces de producir lesión celular, es mediante la peroxidación lipídica de sus membranas, tanto celulares como mitocondriales. La lipoperoxidación se produce debido a la acción de los radicales libres sobre los ácidos grasos poliinsaturados. Estas modificaciones en la estructura de la membrana celular provocan cambios en sus propiedades fisicoquímicas, con un aumento de su permeabilidad y pérdida progresiva de sus funciones, que pueden llevar a la consiguiente muerte celular. La medida del grado de lipoperoxidación de las membranas se ha considerado siempre un parámetro muy importante como indicador del estrés oxidativo. El **índice de peroxidación lipídica (LPO)** es proporcionado por la cuantificación del malonildialdehído y 4-hidroxiálquenal (MDA + 4-HDA) presentes en la muestra, los cuales son importantes productos de descomposición de los peróxidos derivados de los ácidos grasos poliinsaturados y sus ésteres relacionados. Las concentraciones de malonildialdehído y 4-hidroxiálquenal, así como la concentración de hidroperóxidos proveen un índice conveniente de la peroxidación lipídica.

### **B.2. Evaluación de las defensas antioxidantes**

30 Dentro del sistema antioxidante celular, hay un grupo de enzimas que se encargan de detoxificar la célula de los radicales libres en condiciones fisiológicas, estos enzimas son fundamentalmente:

-**Glutation peroxidasa (GPx)**: este enzima utiliza como cofactor el glutatión reducido y elimina el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

- 5 -**Glutation reductasa (GRd)**: este enzima reconvierte el glutatión oxidado, producido por la actividad de la glutatión peroxidasa, en glutatión reducido.

También es un índice importante de la evaluación del estado redox el índice obtenido del cociente entre el **glutatión oxidado/reducido (GSSG/GSH)**.

10

### **B. 3. Evaluación de marcadores de la actividad mitocondrial**

La disfunción mitocondrial, asociada a un incremento de la producción de radicales libres, es responsable de la muerte celular. Por tanto, medir la **actividad de los complejos de la cadena de transporte respiratorio (I, II, III y IV)** y la expresión de los complejos es fundamental para conocer el grado de daño mitocondrial.

15

### **C. EJEMPLO 1: Resultados obtenidos en la lengua de rata**

#### **20 C.1-Utilización de melatonina en un gel al 1%, 3%, y 5% p/v por vía tópica en la cavidad oral**

El estrés oxidativo causado por las radiaciones produce daño en las membranas celulares, que se refleja en un aumento de la oxidación de los lípidos de membrana superior al 50% con respecto al control (Figura 1,  $p < 0.001$ ). Este daño indica que las radiaciones lesionan estos tejidos causando mucositis. La melatonina al 3% revierte totalmente los efectos de la radioterapia, mientras que la melatonina al 1%, tan sólo, revierte parcialmente los niveles de LPO. Cuando utilizamos una concentración de melatonina superior al 3%, como puede ser el 5%, observamos que tiene los mismos efectos que al 3% para contrarrestar el estrés oxidativo (Figura 1).

30

La irradiación también produce un intenso daño mitocondrial que se refleja por un aumento de LPO de las membranas mitocondriales (Figura 2). Este daño mitocondrial produce muerte celular (Acuña-Castroviejo *et al.* Curr Top Med Chem 2010, 11(2):221-240). Cuando tratamos las ratas irradiadas con melatonina, observamos un potente efecto antioxidante de la melatonina cuando se aplica al 3%, revirtiendo totalmente los efectos de la radioterapia ( $p < 0.001$ ) en la mitocondria. No se conoce ninguna molécula existente en la actualidad es capaz de ejercer estos efectos. Sin embargo, cuando se aplica la melatonina al 1%, prácticamente no tiene ningún efecto para contrarrestar el daño oxidativo producido por la irradiación en la mitocondria. Cuando utilizamos una concentración de melatonina al 5%, encontramos que tiene los mismos efectos que al 3 % para contrarrestar el estrés oxidativo mitocondrial.

La irradiación también produce una disminución muy significativa de los niveles de GSH ( $p < 0.001$ ) (Figura 3A), al mismo tiempo que se elevan los del GSSG ( $p < 0.001$ ) (Figura 3B) en las mitocondrias de la lengua, provocando un aumento de glutatión total (GSH+GSSG) (Figura 3C). Estos cambios reflejan un considerable aumento del estrés oxidativo mitocondrial, que es reflejo de los efectos adversos provocados por la irradiación. El aumento del cociente GSSG/GSH ( $p < 0.001$ ) (Figura 3D), que es el mejor índice del estrés oxidativo intracelular y, en nuestro caso, intramitocondrial, avala ese efecto nocivo de la irradiación. Por su parte, la administración de melatonina al 1% es incapaz de aumentar los niveles de GSH (Figura 3A) y reducir los de GSSG (Figura 3B), de normalizar el índice GSSG/GSH (Figura 3D) y, por tanto, neutralizar el estrés oxidativo. Cuando utilizamos una concentración de melatonina al 5%, observamos que tiene los mismos efectos que al 3% para contrarrestar el estrés oxidativo mitocondrial, revirtiendo en ambos casos totalmente el efecto de la irradiación.

Cuando medimos la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) (Figura 4A), observamos un aumento de la actividad por la irradiación como respuesta a un aumento de los peróxidos producidos. La administración del gel de melatonina

al 3% contrarresta parcialmente los efectos de la irradiación. La melatonina al 5% tiene los mismos efectos que al 3%, mientras que al 1% no tiene ningún efecto.

- 5 Cuando medimos la actividad de la glutatión reductasa (GRd) (Figura 4B), observamos que, igualmente, la melatonina al 5% tiene el mismo efecto que al 3%, mientras que al 1% no tiene ningún efecto. La GRd mitocondrial es un enzima fácilmente inhibido por el estrés oxidativo y, por eso, su actividad disminuye significativamente con la irradiación (Figura 4B,  $p < 0.001$ ), efecto que  
10 es contrarrestado por la administración de melatonina ( $p < 0.001$ ), tanto al 3 como al 5%.

La importancia de estas acciones de la melatonina radica en que, además de los cambios bioquímicos antes indicados, la reducción del estrés oxidativo  
15 mitocondrial se traduce en una prevención total de la mucositis, no observándose ningún tipo de lesión en las ratas tratadas (Figura 5). No se incluyen imágenes de los animales tratados con el gel de melatonina al 1%, ya que no tuvo ningún efecto.

- 20 Por tanto, la dosis mínima efectiva para el tratamiento de la mucositis corresponde a una concentración de melatonina al 3% en el gel aplicado tres veces al día (500  $\mu$ l en cada aplicación), lo que resulta en una dosis diaria de 45 mg de melatonina.

25 **C.2-Comparación entre la aplicación del gel de melatonina al 3% p/v y la administración de la misma concentración de melatonina por vía parenteral.**

Para determinar cuál es la vía de administración más adecuada para la reversión de la mucositis, se comparó la administración del gel de melatonina al  
30 3% por vía tópica en la cavidad oral y la administración de melatonina por vía intraperitoneal (i.p.) a la misma dosis (45 mg al día).

Observamos que los efectos de la melatonina administrada con el gel y la administración de la melatonina por vía parenteral difieren en algunos aspectos importantes, como son una menor eficacia de la administración i.p. para recuperar el GSH y para disminuir el GSSG, lo que mantiene un cociente  
5 GSSG/GSH más alto, indicando un estrés oxidativo intramitocondrial mayor que tras la aplicación del gel. (Figura 6). En la figura 6 se compara los niveles de glutatión en lengua de rata tratadas con el gel al 3% y tratadas con la melatonina por vía intraperitoneal.

10 Con respecto a la glutatión peroxidasa mitocondrial (GPx) (Figura 7) los resultados indican un aumento de su actividad (Figura 7A) y de la expresión del enzima (Figura 7B y 7C) por la irradiación, como respuesta al aumento de los peróxidos producidos. Los estudios de expresión de proteínas se hacen mediante “western-blot” (7C), y en los análisis de densitometría de estos  
15 western se observa (Figura 7B) un aumento de la cantidad de proteína indicando un aumento de la expresión de dicho enzima con la irradiación. Tanto la administración de melatonina tópica como i.p. contrarrestan parcialmente el efecto de la irradiación.

La glutatión reductasa mitocondrial (GRd) (Figura 8) sigue un curso  
20 completamente distinto. Es un enzima fácilmente inhibido por el estrés oxidativo, y por eso su actividad (Figura 8A) y expresión (Figura 8B y 8C) disminuyen significativamente con la irradiación. Los estudios de expresión de proteína se hacen mediante “western blot” (8C), y en los análisis de densitometría de estos western se observa (Figura 8B) una disminución de la  
25 cantidad proteína con la irradiación indicando una inhibición de la expresión de dicho enzima. Observamos un efecto significativo del gel de melatonina para recuperar la actividad y expresión de la GRd, mientras que la administración ip de melatonina no consigue recuperar el enzima. Si la GRd permanece inhibida, la mitocondria es incapaz de contrarrestar el daño oxidativo y favorece la  
30 muerte celular.

La irradiación produce una inhibición de los complejos de la cadena de transporte electrónico mitocondrial, fundamentalmente el complejo I, II y IV (Figura 9A, B y D). No se observan cambios significativos en el complejo III (Figura 9C) Cuando se dañan los complejos de la cadena respiratoria, se generan más radicales libres, disminuye la eficiencia de la cadena respiratoria, se produce menos ATP, se activan los factores apoptóticos y aumenta la apoptosis. La melatonina en gel es más eficiente para recuperar la actividad de los complejos que la administración parenteral, incluso aumentando la actividad por encima de los valores controles (Figura 9).

10

Al igual que ocurre con su actividad, la irradiación también inhibe la expresión de los complejos de la cadena respiratoria, siendo muy significativa la inhibición de la expresión de los complejos I, III, IV y V (Figura 10A, B, C, D y E). Mediante los estudios de "western blot", observamos una disminución de la cantidad de proteínas de los complejos I, III, IV y V, indicando una disminución de la síntesis de estos complejos con la irradiación. El gel de melatonina es mucho más eficaz para recuperar la expresión de los complejos que la administración parenteral. Además, podemos observar, que la aplicación parenteral es totalmente incapaz de recuperar la expresión del complejo V o ATP sintasa, el enzima encargado de la síntesis de ATP (Figura 10D). Este dato es muy relevante, ya que si el complejo V está inhibido, no hay síntesis de ATP y, por tanto, la célula muere por apoptosis o necrosis (Escames G, *et al.* Hum Genet, Julio, 2011, DOI 10.1007/s00439-011-1057). La composición del gel al 3% es significativamente mejor que la la vía parenteral para reactivar la expresión de los complejos de la cadena respiratoria según los resultados mostrados.

25

Comprobamos que la irradiación suprime los niveles endógenos de melatonina en la lengua. Con la administración de la composición de la invención por vía tópica en la cavidad oral se recuperan dichos niveles, lo que favorece su acción antioxidante local. Sin embargo, con la administración parenteral de melatonina no se recuperan sus niveles en la lengua (Figura 11). Estos resultados explican

30

que la administración tópica sea mucho más eficaz que la administración parenteral de la melatonina.

5 Estas diferencias de eficiencia en cuanto a la acción de la melatonina según la vía de administración, se observan claramente al analizar las lesiones macroscópicas (Figuras 5 y 12). En efecto, la administración parenteral de melatonina no consigue recuperar las lesiones de la lengua tras la irradiación, mientras que la aplicación tópica en la cavidad oral normaliza totalmente el aspecto morfológico de la lengua.

10

**D- EJEMPLO 2: Resultados obtenidos en humanos:**

Los pacientes tratados con el gel de melatonina al 3% resisten mucho mejor la radioterapia, no necesitando tratamiento con opioides. Ninguno de estos pacientes necesitó sonda nasogástrica, ninguno fue ingresado ni tuvo que  
15 interrumpir el tratamiento. Los no tratados con melatonina necesitaron todos opioides mayores y todos desarrollaron el grado máximo de radiodermatitis. Algunos necesitaron ser ingresado con interrupción del tratamiento.

**E- Conclusión de los ejemplos de la invención:**

20 La composición farmacéutica que comprende melatonina al 1% no revierte la mucositis causada por radioterapia. Sin embargo, la composición farmacéutica que comprende melatonina al 3% revierte totalmente la mucositis producida por la radioterapia, lo mismo que sucede con la composición que comprende melatonina al 5%. Estos resultados demuestran la utilidad de una composición  
25 que comprenda melatonina entre el 3 y el 5% en el tratamiento de los efectos secundarios de la mucositis causada por radioterapia.

Los resultados aquí mostrados demuestran que en la mucositis hay un daño mitocondrial y, por tanto, el éxito de este tratamiento radica en la aplicación oral  
30 de un gel de melatonina que impregna las mucosas y revierte el daño mitocondrial. Cualquier otro tipo aplicación de la melatonina no tiene un claro efecto en la mucositis, probablemente debido a que la melatonina se absorbe

rápidamente, tiene una vida media muy corta (30 min), y no alcanza unos niveles terapéuticos suficientes en las mucosas, tanto de la cavidad oral como las del tracto gastro-intestinal. Sin embargo, la composición de la invención que comprendía el gel de pluronic F-127 y melatonina a la concentración del 3% o superior, impregna las mucosas alcanzando concentraciones efectivas locales, permitiendo a la melatonina entrar en la mitocondria y ejercer sus efectos en todo el tracto gastro-intestinal.

Por tanto, estas formulaciones farmacéuticas de aplicación tópica en la cavidad bucal que contienen melatonina en dosis apropiadas para proteger la piel y mucosas frente al terrible daño producido por las radiaciones durante los periodos de radioterapia, tienen un gran interés clínico. Hemos comprobado que la administración parenteral de melatonina no aporta ningún beneficio respecto a la administración tópica en la cavidad oral para el tratamiento y/o prevención de la mucositis, con el valor añadido de que una administración parenteral de forma crónica resulta traumática para estos pacientes, siendo mucho más cómoda la administración tópica del gel.

Las mitocondrias juegan un papel importante en el control de la supervivencia celular, y nosotros hemos demostrado por primera vez, que su disfunción participa en gran medida en la fisiopatología de la mucositis (ver resultados). La disfunción mitocondrial se correlaciona con un agravamiento de la mucositis. Hemos visto, por primera vez, que en las mitocondrias de lengua de las ratas con mucositis, además del fracaso bioenergético, hay un aumento de la glutatión peroxidasa (GPx), una reducción de la glutatión reductasa (GRd), y un aumento del cociente glutatión oxidado (GSSG)/glutatión reducido (GSH) (GSSG/GSH). Este último es un fiel marcador del estrés oxidativo intracelular e intramitocondrial.

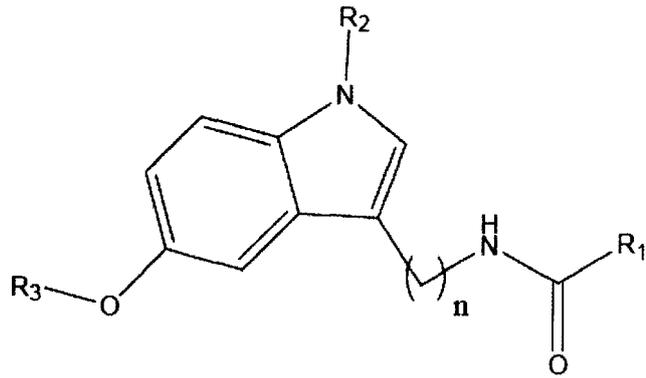
En la presente invención se demuestra que la melatonina a la concentración que contiene la composición de la invención reduce totalmente el estrés oxidativo mitocondrial en la mucositis aumentando la actividad de los enzimas

- antioxidantes mitocondriales, principalmente GRd. Paralelamente, hay un aumento de la actividad y expresión de los complejos de la cadena respiratoria, que están inhibidos en la mucositis. La composición de la invención tiene efectos antioxidantes y antiinflamatorios que composiciones con menor concentración no tienen. La aplicación tópica y oral de melatonina entre el 3 y el 5% (3 y 5 gramos de melatonina en 100 ml de la composición final) impide el deterioro de la función celular de las mucosas dañada por radiaciones ionizantes.
- 10 Además, la aplicación tópica en la cavidad bucal mediante el gel de melatonina en las mucositis es más eficaz que la administración parenteral, lo cual podría deberse a que la aplicación en la cavidad oral en la formulación adecuada mantiene los niveles de melatonina más altos durante más tiempo en la cavidad oral (y por extensión, gastrointestinal), lo que facilita su acción local
- 15 antioxidante y antiinflamatoria y, fundamentalmente, su acción dentro de la mitocondria impidiendo el daño tisular y, por tanto, la aparición de mucositis. Por ello, la aplicación tópica de melatonina entre el 3% y el 5%, en cavidad oral, proporciona un potente sistema de defensa en estas patologías. Hemos demostrado que la composición de la invención permite proteger la mucosa
- 20 gastrointestinal sometida a radioterapia, prevenir las lesiones provocadas por dichas radiaciones como la mucositis y curar dichas lesiones. Los resultados obtenidos son extrapolables a quimioterapia.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una composición que comprende: un compuesto de fórmula general (I):

5



(I)

donde:

“n” es un número entero entre 1 y 4;

10  $R_1$  y  $R_3$  son, iguales o diferente, un grupo alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ) lineal o ramificado; y

$R_2$  es hidrógeno, un grupo alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ), lineal o ramificado, un grupo  $-C(=O)O-Ra$  o un grupo  $-C(=O)-N(H)-Ra$ ; donde Ra es un grupo alquilo ( $C_1$ - $C_4$ ), lineal o ramificado,

15 o sus sales, profarmaco y solvato del mismo,

donde dicho compuesto está en una concentración del 2'5 a 5% p/v para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis.

20

2. Uso según la reivindicación 1, donde  $R_1$  y  $R_3$  son, iguales o diferente, un grupo alquilo ( $C_1$ - $C_2$ ).

3. Uso según la reivindicación 2, donde  $R_1$  y  $R_3$  son un grupo metilo.

25

4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde n es 1.
5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R<sub>2</sub> es hidrógeno.
- 5 6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el compuesto es la melatonina.
7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la  
10 concentración del compuesto es del 3% p/v.
8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde la mucositis está causada por radioterapia y/o quimioterapia.
- 15 9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde la mucositis es mucositis oral, faríngea, esofágica, estomacal o intestinal.
10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 donde la mucositis es  
20 mucositis oral.
11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la mucositis es en humanos.
12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde la  
25 composición comprende además al menos un excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la  
30 composición además comprende un agente gelificante.

14. Uso según la reivindicación 13, donde el agente gelificante se selecciona de la lista que comprende copolímero de polietileno y polipropileno, celulosa y goma guar.
- 5 15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 donde la composición además comprende al menos un conservante.
16. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 donde la composición además comprende un antioxidante.
- 10 17. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 18. Uso cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 donde la composición se presenta en una forma adaptada a la administración tópica, oral, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea.
- 20 19. Uso según la reivindicación 18 donde la composición se presenta en una forma adaptada a la administración tópica
20. Uso según la reivindicación 19 donde la dosis diaria administrada es de entre 37'5 mg y 75 mg.
- 25 21. Uso según la reivindicación 20 donde la dosis diaria administrada es de 45 mg.
22. Uso según la reivindicación 21 donde la dosis se administra en una pauta de 15 mg 3 veces al día.

30

FIG. 1

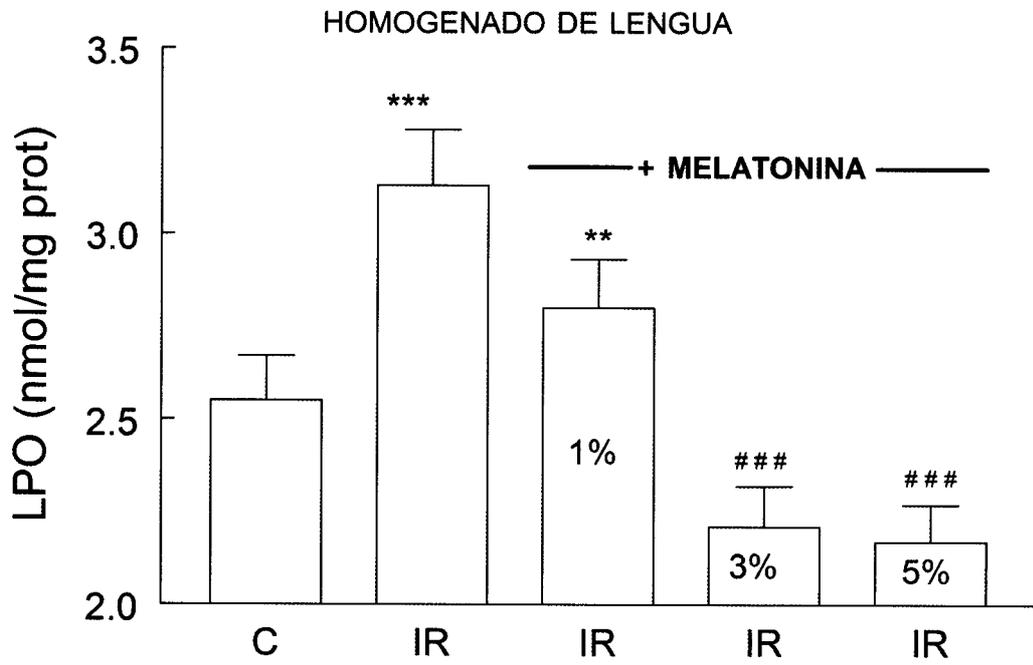


FIG. 2

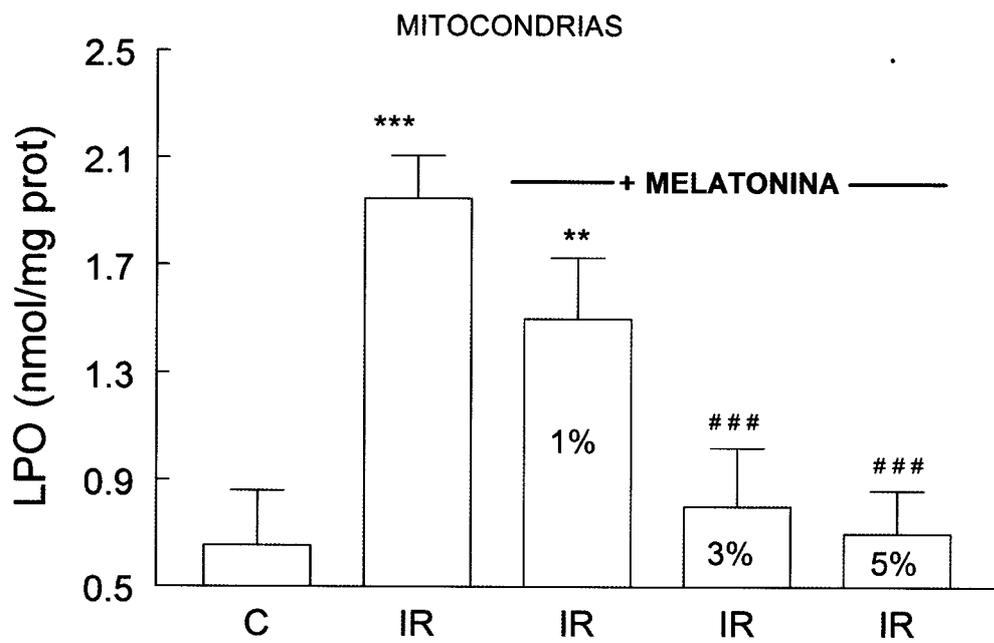


FIG.3 A

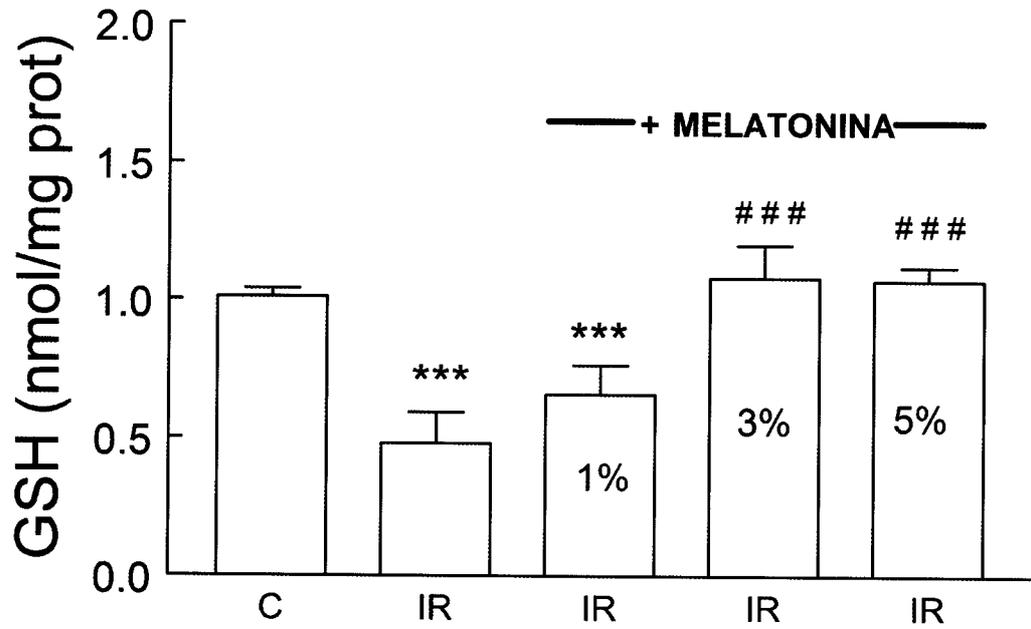


FIG. 3 B

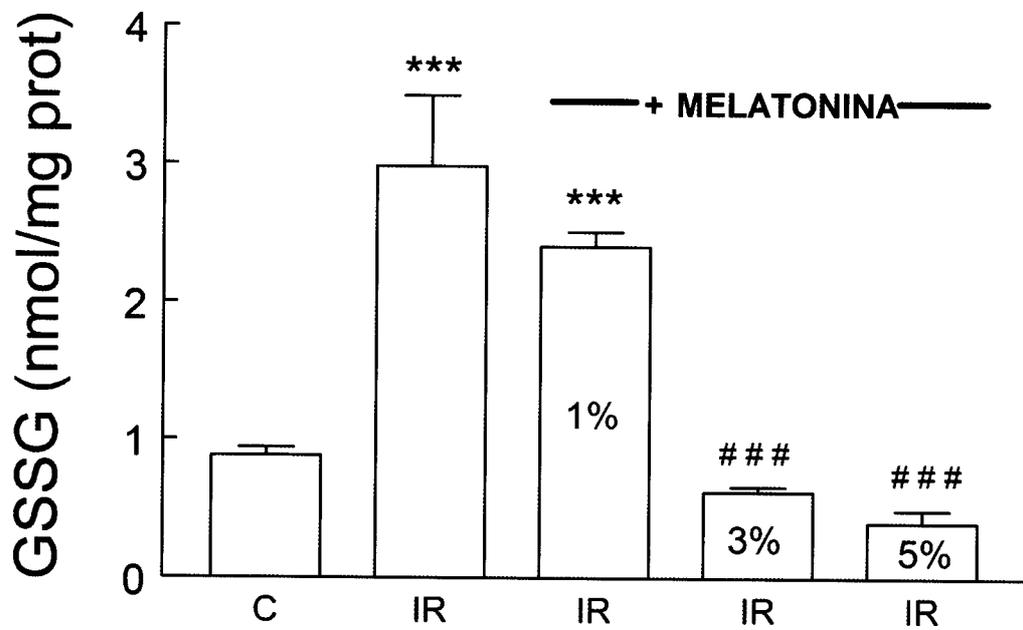


FIG.3 C

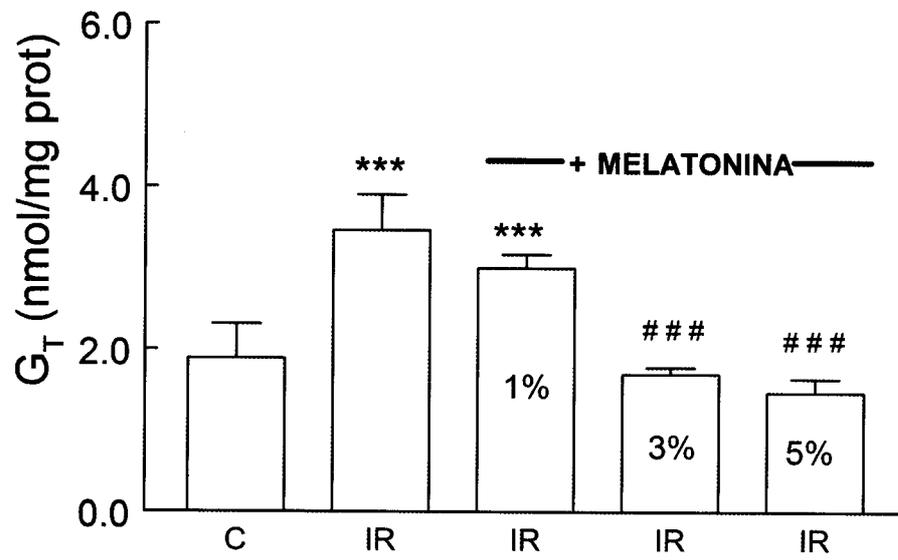


FIG. 3 D

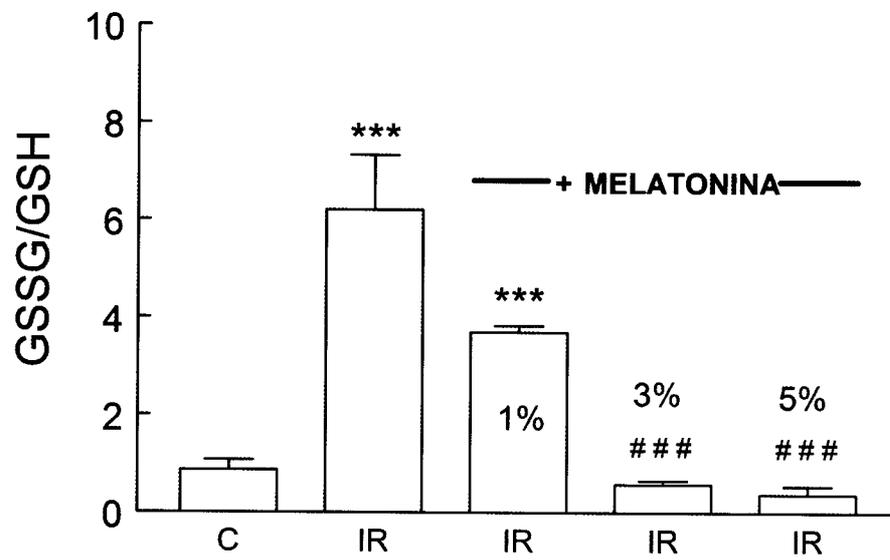


FIG.4 A

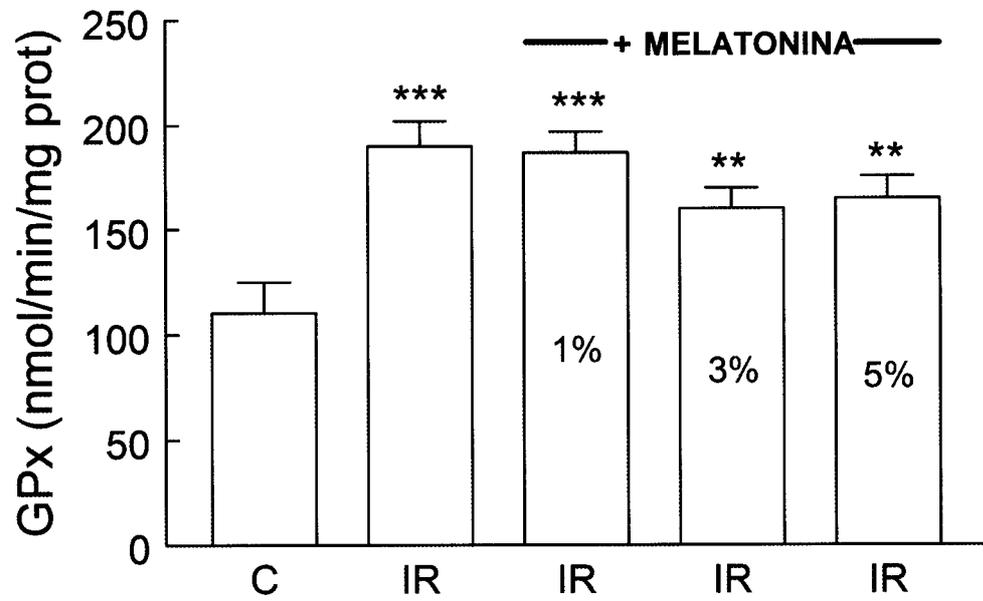


FIG. 4 B

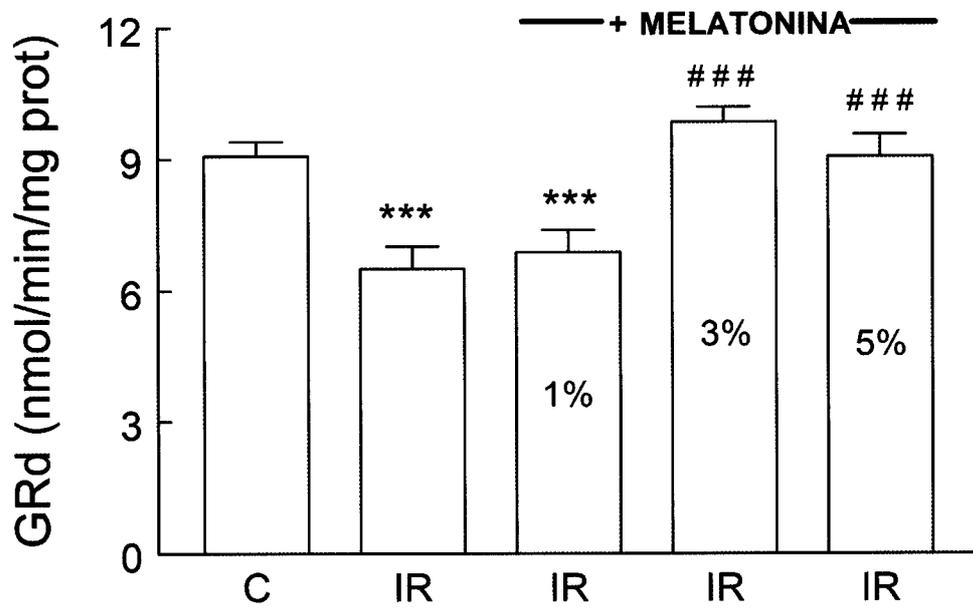


FIG.5

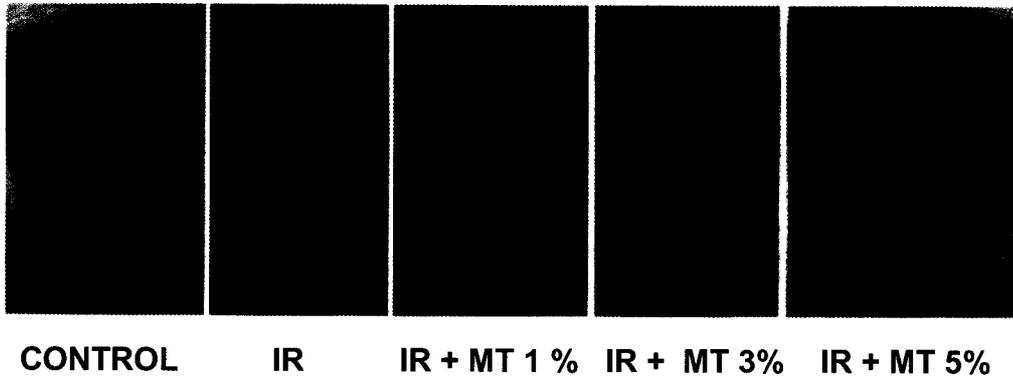


FIG. 6 A

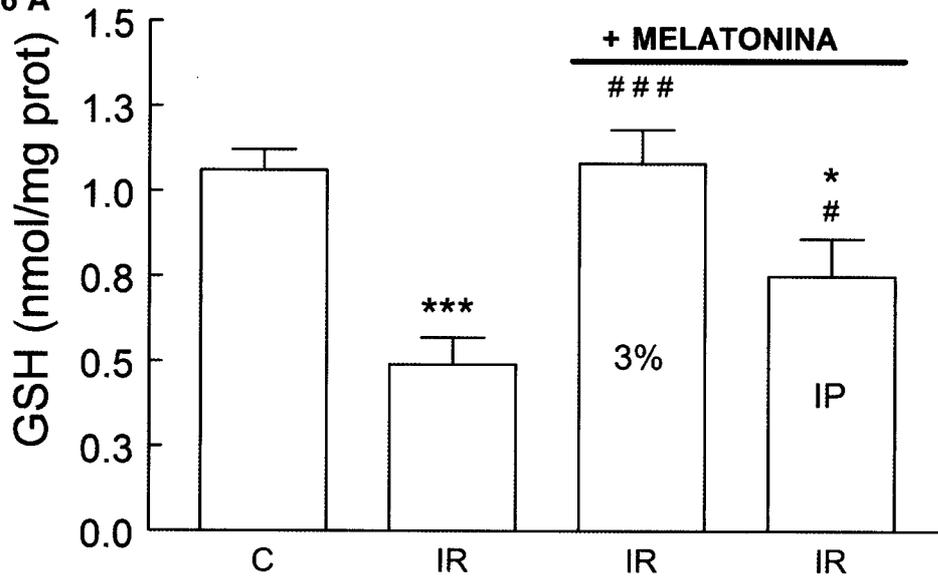


FIG. 6 B

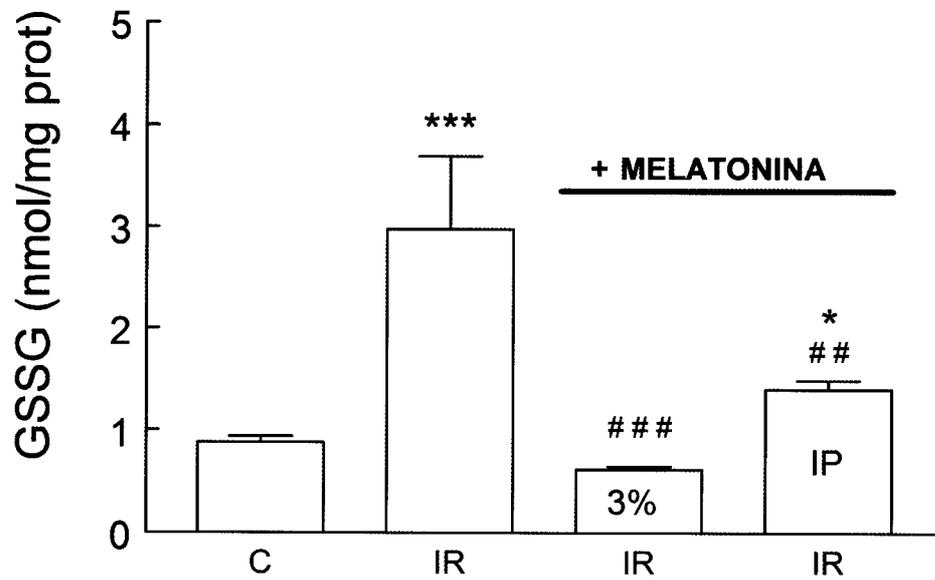


FIG.6 C

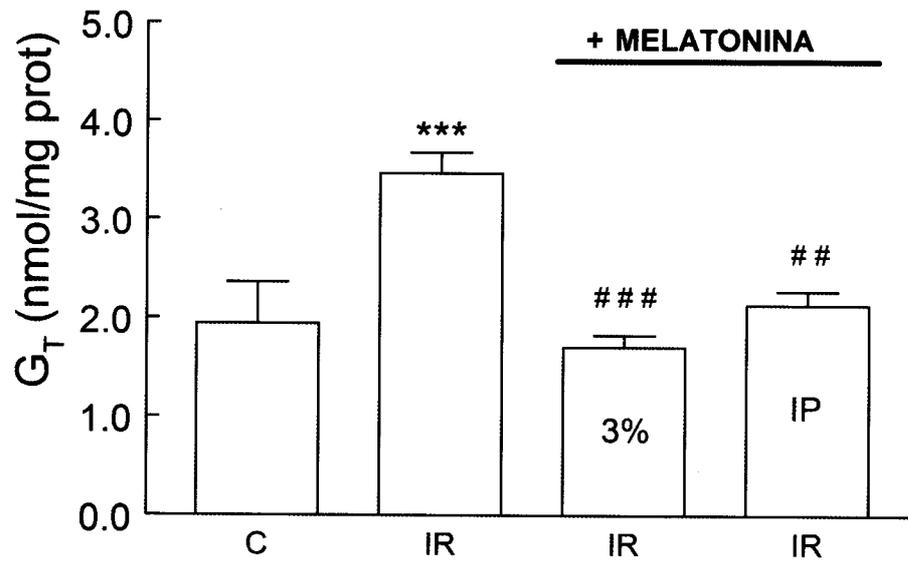


FIG. 6 D

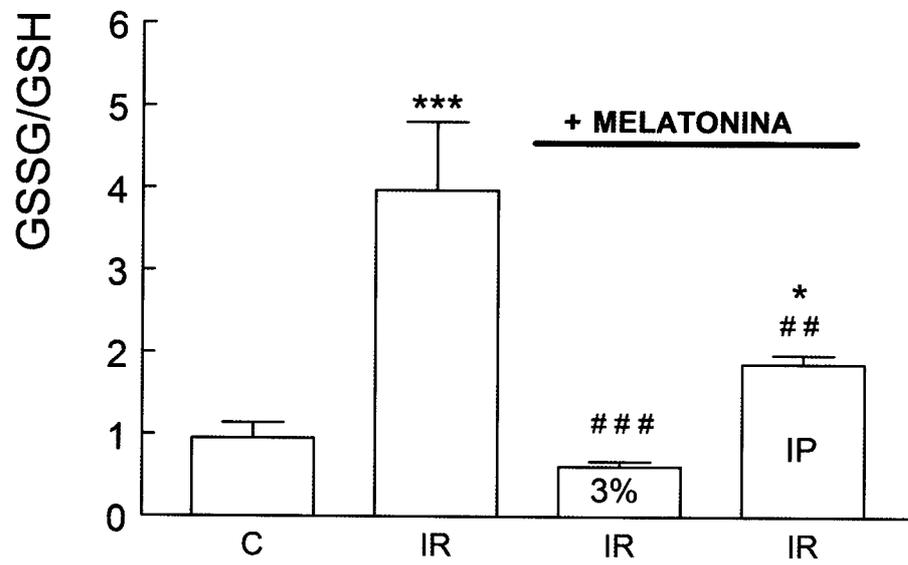


FIG.7 A

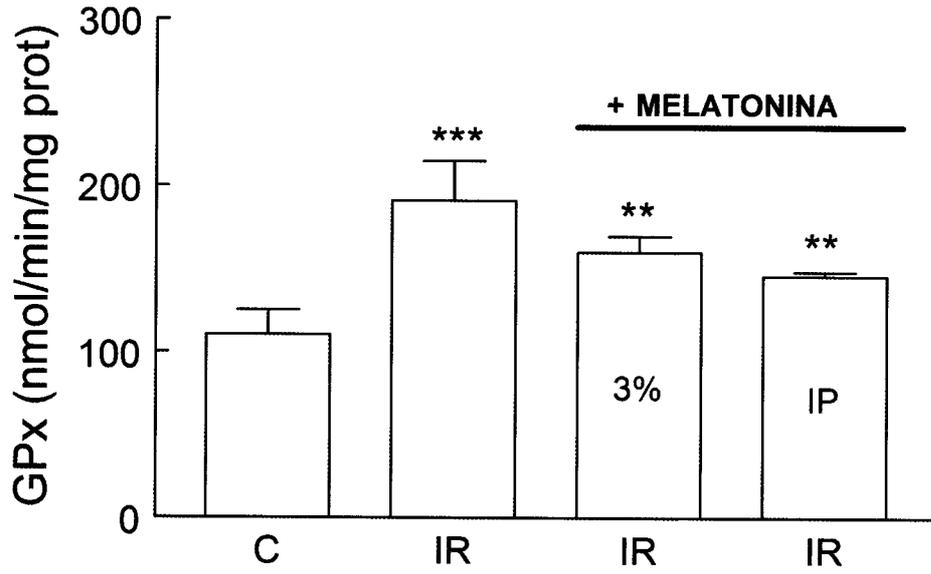


FIG. 7 B

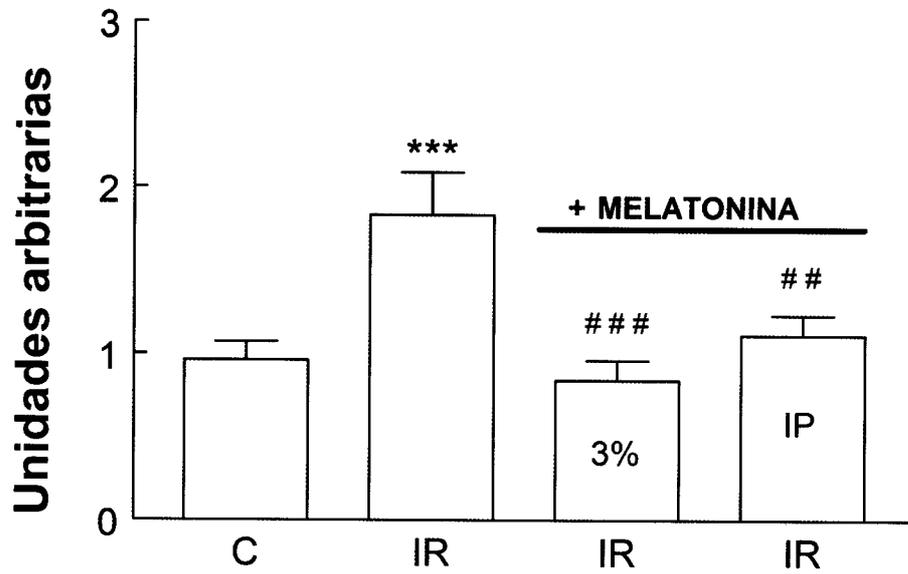


FIG. 7 C

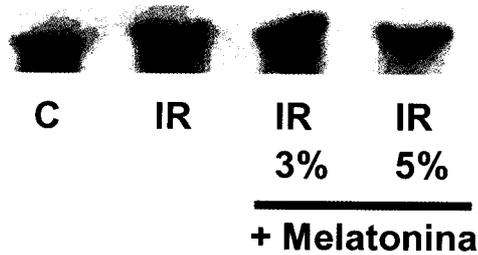


FIG. 8 A

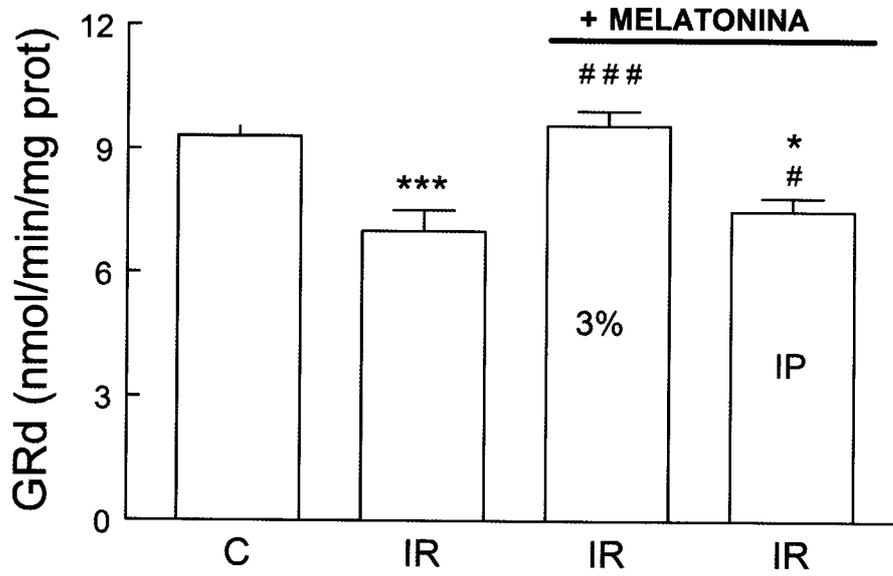


FIG. 8 B

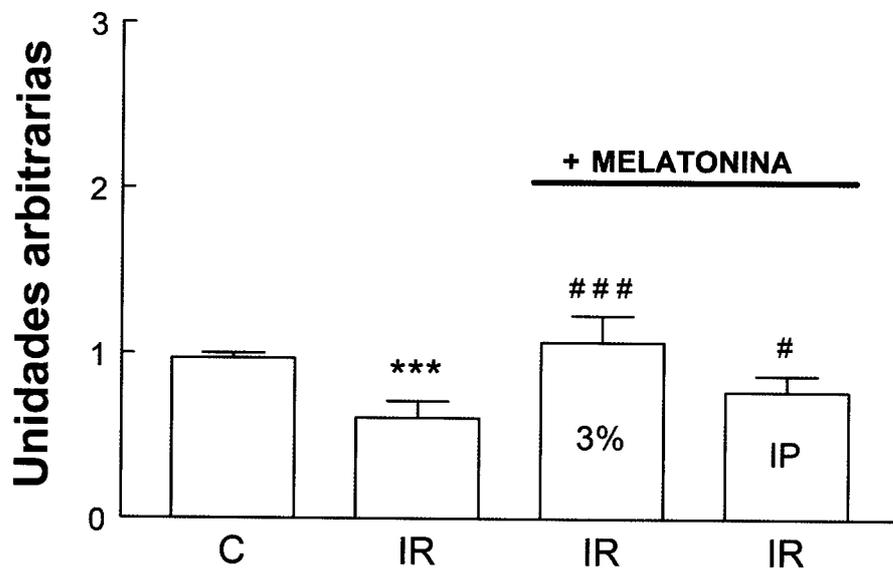


FIG. 8 C

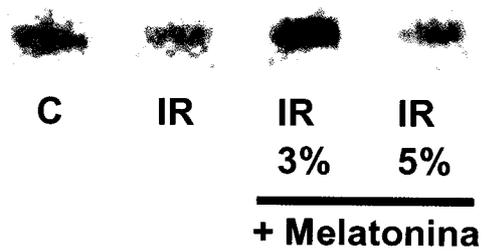


FIG.9 A

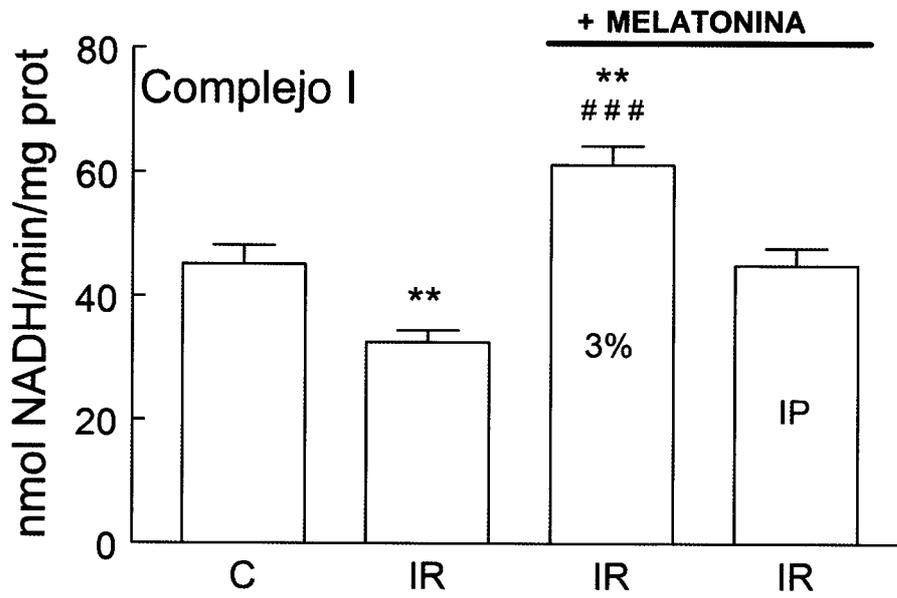


FIG. 9 B

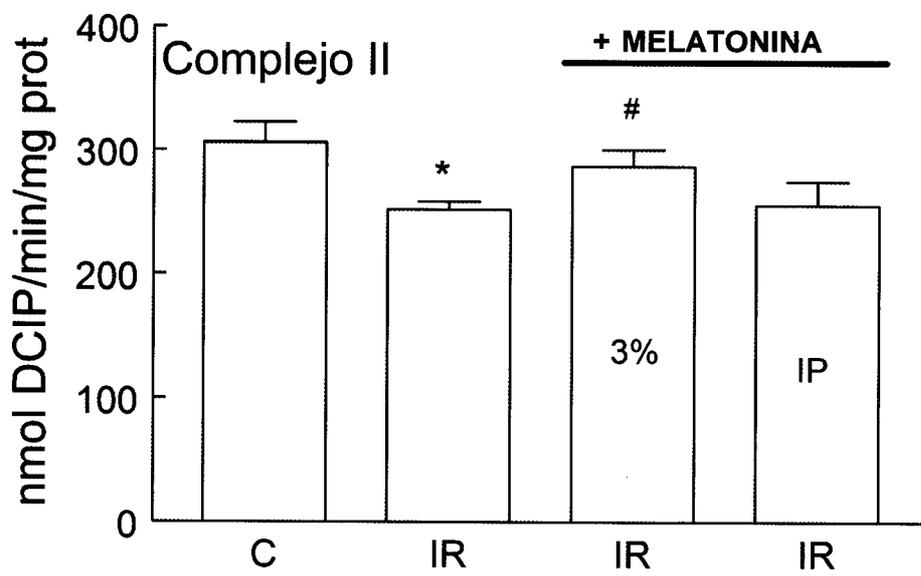


FIG.9 C

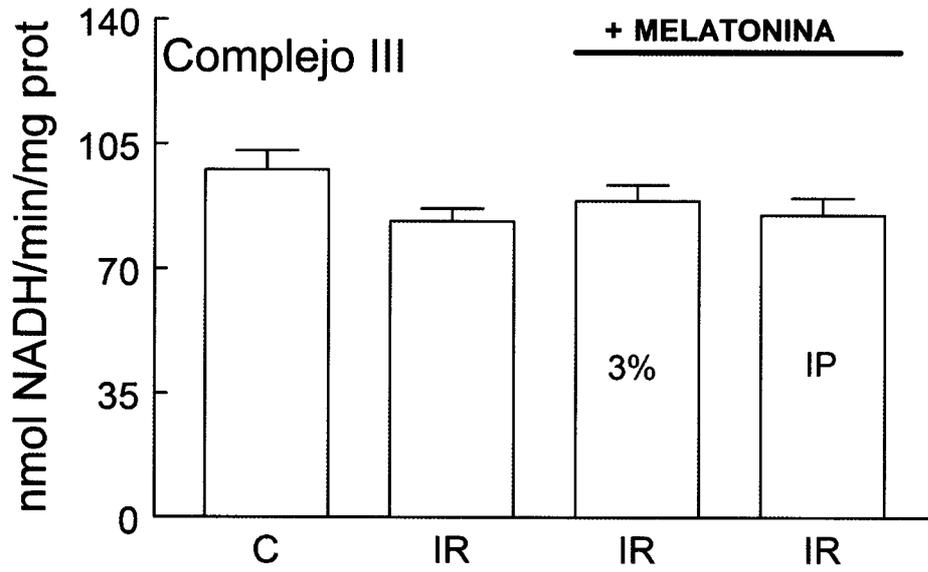


FIG. 9 D

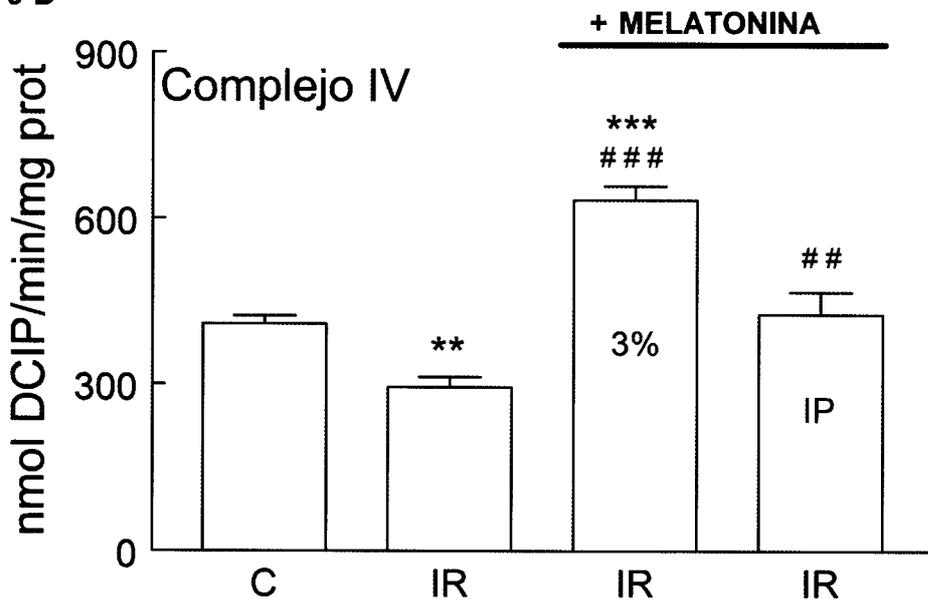


FIG10 A

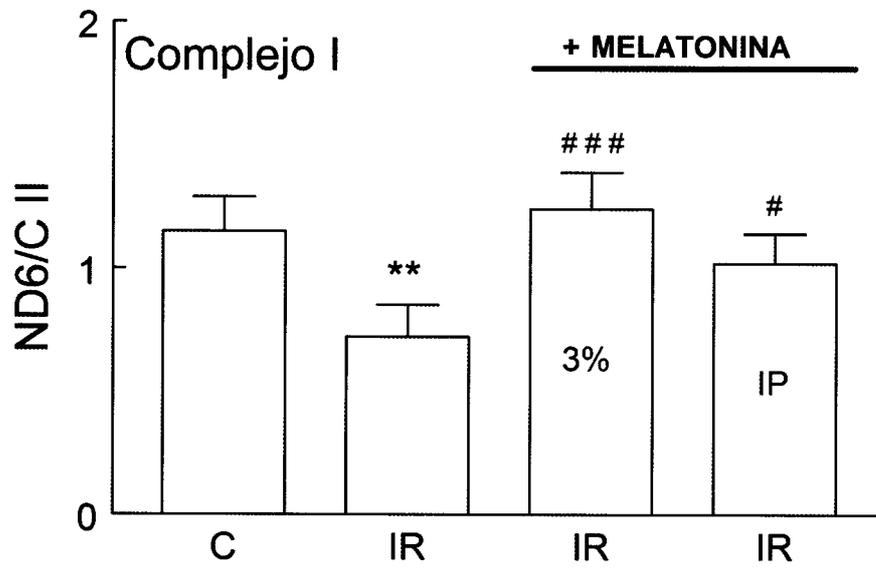


FIG 10 B

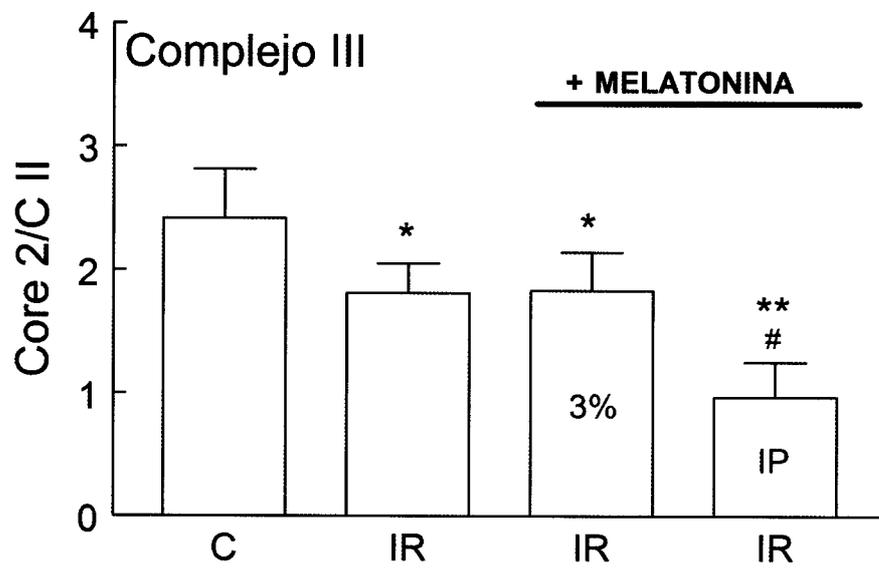


FIG.10 C

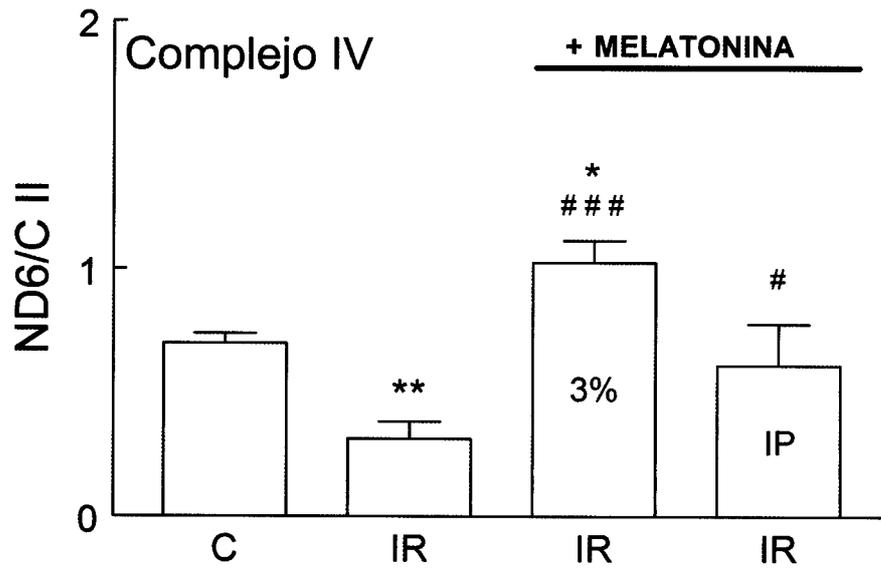


FIG. 10 D

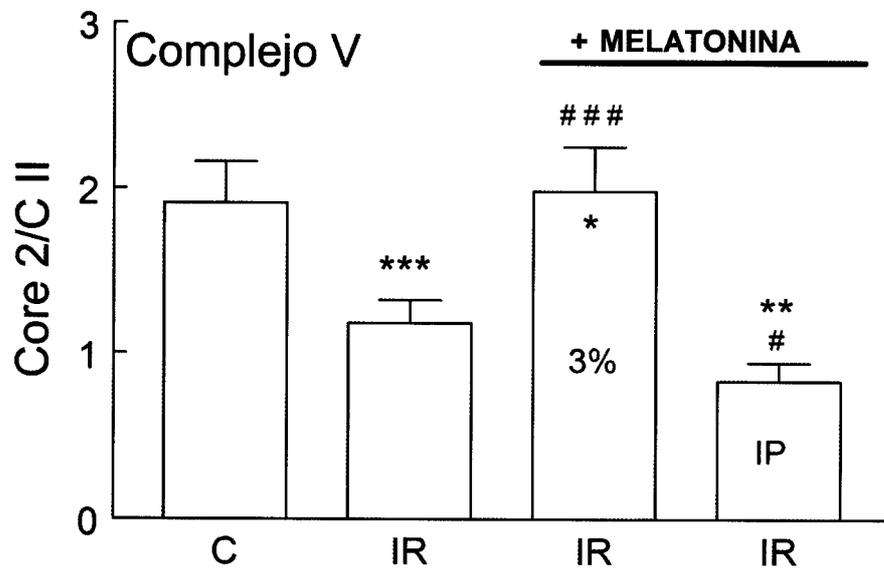


FIG. 10 E

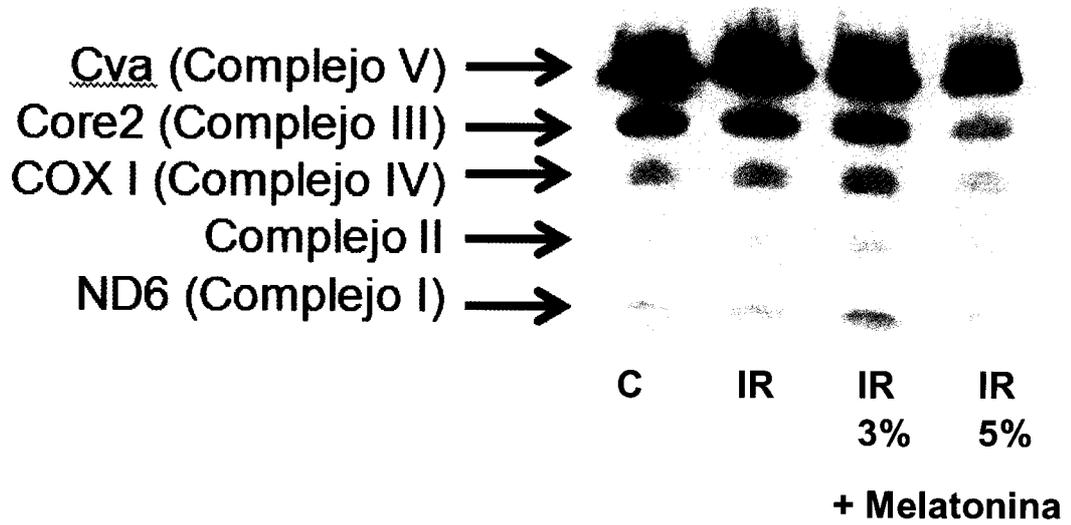
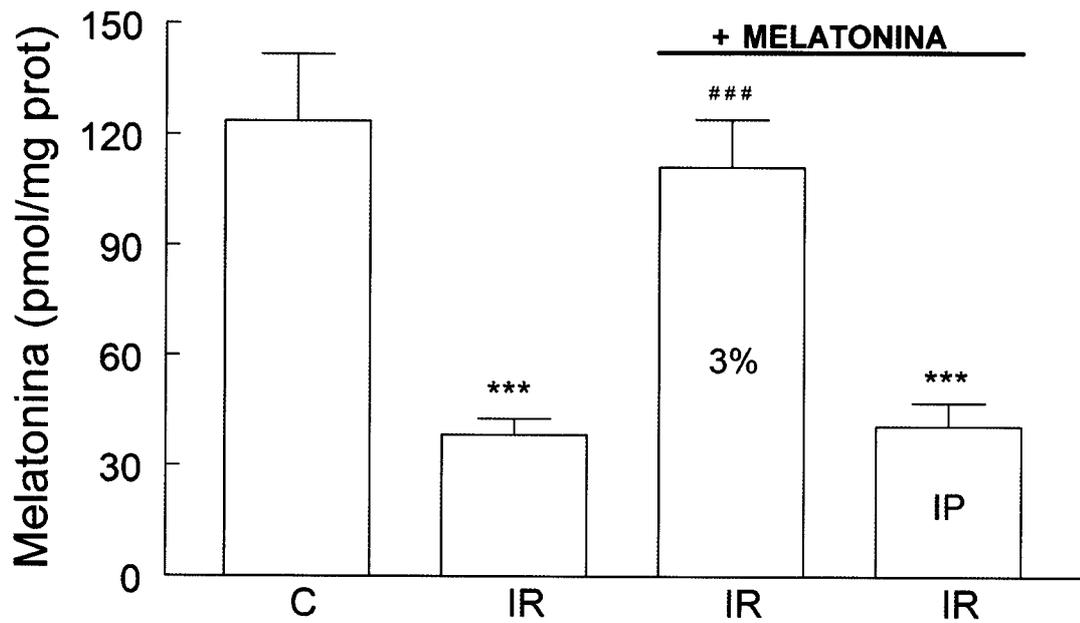


FIG.11



**FIG.12**



**IRRADIADAS + MT IP**



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201101158

②② Fecha de presentación de la solicitud: 19.10.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K31/4045** (2006.01)  
**A61P29/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ÖZTURK, A.S. et al.: "Histopathological evaluation of the effects of melatonin as a protectant against oropharyngeal mucositis induced by radiation therapy in a pinealectomy model in rats". International Journal of Hematology and Oncology, 2009, vol. 19, nº 2, páginas 88-94, página 89, columna 1, página 90, primera columna.	1-22
A	HERRSTEDT, J.: "Prevention and management of mucositis in patients with cancer", International Journal of antimicrobial agentes, 2000, vol. 16, páginas 161-163, página 162, tabla 1, columna segunda, tercer párrafo.	1-22
A	PLEVOVÁ, P.: "Prevention and treatment of chemotherapy and radiotherapy induced oral mucositis: a review". Oral Oncology, 1999, vol. 35, páginas 453-470, página 464, conclusiones.	1-22
A	YEAGER, R.L. et al.: "Melatonin as a principal component of red light therapy". Medical hypotheses, 2007, vol. 69, páginas 372-376, página 373, columna 1, líneas 10-14, página 374, columna 1, líneas 12-28.	1-22
A	LISSONI, P. et al.: "Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status". European Journal of Cancer, 1999, vol. 35, nº 12, páginas 1688-1692, todo el documento.	1-22

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**  
11.06.2012

**Examinador**  
H. Aylagas Cancio

**Página**  
1/4

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

A61K, A61P

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

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

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 11.06.2012

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-22	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-22	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<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	ÖZTURK, A.S. et al.: "Histopathological evaluation of the effects of melatonin as a protectant against oropharyngeal mucositis induced by radiation therapy in a pinealectomy model in rats". International Journal of Hematology and Oncology, 2009, vol. 19, nº 2, páginas 88-94, página 89, columna 1, página 90, primera columna.	
D02	HERRSTEDT, J. : "Prevention and management of mucositis in patients with cancer", International Journal of antimicrobial agentes, 2000, vol. 16, páginas 161-163, página 162, tabla 1, columna segunda, tercer párrafo.	
D03	PLEVOVÁ, P.: "Prevention and treatment of chemotherapy and radiotherapy induced oral mucositis: a review". Oral Oncology, 1999, vol. 35, páginas 453-470, página 464, conclusiones.	
D04	YEAGER, R.L. et al.: "Melatonin as a principal component of red light therapy". Medical hypotheses, 2007, vol. 69, páginas 372-376, página 373, columna 1, líneas 10-14, página 374, columna 1, líneas 12-28.	
D05	LISSONI, P. et al.: "Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status". European Journal of Cancer, 1999, vol. 35, nº 12, páginas 1688-1692, todo el documento.	

**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 presente solicitud se refiere al uso de una composición que comprende un compuesto de fórmula I, sus sales o profármacos, siendo este compuesto la melatonina, donde dicho compuesto está en una concentración del 2.5 al 5% p/v, para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de la mucositis causada por radioterapia y/o quimioterapia.

El documento D1 se refiere a un estudio sobre los efectos potenciales de la melatonina como protector en la mucositis oral y faríngea inducida por la terapia radiactiva. El párrafo 2 de la columna 1 de la página 90 se refiere a la preparación de una disolución de melatonina y su administración a ratas previo a la terapia por radiación.

El documento D2 se refiere a la melatonina como principal componente de la terapia con luz roja y su efectividad en reducir la mucositis oral que se produce con el uso de quimioterapia o radioterapia.

Los documentos D3 y D4 son dos reviews sobre los agentes utilizados como preventivos o terapéuticos en la mucositis provocada por el cáncer. En la tabla I del documento D3 y en la tabla I (página 460) del documento D4 se cita la melatonina entre otros agentes utilizados para el mismo fin.

Si bien en los documentos citados se cita la utilización potencial de la melatonina en el tratamiento o prevención de la mucositis provocada por la quimioterapia o radioterapia, en ninguno ellos se refleja la composición utilizada en la presente solicitud con una concentración del compuesto reivindicado entre 2.5 y 5 % p/v.

Por lo tanto, a la vista de los documentos D1-D4 la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-22 referente al uso de la melatonina en el tratamiento de la mucositis tiene novedad y de actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.