

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 687 484**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 31/4045 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2015 PCT/EP2015/055092**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2015 WO15135997**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2015 E 15712818 (2)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 3116482**

(54) Título: **Formulaciones basadas en melatonina para la administración parenteral**

(30) Prioridad:

13.03.2014 EP 14159326

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

25.10.2018

(73) Titular/es:

CHIESI FARMACEUTICI S.P.A. (100.0%)
Via Palermo, 26/A
43100 Parma, IT

(72) Inventor/es:

SOLIANI RASCHINI, ANNAMARIA;
TÜRELI, AKIF EMRE y
PRINZ, EVA MARIE

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 687 484 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

Formulaciones basadas en melatonina para la administración parenteral

5 Campo Técnico

La presente invención se refiere a una formulación de melatonina adecuada para la administración parenteral.

10 En particular, la presente invención se refiere a una formulación que comprende nanopartículas de melatonina para el uso en el tratamiento de la lesión cerebral neonatal.

Antecedentes de la invención

15 Los neonatos, especialmente si nacen prematuramente, son muy susceptibles al daño oxidativo por radicales libres. De hecho, los niños al nacer: a) están expuestos naturalmente a un desafío hiperóxico debido a la transición del ambiente intrauterino hipóxico a la vida extrauterina, y esta brecha es aún más significativa para los neonatos que requieren oxígeno suplementario durante la reanimación en la sala de partos; b) son más susceptibles a la infección, especialmente si nacen prematuramente; c) tienen defensas antioxidantes reducidas; d) poseen altos niveles de hierro libre que mejoran la reacción de Fenton causando la producción de radicales altamente tóxicos. El estrés oxidativo probablemente también contribuye a la gravedad de varias enfermedades neonatales, ya que puede afectar una variedad de órganos, a menudo simultáneamente, dando lugar a diferentes signos según el órgano más dañado. Dichas enfermedades incluyen la displasia broncopulmonar/la enfermedad pulmonar crónica (BDP/CLD), la retinopatía del prematuro (ROP) y la enterocolitis necrotizante (NEC). Posteriormente, se hizo evidente que los radicales libres están implicados en la lesión cerebral perinatal, así como en influir en el conducto arterioso y la circulación pulmonar.

20 25 Para contrarrestar el daño causado por los radicales libres se han propuesto muchas estrategias para aumentar la capacidad antioxidant en recién nacidos a término y prematuros, y se han experimentado varios medicamentos con resultados contrastantes.

30 35 40 La *N*-[2-(5-Metoxi-1*H*-indol-3-il)etil] acetamida, conocida como melatonina, es una sustancia endógena sintetizada principalmente en la glándula pineal a partir del neurotransmisor serotonina. La melatonina desempeña un papel clave en una variedad de funciones fisiológicas importantes, incluida la regulación de los ritmos circadianos, así como en las acciones visuales, reproductivas, cerebrovasculares, neuroendocrinas y neuroinmunológicas. La melatonina es un eliminador de radicales libres altamente efectivo que también mejora el potencial antioxidant de la célula al estimular la síntesis de enzimas antioxidant y al aumentar los niveles de glutatión. También se conoce que la melatonina contrarresta el agotamiento de la energía celular mediante la preservación de la homeostasis mitocondrial y protege la síntesis de ATP mitocondrial mediante la estimulación de las actividades de los Complejos I y IV. Además, se ha demostrado que la melatonina atenúa la activación microglial y las respuestas neuroinflamatorias que típicamente se asocian con ataques hipóxico-isquémicos. Además de su eficacia neuroprotectora bien documentada, la melatonina es un fármaco interesante, debido a su perfil de seguridad y su capacidad para cruzar todas las barreras fisiológicas y llegar a los compartimentos subcelulares.

45 A la luz de estas propiedades, durante la última década, la melatonina ha comenzado a ser considerada un agente neuroprotector atractivo en la asfixia perinatal.

50 55 60 Por otro lado, la biodisponibilidad oral de la melatonina es baja y muy variable. Además, la melatonina es poco soluble en agua y se degrada rápidamente en agua. En la técnica anterior, se mostraron evidencias que indican que la melatonina en solución acuosa pierde gradualmente potencia a todos los valores de pH y no es estable cuando se expone a la luz o al oxígeno. En este sentido, también se conoce bien que algunos estabilizadores y/o conservantes pueden tener el potencial de causar problemas toxicológicos, especialmente en la población infantil.

Además, el perfil farmacocinético de la melatonina en niños difiere del de los adultos; por lo que, la dosis de melatonina para recién nacidos a término o prematuros no se puede extrapolar a partir de los estudios en adultos. Recientemente, Robertson N y otros (Brain 136(1), 2013, 90-105) han demostrado que la melatonina administrada por vía intravenosa a lechones recién nacidos aumenta la neuroprotección hipotérmica a dosis significativamente altas (5 mg/kg/h). Sin embargo, la formulación utilizada en este estudio no es adecuada para la administración en neonatos humanos.

65 70 75 El documento WO 2013/068565 A2 describe formulaciones de melatonina que se administran por vía intravenosa para tratar afecciones neonatales. Las formulaciones están en forma de un polvo para reconstitución que comprende micropartículas de melatonina, un excipiente soluble en agua y un tensioactivo soluble en agua. Las micropartículas tienen un X90 inferior a 100 µm y un VDM inferior a 50 µm. Sería muy ventajoso proporcionar una formulación segura, física y químicamente estable, adecuada para la administración por vía parenteral de altas dosis de melatonina a neonatos para el tratamiento eficaz de una enfermedad neonatal, preferentemente la lesión cerebral neonatal.

80 85 90 95 65 La formulación de la presente invención resuelve el problema de una administración parenteral segura y efectiva de dosis terapéuticas de melatonina a neonatos.

Resumen de la invención

En un primer aspecto, la invención se refiere a una formulación farmacéutica que comprende un polvo para dispersarse en un vehículo acuoso y adecuado para la administración parenteral a neonatos afectados por lesión cerebral, dicho polvo consiste en: i) 20 a 75 % en peso de nanopartículas que consisten en melatonina como ingrediente activo en una mezcla con uno o más fosfolípidos que tienen una pureza igual o superior a 99 % y se seleccionan del grupo que consiste en fosfatidilcolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilsérinas, fosfatidilinositol y lecitinas, en donde la relación entre la melatonina y el fosfolípido varía entre 90:10 y 20:80 en peso, y ii) 25 a 80 % en peso de una mezcla de manitol y trehalosa como agente crioprotector; en donde al menos uno de dichos fosfolípidos se absorbe en la superficie de la melatonina, y la relación entre el manitol y la trehalosa es de 6:4 a 4:6 en peso. Ventajosamente, tras la dispersión en el vehículo acuoso, la concentración de melatonina está comprendida entre 1,0 y 20 mg/ml.

En un segundo aspecto, la invención se dirige a un proceso para preparar la formulación farmacéutica anterior, que comprende las etapas de: i) disolver la melatonina y uno o más fosfolípidos en un solvente orgánico; ii) generar las nanopartículas mediante precipitación controlada contra agua como anti-solvente utilizando la tecnología del reactor microjet; iii) añadir el agente crioprotector; y iv) eliminar el solvente orgánico residual y el agua.

En un tercer aspecto, la invención se refiere a nanopartículas adecuadas para dispersarse en un vehículo acuoso que consiste en melatonina como ingrediente activo en una mezcla con uno o más fosfolípidos que tienen una pureza igual o superior al 99 % y que se seleccionan del grupo que consiste en fosfatidilcolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilsérinas, fosfatidilinositol y lecitinas, en donde al menos uno de dichos fosfolípidos se absorbe en la superficie de la melatonina, y la relación entre la melatonina y el fosfolípido varía entre 90:10 y 20:80 en peso. En un cuarto aspecto, la invención se refiere a las nanopartículas de melatonina anteriores para usar en la profilaxis y/o el tratamiento de una enfermedad neonatal, preferentemente en el tratamiento de una lesión cerebral hipóxica-isquémica que se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hipóxico-isquémica (HIE), accidente cerebrovascular arterial perinatal (PAS) y leucomalaquia periventricular (PVL).

Definiciones

Con referencia a la melatonina, los términos "fármaco", "ingrediente activo" y "sustancia activa" se usan indistintamente.

El término "nanopartículas" significa partículas que tienen un diámetro comprendido entre 1 y 1000 nanómetros de tamaño. Dicho diámetro se puede determinar de acuerdo con métodos conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo con dispersión de luz dinámica (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

La expresión "se absorbe en la superficie" significa la adhesión del fosfolípido a la superficie del fármaco. Este proceso crea una película del fosfolípido en la superficie. La adsorción del fosfolípido se puede determinar mediante espectroscopía IR-TF o por calorimetría de barrido diferencial (DSC), de acuerdo con procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Típicamente, en cuanto al análisis de IR-TF: i) se registrarán los espectros de referencia del fosfolípido y la melatonina; ii) para confirmar que se produjo la adsorción, el espectro IR-TF de las nanopartículas secas solo deberá exhibir los picos del fosfolípido. En cuanto al análisis de DSC, la traza térmica de las nanopartículas secas no debe mostrar el pico endotérmico de fusión del fármaco.

El término "anti-solvente" significa un líquido que tiene poca o ninguna capacidad de solvatación para el fármaco.

El término "seguro" significa una formulación farmacéutica adecuada para inyección capaz de satisfacer los criterios de inyectabilidad para medicamentos, bien tolerados por neonatos y desprovistos de excipientes que podrían ser nocivos, antigenéticos o tóxicos para esta población de pacientes.

La expresión "insoluble en agua o poco soluble en agua" se usa con referencia a la solubilidad en agua como se define en la Farmacopea Europea. 4ta Ed., 2003, página 2891. Los fosfolípidos son una clase de lípidos constituidos por glicerol, un grupo fosfato, un grupo neutro o zwitteriónico como la parte caracterizante (colina, serina, inositol, etc.); El glicerol puede esterificarse con ácidos grasos de cadena larga (C_{14} - C_{22}) que a su vez pueden ser saturados (por ejemplo, ácido mirístico, palmitico y esteárico), monoinsaturados (por ejemplo, ácido oleico) o poliinsaturados (por ejemplo, ácido linoleico y araquidónico).

Cada clase de fosfolípidos es una mezcla de diferentes especies que varían para los ácidos grasos esterificantes.

Por ejemplo, dependiendo de la fuente, las fosfatidilcolinas podrían estar constituidas por diferentes proporciones de: 1,2-dilauryl-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como dilauril-fosfatidilcolina; 1,2-miristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como dimiristoil-fosfatidilcolina; 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como dipalmitoil-fosfatidilcolina; 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina generalmente conocida como palmitoil-oleoil-fosfatidilcolina; 1-palmitoil-2-linoleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como palmitoil-linoleoil-fosfatidilcolina; 1-estearoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como estearoil-oleoil-fosfatidilcolina; 1-stearoil-2-linoleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, generalmente conocida como estearoil-linoleoil-fosfatidilcolina.

La expresión "carga del fármaco en las nanopartículas" se refiere a la relación del fármaco que se ha cargado en las nanopartículas con respecto al contenido total de su dosis. Se puede determinar de acuerdo con los métodos conocidos, por ejemplo, mediante filtración seguido de la determinación del contenido residual del fármaco en el sobrenadante. Cuanto menor es el contenido del fármaco en el sobrenadante, más eficiente es la carga del fármaco. De lo contrario, la

5 carga del fármaco podría determinarse mediante el ensayo de HPLC del fármaco tras la disolución de las nanopartículas con etanol.

El término "preparación extemporánea" se usa para designar todos aquellos casos en los que la formulación farmacéutica no se fabrica lista-para-usar, sino que debe prepararse en un momento posterior a aquel en que se fabrica el polvo, usualmente un tiempo cercano al tiempo de administración al paciente.

10 Para una formulación en forma de preparación extemporánea, la expresión "químicamente estable" se refiere a una formulación que, tras el almacenamiento a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante al menos un día, preferentemente tres días y más preferentemente una semana, no muestra pérdida de fármaco a partir de las nanopartículas ni la degradación del fármaco.

15 Para una formulación lista-para-usar, la expresión "químicamente estable" se refiere a una formulación que, tras el almacenamiento a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante al menos tres días, preferentemente una semana, más preferentemente un mes, incluso más preferentemente tres meses, no muestra pérdida de fármaco a partir de las nanopartículas ni la degradación del fármaco.

20 Para una formulación en forma de preparación extemporánea, la expresión "físicamente estable" se refiere a una formulación que, a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), no muestra sustancialmente crecimiento en el tamaño de la partícula durante el almacenamiento por al menos un día, preferentemente tres días, es fácilmente redispersable, y tras la redispersión, no se observan aglomerados ni separación rápida del vehículo acuoso para evitar la reproducción de la dosificación del ingrediente activo.

25 Para una formulación lista-para-usar, la expresión "físicamente estable" se refiere a una formulación que, a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), no muestra sustancialmente crecimiento en el tamaño de partícula durante el almacenamiento por al menos tres días, preferentemente una semana, es fácilmente redispersable, y tras la redispersión, no se observan aglomerados ni separación rápida del vehículo acuoso para evitar la reproducción de la dosificación del ingrediente activo.

30 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad de ingrediente activo que, cuando se administra a neonatos, proporciona el efecto biológico deseado.

35 El término "profilaxis" se refiere al uso terapéutico para reducir la aparición de una enfermedad.

40 El término "tratamiento" se refiere al uso terapéutico para la terapia paliativa, de curado, de alivio de los síntomas, reductora de síntomas, inductora de la regresión de la enfermedad.

45 Descripción detallada de la invención

Gracias a su actividad antioxidante y a sus otras propiedades farmacológicas, la melatonina podría usarse con éxito en la profilaxis y/o tratamiento de ciertas enfermedades neonatales.

45 Sin embargo, la necesidad de administrar dosis bastante altas dificulta el desarrollo de una formulación líquida.

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es proporcionar una formulación farmacéutica segura, física y químicamente estable, adecuada para la vía parenteral en neonatos, en donde la concentración de melatonina está ventajosamente comprendida entre 1,0 y 20 mg/ml.

Más ventajosamente, la concentración estará comprendida entre 1,2 y 15 mg/ml, incluso más ventajosamente entre 3 y 12 mg/ml, preferentemente entre 5 y 10 mg/ml.

55 En una modalidad particular de la invención, la concentración de melatonina será de 5 mg/ml.

La melatonina puede usarse como una base libre o en forma de cualquier sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma.

60 La formulación farmacéutica comprende nanopartículas de melatonina y un agente crioprotector para resuspenderse en un vehículo acuoso.

Ventajosamente, dichas nanopartículas tienen un diámetro comprendido entre 20 y 1000 nanómetros, más ventajosamente entre 30 y 500 nanómetros, incluso más ventajosamente entre 40 y 350 nanómetros, preferentemente entre 60 y 250 nanómetros.

En una modalidad preferida, el diámetro podría estar comprendido entre 100 y 200 nanómetros, ya que dicho tamaño es apropiado para la esterilización por filtración.

5 El diámetro de las nanopartículas se ha determinado mediante dispersión dinámica de la luz (DLS) de acuerdo con las condiciones experimentales conocidas por el experto en la técnica.

En dichas nanopartículas, al menos un fosfolípido se adsorbe en la superficie de la melatonina, de manera que se puede evitar la aglomeración y/o el crecimiento de las partículas tras la resuspensión en un vehículo acuoso.

10 Además, se conoce bien que una baja carga del fármaco puede causar problemas de homogeneidad.

Sorprendentemente, se ha encontrado que mediante la selección apropiada del fosfolípido, es posible lograr una alta carga del fármaco en las nanopartículas, ventajosamente igual o superior a 65 % en peso, preferentemente superior a 80 %, más preferentemente superior a 90 %.

15 Finalmente, la estabilidad de la preparación farmacéutica durante su manipulación y almacenamiento puede garantizarse sin necesidad de mantener las nanopartículas en condiciones controladas de temperatura y/o humedad relativa.

20 Los fosfolípidos son sustancias biodegradables, no tóxicas y no antigenicas que los convierten en candidatos apropiados para las aplicaciones parenterales.

El fosfolípido se selecciona del grupo que consiste en fosfatidilcolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilserinas, fosfatidilinositol, lecitinas y las mezclas de los mismos. Ventajosamente, el fosfolípido tiene una pureza aceptable para la administración parenteral a neonatos, que es igual o mayor que 99 %.

25 En una modalidad de la invención, si se decide usar una mezcla de fosfolípidos, se pueden usar lecitinas de diferentes fuentes, por ejemplo, extraídas de aceite de soja, aceite de girasol o yema de huevo. Las lecitinas con diferentes purezas están disponibles comercialmente en Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, EE.UU. o en Lipoid AG, Steinhausen, Suiza o en AppliChem GmbH, Darmstadt, Alemania.

30 En otras modalidades, se pueden usar solo fosfolípidos de una pureza y calidad adecuadas para la aplicación parenteral, por ejemplo, comercialmente disponibles en Lipoid AG. La fosfatidicolina o la fosfatidicolina hidrogenada están comercialmente disponibles en Lipoid AG, como Lipoid S100 o Phospholipon 80 H, respectivamente. La fosfatidicolina de 90 % de pureza está disponible en Lipoid AG como Lipoid S100. En una modalidad preferida de la invención, se usa una mezcla de fosfatidicolina y lecitina, preferentemente en una relación comprendida entre 70:30 y 99:1 en peso, más preferentemente en una relación comprendida entre 80:20 y 98:2 en peso. En un aspecto no de acuerdo con la invención, podrían añadirse a la formulación agentes adicionales, que podrían ayudar a estabilizar las nanopartículas (en lo adelante, agentes de estabilización), para aumentar adicionalmente la estabilidad física de las nanopartículas de melatonina y modular el tamaño de las mismas. Por otra parte, la cantidad de dicho agente estabilizante se debe controlar adecuadamente para evitar la formación de micelas.

35 Ventajosamente, dicho agente de estabilización podría ser un tocoferol, preferentemente D,L alfa-tocoferol, también conocido como vitamina E. En otra modalidad, dicho agente podría ser ácido desoxicólico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferentemente la sal de sodio. Dichos agentes de estabilización podrían usarse solos o en una mezcla de los mismos.

40 Dichos agentes, de pureza y calidad adecuados para la aplicación parenteral a neonatos, están comercialmente disponibles en Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, EE.UU. o en Alfa Aesar GmbH, Karlsruhe, Alemania. Dicho agente de estabilización podría ser un ácido graso saturado o insaturado C12-C24, preferentemente un ácido graso saturado o insaturado C14-C18, más preferentemente ácido palmitico o ácido oleico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El agente de estabilización podría ser oleato de sodio con una pureza superior a 99 %, comercialmente disponible en Lipoid AG.

45 El agente crioprotector es una mezcla de manitol y trehalosa en una relación comprendida entre 6:4 y 4:6 en peso, más preferentemente en una relación 1:1 en peso.

50 De hecho, se ha encontrado que dicha mezcla de agentes crioprotectores mejora significativamente la redispersibilidad de las nanopartículas en forma de polvo en el vehículo acuoso. Además, la composición farmacéutica que comprende dicha mezcla de agentes crioprotectores resultó ser particularmente estable química y físicamente.

55 Ventajosamente, el agente crioprotector podría estar presente en una cantidad que dé lugar a una concentración de 5 a 100 mg/ml, preferentemente de 20 a 80 mg/ml, más preferentemente entre 25 y 50 mg/ml. Más ventajosamente, se utilizará un agente crioprotector de una pureza adecuada para la administración parenteral a neonatos, por ejemplo, disponible en Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, EE.UU., o en BDH Middle East LLC, Qatar.

60
65

En una modalidad particular de la invención, la melatonina podría estar presente en una cantidad en el intervalo de 5 y 15 % en peso, el fosfolípido en una cantidad comprendida entre 15 y 60 % en peso, y el agente crioprotector en una cantidad comprendida entre 25 y 80 % en peso. La relación entre la melatonina y el fosfolípido varía entre 90:10 y 20:80 en peso.

- 5 Si en las nanopartículas la melatonina se usa en combinación con un fosfolípido y un agente de estabilización, la relación podría estar en el intervalo entre 98:1:1 y 30:40:30 en peso. Esta modalidad no cae dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, si se usa melatonina en combinación con una fosfatidilcolina y el ácido desoxicólico o una sal del mismo, la relación podría estar en el intervalo entre 5:90:5 y 30:55:15 en peso. Más preferentemente, la relación es 10:80:10 en peso. Esta modalidad no cae dentro del alcance de la invención. Si se usa la melatonina en combinación con una fosfatidilcolina y una sal de sodio de oleato, la relación podría estar ventajosamente en el intervalo entre 10:89,999:0,001 y 30:40:30 en peso. En una modalidad particular, la relación puede estar comprendida entre 10:89,999:0,001 y 15:84,9:0,1 en peso. Esta modalidad no cae dentro del alcance de la invención. En este sentido, en algunas modalidades ilustrativas, la relación podría ser: 14,3:85,67:0,03 o 14,3:85,685:0,015 o 14,3:85,693:0,007 o 14,3:85,697:0,003 en peso. Estas modalidades no caen dentro del alcance de la invención. En otra modalidad particular, la relación puede estar en el intervalo entre 30:40:30 y 20:60:20 en peso. Esta modalidad no cae dentro del alcance de la invención. En este sentido, en algunas modalidades ilustrativas, la relación podría ser 26:47:27 o 23:55:22 en peso. Estas modalidades no caen dentro del alcance de la invención. Si la melatonina se usa en combinación con lecitina y vitamina E, la relación podría estar en el intervalo entre 45:50:5 y 96:3:1 en peso, respectivamente. Las relaciones ilustrativas podrían ser 55:43:3 o 76:20:4 o 85:10:5 en peso. Estas modalidades no caen dentro del alcance de la invención. Las nanopartículas descritas en la presente descripción podrían almacenarse en forma sólida seca y la formulación farmacéutica relativa en forma de dispersión preparada extemporáneamente antes de su uso.

Alternativamente, una formulación farmacéutica lista-para-usar podría prepararse dispersando las nanopartículas de melatonina y el agente crioprotector en un vehículo acuoso apropiado.

- 25 Se podría usar cualquier vehículo acuoso farmacéuticamente adecuado para la administración parenteral a neonatos, por ejemplo, agua para inyección. De lo contrario, se podría utilizar una solución salina acuosa o una solución de glucosa a una concentración apropiada que deberá ajustarse por el experto en la técnica. En algunas modalidades, podría ser preferible una solución salina fisiológica acuosa (cloruro de sodio al 0,9 % p/v).

- 30 En otras modalidades, se podría usar ventajosamente una solución acuosa de glucosa a una concentración de 5 % o 10 % p/v.

- 35 La formulación farmacéutica de la invención puede comprender otros excipientes, por ejemplo, tampones de pH tales como tampones de acetato, fosfato o citrato, preferentemente de fosfato, y conservantes.

Ventajosamente, el pH de la formulación farmacéutica está comprendido entre 4,5 y 8,0, preferentemente 5,5 y 7,5.

- 40 En una modalidad particularmente preferida, la formulación farmacéutica de la invención comprende nanopartículas que consisten en 5-15 % en peso de melatonina, en mezcla con 15-25 % en peso de una mezcla de fosfatidilcolina y lecitina, y 60-80 % en peso de una mezcla de manitol y trehalosa como agente crioprotector, para dispersar en un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, tras la dispersión en dicho vehículo, la concentración de melatonina es de 5 mg/ml.

- 45 Dado que la formulación farmacéutica de la invención debería ser adecuada para la administración parenteral, su osmoticidad es de particular importancia. Por consiguiente, la formulación de la invención debe tener una osmolaridad de menos de 600 mOsm/kg, ventajosamente de 180 mOsm/kg a 500 mOsm/kg, más ventajosamente de 200 a 400 mOsm/kg, preferentemente de 250 a 350 mOsm/kg.

- 50 En una modalidad preferida de la invención, la formulación farmacéutica de la invención podría administrarse por inyección intravenosa o por infusión.

Si se administra por infusión, la formulación farmacéutica podría redispersarse justo antes de su uso en una solución acuosa salina o de glucosa y administrarse mediante una bomba de infusión apropiada.

- 55 Dado que se ha reportado en la bibliografía que la melatonina atraviesa la placenta, en una modalidad alternativa, la formulación farmacéutica de la invención podría administrarse antes del parto a las mujeres embarazadas (Miller SL y otros, J Pineal Res. 2014 enero 23; Alers NO y otros BMJ Open. 2013 Dec 23;3(12)).

- 60 Típicamente, la concentración de melatonina en la formulación, y por lo tanto su dosificación, variará según el sexo, el peso y la madurez del paciente, así como con la gravedad de la afección del paciente. Los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente estos factores y por lo tanto, ajustar la concentración.

- 65 Por ejemplo, la formulación farmacéutica de la invención podría administrarse una o más veces al día para alcanzar una dosificación de 1 a 40 mg/kg/día, ventajosamente de 5 a 35 mg/kg/día, preferentemente 30 mg/kg/día.

En una de las modalidades preferidas, la formulación se administra por infusión a 5 mg/kg/hora durante seis horas para una dosificación total de 30 mg/kg/día.

La invención proporciona además un proceso para preparar la formulación farmacéutica de la invención, dicho proceso comprende las etapas de:

- 5 i) disolver la melatonina y uno o más fosfolípidos en un solvente orgánico;
- ii) generar las nanopartículas mediante precipitación controlada contra agua como anti-solvente usando la tecnología del reactor microjet;
- 10 iii) añadir el agente crioprotector; y
- iv) eliminar el solvente orgánico residual y el agua.

Dependiendo del tipo de fosfolípido, los solventes orgánicos adecuados pueden seleccionarse del grupo que incluye, pero no se limitan a, DMSO, metanol, isopropanol o etanol, preferentemente DMSO o etanol, más preferentemente etanol.

15 Sin embargo, dado que se descubrió que los solventes orgánicos residuales ponen en peligro significativamente la estabilidad física de las nanopartículas de la invención, deberían eliminarse de acuerdo con los procedimientos reportados en la técnica.

20 Preferentemente, se eliminan sometiendo la suspensión obtenida al final de la etapa iii) a una etapa de liofilización de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Después de la liofilización, la formulación farmacéutica se recolecta para obtener un polvo para reconstituir antes de usar o resuspender en un vehículo acuoso apropiado para proporcionar una formulación farmacéutica lista-para-usar.

25 Los detalles y los parámetros operativos de la tecnología del reactor microjet se describen en US 2011/0294770. Para optimizar la etapa de precipitación, el experto en la materia ajustará adecuadamente todos los parámetros de acuerdo con su conocimiento, en particular las velocidades de flujo de la solución orgánica y el agua y su relación de mezcla.

30 Opcionalmente, las nanopartículas de la invención y/o la formulación farmacéutica de las mismas son estériles.

La esterilización se puede lograr de acuerdo con los métodos conocidos. Por ejemplo, las nanopartículas se pueden esterilizar mediante irradiación gamma, mientras que la formulación farmacéutica lista-para-usar se puede esterilizar mediante filtración o por tratamientos en autoclave.

35 Las nanopartículas de melatonina y las formulaciones farmacéuticas de las mismas se pueden usar para la profilaxis y/o el tratamiento de cualquier enfermedad neonatal cuando existe una contribución de un estrés oxidativo. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a, displasia broncopulmonar/enfermedad pulmonar crónica (BDP/CLD), retinopatía del prematuro (ROP), enterocolitis necrotizante (NEC) y lesión cerebral debido a la asfixia perinatal y la

40 encefalopatía hipóxico-isquémica (HIE).

En particular, las nanopartículas de melatonina pueden usarse para la profilaxis y/o el tratamiento de patologías caracterizadas por la muerte celular, particularmente en HIE.

45 Las nanopartículas de melatonina también se pueden usar para la profilaxis y/o tratamiento de otras lesiones cerebrales neonatales hipóxicas-isquémicas, que abarcan el accidente cerebrovascular arterial perinatal (PAS) y la leucomalaquia periventricular (PVL).

50 Hoy en día, la hipotermia se reconoce como una modalidad de tratamiento eficaz para la asfixia perinatal y la HIE. En consecuencia, el uso de las nanopartículas de melatonina, en combinación con la hipotermia, puede conducir a un mayor efecto neuroprotector cerebral que solo la hipotermia, mejorando así el resultado clínico inmediato y a largo plazo.

55 Dado que los recién nacidos y particularmente aquellos que nacen prematuramente están menos protegidos contra la oxidación y son altamente susceptibles al daño oxidativo mediado por radicales libres, las nanopartículas también pueden ser útiles para reducir el estrés oxidativo en neonatos con sepsis, síndrome de dificultad respiratoria o estrés quirúrgico.

60 Además, las nanopartículas de melatonina pueden administrarse para la profilaxis y/o el tratamiento de cualquier enfermedad, en donde la melatonina pueda ser de algún beneficio, teniendo en cuenta su muy bien conocido perfil de seguridad. Por ejemplo, se pueden usar como coadyuvantes para muchas aplicaciones, incluidas las enfermedades que generalmente están relacionadas con la edad pediátrica, como:

- disomnias y dificultades para iniciar y mantener el sueño. Entre estos, el síndrome de la fase del sueño retrasada (DSPS) y el síndrome de la fase del sueño adelantada (ASPS);
- alteraciones neurológicas que afectan los patrones irregulares de sueño-vigilia como:

65 discapacidad mental o intelectual, retraso mental, problemas de aprendizaje, trastornos del espectro autista, síndrome de Rett, esclerosis tuberosa,

discapacidades del desarrollo y síndrome de Angelman;

- problemas de sueño incluyendo retraso en el sueño, resistencia al sueño o a acostarse, cansancio prolongado al despertar y somnolencia diurna, así como el Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad (ADHD), el Síndrome de Smith Magenis (SMS) y el Síndrome de Sanfilippo (SFS).

Finalmente, también se describe un kit para la preparación extemporánea que comprende: a) la formulación farmacéutica de la invención; b) un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable; c) medios de envase para contener la formulación farmacéutica y el vehículo acuoso.

En una modalidad preferida, como vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable, se puede usar agua para inyección.

En otra modalidad, se puede usar una solución salina fisiológica acuosa (cloruro de sodio al 0,9 % p/v). Los siguientes ejemplos ilustran la preparación de las nanopartículas de melatonina y de las formulaciones liofilizadas que comprenden las nanopartículas.

Ejemplo de referencia 1 - Preparación de nanopartículas de melatonina en presencia de fosfatidilcolina (pureza de 90 %)

Para preparar las nanopartículas, la melatonina se disolvió en etanol a una concentración de 25 o 50 mg/ml en presencia de fosfatidilcolina (Lipoid S 100, Lipoid AG) con concentraciones en el intervalo entre 5 y 300 mg/ml.

Estas soluciones se precipitaron contra agua usando la tecnología del reactor microjet. Durante el proceso de precipitación, la velocidad de flujo de la solución de melatonina se ajustó a 1-4 ml/min y la velocidad de flujo del agua se ajustó a 10 ml/min. Se usó una presión de gas de 0,1 o 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

El solvente orgánico residual se eliminó a vacío a 30 °C.

Para determinar la carga del fármaco, la concentración de melatonina libre en la fase acuosa, las nanopartículas se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,02 µm y se centrifugaron a 16000 r.p.m. durante 90 min.

Las nanopartículas de melatonina también se caracterizaron en términos del tamaño de partícula midiendo su diámetro a través de la dispersión de luz dinámica (DLS).

Los resultados se informan en la Tabla 1.

Tabla 1

Muestra	Conc, Melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc, fosfatidilcolina (mg/mL)	% Cantidad melatonina en sobrenadante	Carga de fármaco en nanopartículas (%)	Tamaño de partícula (nm)
1	50	Etanol	16	17,03	82,97	123,4
2	50	Etanol	18	16,71	83,29	144,9
3	50	Etanol	20	17,10	82,90	87,75
4	50	Etanol	22	21,67	78,33	164,7
5	50	Etanol	24	26,47	73,53	190,1
6	50	Etanol	26	20,18	79,82	218,5
7	25	Etanol		10,45	89,55	68,83
8	25	Etanol		10,05	89,95	54,37
9	25	Etanol		12,86	87,14	61,23
10	25	Etanol		10,02	89,98	65,25
11	25	Etanol		11,24	88,76	66,05
12	25	Etanol		11,31	88,69	67,05
13	25	Etanol		13,10	86,90	69,06
14	25	Etanol		12,5	87,50	74,67

15	25	Etanol	22	15,7	84,30	79,63
16	25	Etanol		13,6	86,40	94,09
17	25	Etanol	26	13,9	86,10	86,5
18	25	Etanol		10,1	89,90	98,44
19	25	Etanol	5	13,1	86,90	51,29

10

Como se puede apreciar, se pueden preparar nanopartículas de melatonina con contenido de melatonina libre inferior a aproximadamente 15 %. Algunas de las muestras tienen un tamaño de partícula inferior a 200 nanómetros, lo que es apropiado para la esterilización por filtro.

15 Ejemplo de referencia 2 - Preparación de nanopartículas de melatonina en presencia de fosfatidilcolina (pureza de 90 %) y desoxicolato de sodio

La melatonina se disolvió en etanol a una concentración de 25 o 50 mg/ml en presencia de fosfatidilcolina (Lipoid S 100, Lipoid AG) a concentraciones en el intervalo entre 5 y 200 mg/ml y desoxicolato de sodio a concentraciones de 15 o 25 mg/mL. Durante la precipitación, la velocidad de flujo del proceso de la solución de melatonina se ajustó a 3-4 ml/min y la velocidad de flujo del agua se ajustó a 10 ml/min. Se usó una presión de gas de 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

25 El solvente orgánico residual se evaporó al vacío a 30 °C.

Además, la suspensión de las nanopartículas se completó en volumen para reajustar la concentración del ingrediente activo a aproximadamente 5 mg/ml para todas las preparaciones.

30 Las nanopartículas de melatonina resultantes se caracterizaron en términos del tamaño de partícula como se informó en el Ejemplo de referencia 1.

Además, el contenido total de melatonina en las nanopartículas se determinó por HPLC tras su disolución con etanol.

35 Los resultados se informan en la Tabla 2.

Tabla 2

Muestra	Conc, Melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc, fosfatidilcolina (mg/mL)	Conc, Ácido desoxicólico sódico (mg/ml)	Conc, final melatonina (mg/ml)	Tamaño de partícula (nm)
1	25	Etanol	75	15	4,91	149,9
2	25	Etanol	200	25	5,82	152
3	25	Etanol	125	25	5,54	145,5
4	25	Etanol	75	15	5,52	164
5	25	Etanol	200	25	5,86	151,4
6	25	Etanol	125	25	5,58	123,8

55 Como se puede apreciar, dentro del error experimental, la concentración de melatonina es constante con una carga del fármaco superior a 95 %.

El tamaño de partícula está comprendido entre 100 y 200 nm.

Ejemplo de referencia 3 - Estabilidad de las nanopartículas de melatonina

60

La muestra 5 del Ejemplo de referencia 2, en donde se utilizan la melatonina, la fosfatidilcolina y el ácido desoxicólico sódico en una relación de 10:80:10 en peso, se puso en un vial y se almacenó a temperatura ambiente. Después de una semana de almacenamiento, la suspensión de nanopartículas se caracterizó por el contenido de melatonina y el tamaño de la partícula como se informó en el Ejemplo de referencia 2.

65

Los resultados se informan en la Tabla 3.

Tabla 3

5	Conc, melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc, fosfatidilcolina (mg/mL)	Conc, Ácido desoxicólico sódico	t =0 Conc, melatonina (mg/ml)	t =0 Tamaño de partícula (nm)	t = 7 dd Conc, melatonina (mg/ml)	t = 7 dd Tamaño partícula (nm)
10	25	Etanol	200	25	5,86	151,4	5,97	152,7

Como se ha visto anteriormente, dicha formulación demostró ser estable durante al menos una semana.

15 Ejemplo de referencia 4 - Formulación liofilizada

Las muestras 1 y 5 del Ejemplo de referencia 2 se liofilizaron con la adición de manitol como agente crioprotector de acuerdo con el siguiente programa:

20	Tiempo (h)	00:30	12:00	00:01	06:30	04:30	04:00	01:00	04:00	0,01	30:00
	Temperatura (°C)	-85	-85	-30	-30	20	20	30	30	30	30
	Presión (mbar)	1,013,25	1,013,25	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,001	0,001

25

Las nanopartículas liofilizadas obtenidas se dispersaron en agua para inyección para obtener concentraciones variables de melatonina y manitol.

30 Las muestras resultantes se analizaron por el contenido y el tamaño de partícula como se informó en el Ejemplo de referencia 2.

Los resultados se informan en la Tabla 4.

35 Tabla 4

40	Conc, inicial melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc, inicial fosfatidilcolina (mg/mL)	Conc, inicial Ácido desoxicólico sódico (mg/ml)	Conc, final manitol (mg/ml)	Conc, final melatonina (mg/ml)	Tamaño de partícula (nm)
45	25,00	Etanol	75,0	15	7,5	3,21	211,4
	25,00	Etanol			12,5	3,26	199,0
	25,00	Etanol			25,0	3,40	190,8
	25,00	Etanol			50,0	5,07	181,5
50	25,00	Etanol	200,1	25	7,5	3,60	214,0
	25,00	Etanol			12,5	4,40	192,6
	25,00	Etanol			25,0	5,03	197,7
	25,00	Etanol			50,0	5,05	175,0

55

Las formulaciones demostraron ser bien dispersables. En particular, la adición de 25 o 50 mg/ml de manitol dio lugar a una dispersión total de las nanopartículas después de la liofilización.

Ejemplo de referencia 5 - Preparación de nanopartículas de melatonina en presencia de lecitina y vitamina E

60

Para preparar las nanopartículas, la melatonina se disolvió en DMSO a una concentración de 150 o 200 mg/ml en presencia de lecitina (Lipoid AG) a una concentración de 0,7 mg/ml y vitamina E a una concentración de 0,5, 1,2 mg/ml.

65

Durante el proceso de precipitación, las velocidades de flujo de la solución de melatonina y agua se ajustaron para tener una relación de mezcla de 1:1 v/v.

Se usó una presión de gas de 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

El solvente orgánico residual se evaporó al vacío a 30 °C.

Después, la suspensión de nanopartículas se completó en volumen para reajustar la concentración del ingrediente activo a aproximadamente 5 mg/ml para todas las preparaciones.

Las composiciones se informan en la Tabla 5.

10 Tabla 5

Muestra	Conc. Melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc. Lecitina (mg/mL)	Conc. Vitamina E (mg/ml)
1	200	DMSO	0,7	19,8
2	150	DMSO	0,7	4,87

20 Ejemplo de referencia 6 - Preparación de nanopartículas de melatonina en presencia de fosfatidilcolina (90 % de pureza) y oleato de sodio

25 La melatonina se disolvió en etanol a una concentración de 25 mg/ ml en presencia de fosfatidilcolina (Lipoid S 100, Lipoid AG) a una concentración de 150 mg/ml y oleato de sodio (Lipoid Natriumoleat B, Lipoid AG) a una concentración de 0,05 mg/ml. Durante el proceso de precipitación, la velocidad de flujo de la solución de melatonina se ajustó a 3-4 ml/min, mientras que la velocidad de flujo del agua se ajustó a 10 ml/min. Se usó una presión de gas de 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

30 35 Después, la suspensión de nanopartículas se completó en volumen para reajustar la concentración del ingrediente activo a aproximadamente 5 mg/ml para todas las preparaciones.

Las nanopartículas resultantes se caracterizaron en términos del tamaño de partícula como se informó en el Ejemplo de referencia 1.

40 Los resultados se informan en la Tabla 6.

Tabla 6

Muestra	Conc. Melatonina (mg/mL)	Solvente	Conc. fosfatidilcolina (mg/mL)	Conc. Oleato-Na (mg/ml)	Tamaño de partícula (nm)
1	25	Etanol	150	0.05	371.5
2	25	Etanol	150	0.05	351.2

50 Las muestras se liofilizaron tras la adición de glicina o manitol, como se informó en el Ejemplo de referencia 4, para obtener una concentración final de 25 mg/ml del agente crioprotector.

Ejemplo de referencia 7 - Preparación de nanopartículas de melatonina en presencia de fosfatidilcolina (90 % de pureza) y lecitina

55 La melatonina (50 mg/ml) se disolvió en etanol en presencia de fosfatidilcolina (Lipoid S 100, Lipoid AG) y lecitina de soja (Lipoid S PC-3, Lipoid AG) en diferentes relaciones. Durante el proceso de precipitación, la velocidad de flujo de la solución de melatonina se ajustó a 2 ml/min y la velocidad de flujo del agua se ajustó a 10 ml/min. Se usó una presión de gas de 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

60 Las muestras se liofilizaron con la adición de una mezcla de manitol y trehalosa en una relación 1:1 en peso como agente crioprotector, de acuerdo con las condiciones del Ejemplo de referencia 4.

65 Los polvos liofilizados obtenidos se dispersaron en agua para inyección para obtener una concentración de melatonina de aproximadamente 5 mg/ml para todas las preparaciones.

Las composiciones de las formulaciones obtenidas y el tamaño de partícula de las nanopartículas de melatonina se informan en la Tabla 7.

Tabla 7

Formulación	Conc, final melatonina (mg/mL)	Conc, final fosfatidilcolina (mg/mL)	Conc, final lecitina (mg/ml)	Conc, final manitol (mg/ml)	Conc, final trehalosa (mg/ml)	Tamaño de partícula (nm)
1	4,89	14,67	0,39	25	25	167,6
2	5,27	15,81	1,05	25	25	156,8
3	4,89	16,63	1,47	25	25	186,4

Las muestras resultantes se analizaron para la carga del fármaco y el tamaño de partícula como se informó en el Ejemplo de referencia 1.

Todas las formulaciones demostraron ser bien dispersables con una carga del fármaco superior a 80 %.

Ejemplo de referencia 8 - Estabilidad de la formulación farmacéutica liofilizada

Las muestras de la formulación liofilizada 1, como se preparó en el Ejemplo de referencia 7, se almacenaron a 25 °C y 40 °C para evaluar la estabilidad de la formulación.

En cada uno de los tiempos, los liofilizados se resuspendieron con agua y se evaluaron inmediatamente después de la resuspensión (0 h) así como después de 8 horas (8 h) y 24 horas (24 h) de almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C).

La estabilidad química se verificó por HPLC, mientras que la estabilidad física se evaluó visualmente. El tamaño de partícula se determinó como se informó en el Ejemplo de referencia 1.

Se evaluó también el pH.

Los resultados se informan en la Tabla 8.

Tabla 8

ID	[°C]	Mes 0			Mes 1			Mes 2			Mes 3		
		0h	8h	24h									
Ensayo (mg/ml)	25	4,89	4,82	4,85	4,92	4,84	4,90	4,88	4,85	4,83	4,89	4,83	4,86
	40				4,94	4,86	4,90	4,93	4,85	4,89	4,95	4,86	4,90
Tamaño de partícula (nm)	25	167,6	173,8	172,6	166,1	171,3	168,9	176,3	160,8	178,5	165,1	170,8	165,5
	40				164,7	169,8	177,5	165,5	170,5	176,0	175,5	175,7	170,8
pH	25	6,12	6,25	6,25	6,23	6,25	6,35	6,07	6,11	6,12	6,22	6,09	6,12
	40				6,03	6,23	6,01	6,07	6,01	6,13	5,91	5,89	5,79

La formulación resultó ser química y físicamente estable durante al menos tres meses. También resultó ser estable durante al menos 24 horas como suspensión reconstituida.

Ejemplo de referencia 9 - Preparación de una formulación farmacéutica que comprende nanopartículas de melatonina en presencia de lecitina y vitamina E

Para preparar las nanopartículas, la melatonina se disolvió en etanol a una concentración de 25 o 50 mg/ml en presencia de lecitina (Lipoid AG) a una concentración de 50 mg/ml y vitamina E a una concentración de 0,5, 1, 2 o 4 mg/ml.

Durante el proceso de precipitación, las velocidades de flujo de la solución de melatonina y el agua se ajustaron para tener una relación de mezcla de 1:2,5 v/v.

Se usó una presión de gas de 0,2 bar para garantizar la producción de nanopartículas homogéneas. La temperatura del reactor microjet se ajustó a 25-40 °C durante todo el proceso de precipitación.

5 Las muestras se liofilizaron después de la adición de glicina o manitol, como se informó en el Ejemplo de referencia 4, para lograr una concentración final de 50-100 mg/ml del agente crioprotector.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Reivindicaciones

1. Una formulación farmacéutica que comprende un polvo para dispersar en un vehículo acuoso y adecuado para la administración parenteral a neonatos afectados por lesión cerebral, dicho polvo consiste en:
 - i) 20 a 75 % en peso de nanopartículas que consisten en melatonina como ingrediente activo en adición con uno o más fosfolípidos que tienen una pureza igual o superior a 99 % y se seleccionan del grupo que consiste en fosfatidicolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilserinas, fosfatidilinositol y lecitinas, en donde la relación entre la melatonina y el fosfolípido varía entre 90:10 y 20:80 en peso, y
 - ii) 25 a 80 % en peso de una mezcla de manitol y trehalosa como agente crioprotector; en donde al menos uno de dichos fosfolípidos se absorbe en la superficie de la melatonina, y la relación entre el manitol y la trehalosa es de 6:4 a 4:6 en peso.
2. La formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde, tras la dispersión en el vehículo acuoso, la concentración de la melatonina está comprendida entre 1,0 y 20 mg/ml.
3. La formulación farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde el fosfolípido es fosfatidicolina o una mezcla del mismo con lecitina.
4. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende un excipiente adicional que se selecciona del grupo que consiste en tampones de pH y conservantes.
5. Nanopartículas adecuadas para dispersarse en un vehículo acuoso constituido por melatonina como ingrediente activo en mezcla con uno o más fosfolípidos que tienen una pureza igual o superior a 99 % y se seleccionan del grupo que consiste en fosfatidicolinas, fosfatidilgliceroles, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilserinas, fosfatidilinositol y lecitinas, en donde al menos uno de dichos fosfolípidos se absorbe en la superficie de la melatonina, y la relación entre la melatonina y el fosfolípido varía entre 90:10 y 20:80 en peso.
6. Un proceso para la preparación del polvo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende las etapas de:
 - i) disolver la melatonina y uno o más fosfolípidos en un solvente orgánico;
 - ii) generar las nanopartículas mediante precipitación controlada contra agua como anti-solvente usando la tecnología del reactor microjet;
 - iii) añadir el agente crioprotector; y
 - iv) eliminar el solvente orgánico residual y el agua.
7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el solvente orgánico y el agua de la etapa iv) se eliminan mediante liofilización.
8. Las nanopartículas de la reivindicación 5 para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de una enfermedad neonatal.
9. Las nanopartículas para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la enfermedad neonatal es una lesión cerebral hipóxica-isquémica que se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hipóxico-isquémica (HIE), accidente cerebrovascular arterial perinatal (PAS) y leucomalaquia periventricular (PVL).