(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 794 374**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4045 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/34 (2007.01)
A61K 9/08 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.10.2015** **PCT/EP2015/073552**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2016** **WO16058985**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2015** **E 15778670 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2020** **EP 3206665**

(54) Título: **Preparación líquida anhidra de melatonina**

(30) Prioridad:

13.10.2014 IT MI20141781

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.11.2020

(73) Titular/es:

WORPHMED SRL (100.0%)
Via Malachia Marchesi de Taddei 21
20146 Milan, IT

(72) Inventor/es:

VERONESI, PAOLO ALBERTO;
PESCHECHERA, EMANUELA y
VERONESI, SUSANNA

(74) Agente/Representante:

ÁLVAREZ LÓPEZ, Sonia

ES 2 794 374 T3

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

DESCRIPCIÓN

Preparación líquida anhidra de melatonina

La presente invención se refiere al envase farmacéutico e industrial a granel de melatonina, una solución altamente concentrada y versátil de melatonina en una mezcla portadora, sustancialmente libre de agua, de etanol y de un derivado polietoxilado, mezclado en una proporción óptima para doblar el perfil de solubilidad de melatonina. La solución a granel está adecuadamente diseñada para preparar al instante composiciones diluidas de melatonina inyectable y diferentes preparaciones convenientes de melatonina para otras formas de administración a los seres humanos, y también abarca su método de preparación específica. La invención se caracteriza además para producir la solución de alta concentración de melatonina de y superior al 10,0% (p/v) y que la solución diluida de la misma sea adecuada para suministrar desde 0,01 mg/ml hasta 10 mg/ml de melatonina, preferiblemente de 0,1 mg/ml a 5,0 mg/ml, y de 0,1 mg a 1000 mg de melatonina/dosis, preferentemente de 0,5 mg a 10 mg. La solución a granel de la invención no contiene agentes preservadores, es estable, y cuando se requiere para la administración parenteral se fabrica estéril, se hace el llenado en condiciones de GMP, y se conforma a los ensayos de pirógenos de endotoxinas bacterianas. Una dosis efectiva terapéutica de la solución a granel de la invención puede mezclarse a un fluido de perfusión convencional y administrarse mediante perfusión intravenosa constante a los seres humanos para asegurar una meseta de concentración de melatonina utilizada como terapia adyuvante beneficiosa en enfermedades potencialmente mortales como la fiebre hemorrágica del Ébola (FEH) y la fiebre hemorrágica del dengue (FHD), pero también como antioxidante/antienvejecimiento y para mejorar otras enfermedades críticas de la salud en la cuales sea deseable la administración por vía parenteral de melatonina. La invención abarca también soluciones diluidas para aplicaciones orales y tópicas obtenidas de soluciones a granel.

Antecedentes

La melatonina ha fascinado a los investigadores debido a su notable versatilidad funcional y papel protector en varias condiciones fisiopatológicas. De hecho, desempeña un papel central en amplias funciones fisiológicas, como orquestar ritmos circadianos, junto con la regulación de las funciones visuales, cerebrovasculares, reproductivas, neuroendocrinas y neuroinmunológicas. Numerosos estudios han demostrado melatonina para promulgar una multitud de funciones terapéuticas que combaten la sepsis, trastornos neurodegenerativos, diabetes, malfuncionamientos biliares y pancreáticos, hepatotoxicidad, cáncer, inflamación, y estrés oxidativo. Además, también es un potente antioxidante y carroñero de radicales libres. Sin embargo, también sirve para regular los niveles de marcadores oxidativos, estado antioxidante endógeno, y citoquinas proinflamatorias. En los seres humanos, melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina; Número CAS: 73-31-4; $C_{13}H_{18}N_2O_2$; peso molecular: 232.3) es una neurohormona endógena secretada principalmente de la glándula pineal y en menor medida por tejidos pineales adicionales como la retina, la glándulas harderianas y el tracto gastrointestinal. Los aspectos no clínicos de la farmacología (primario, secundario y farmacodinámico de seguridad de melatonina endógena incluyendo estudios *in vitro* e *in vivo*), estudios farmacocinéticos y toxicocinéticos de melatonina exógena en animales están abundantemente disponibles en la literatura publicada y el banco de datos. Mientras que la comprensión actual de la melatonina endógena es sustancial, el papel putativo y mecanismos de melatonina endógena y exógena siguen sin estar claros. Para comprender mejor el alcance de la invención, vale la pena introducir una visión general de los parámetros farmacocinéticos básicos de la sustancia farmacológica melatonina y esbozar su amplio espectro de aplicaciones potenciales e indicaciones clínicas, particularmente por perfusión constante. La melatonina se puede administrar en una variedad de métodos bien conocidos por aquellos en el arte, tales como por vía oral, por vía intravenosa y tópica. Otros usos poco comunes de melatonina se describen en publicaciones recientes como la estimulación local de osteointegración de implantes dentales y prótesis fijadas con cemento óseo.

Melatonina administrada por vía oral.

Cuando la melatonina se administra por vía oral a ratas, perros y monos a 10 mg/kg, la biodisponibilidad absoluta parecía ser moderada en ratas y alta en perros y monos [Yeleswaram et al, 1997][1]. La administración oral a voluntarios humanos de hasta 3 veces 80 mg de melatonina/persona en una hora demostró que el compuesto se absorbe rápidamente y se distribuye por todo el cuerpo humano, la vida media para la primera parte de la fase de distribución bifásica está en el orden de minutos. Los valores más altos de melatonina se midieron en suero, de 60 a 150 minutos después de la administración oral. La eliminación de la molécula parecía ser más lenta que en los roedores, ya que la meseta de concentración duró varias horas. Se encontró que la vida media de la primera parte de la fase de eliminación bifásica era de 20 a 50 minutos [Waldhauser et al, 1984][2]. Cuando se administró por vía oral una dosis más baja de 3

mg de melatonina/voluntario, un aumento de la melatonina sérica dentro de los 20 minutos después de la administración oral, seguido de una rápida disminución en 240 minutos [Shirakawa et al, 1998][3]. Algunos autores [Fourtillan et al, 2000][4] informaron una vida media terminal de 36 a 45 minutos cuando la melatonina se midió en plasma después de la administración oral de una dosis de 250 mg/persona a voluntarios humanos. En la literatura se divulga que las concentraciones máximas de sangre y saliva de melatonina se alcanzaron 60 minutos después de la toma oral de 100 mg de melatonina. La vida media de la molécula en la sangre se determinó como alrededor de 41 minutos [Vakkuri et al, 1985][5]. Cuando se administraron 2 o 4 mg de melatonina/persona a voluntarios humanos, sólo el 15 % de la dosis ingerida realmente alcanzó la circulación sistémica. La mayor parte de la melatonina administrada desaparece a través de la metabolización presistémica [DeMuro et al, 2000][6] y se excreta en la orina como sulfatoxy-melatonina, el principal producto de conjugación de 6-hidroximelatonina. El aclaramiento renal de melatonina sin cambios fue inferior al 1% [Fourtillan et al, 2000][4].

La administración intravenosa de melatonina a la rata ha demostrado resultar en una rápida distribución en plasma y todos los tejidos del animal, incluyendo líquido cefalorraquídeo y cerebro [Kopin et al, 1961; 1988][7][8]. Cuando el principio activo se inyectó a la dosis de 5 mg/kg, la vida media de eliminación aparente mostró ser de 19,8 minutos [Yeleswaram et al, 1997][1]. Cuando la melatonina se administró por vía intravenosa al perro y al mono en 3 mg/kg, la vida media de eliminación aparente se midió entre 18.6 y 33.9 minutos respectivamente [Yeleswaram et al, 1997][1]. Cuando se ha administrado una dosis de 23 µg/persona de melatonina por inyección intravenosa a los seres humanos, se determinó una vida media aparente de 36 a 42 minutos en la circulación sistémica [Fourtillan et al, 2000][4].

La toxicocinética de la melatonina en el hombre después de la administración intravenosa se caracteriza generalmente por una fase de distribución muy corta en el orden de minutos, seguida de una concentración de estado estacionario en los tejidos examinados (suero, sangre, plasma, cerebro, etc.) en el orden de un par de horas, y una eliminación rápida (vida media de unos 40 minutos) después de la metabolización en el hígado [Vitte et al, 1988; Mallo et al, 1990; Le Bars et al, 1991; DeMuro et al, 2000; Fourtillan et al, 2000][8][9][10][6][4]. La principal vía metabólica de la melatonina en el hombre se ha identificado como la hidroxilación de la posición 6, seguida de la conjugación, principalmente con sulfato (70%) y, en menor medida, con ácido glucurónico (6%) [Kopin et al, 1961, Ma et al, 2005] [7] [12]. Se ha observado que la 6-hidroxilación y O-desmetilación de melatonina es principalmente mediada por CYP1A2 [Facciolá et al, 2001; Ma et al, 2005][11][12].

Funciones de la melatonina.

La melatonina tiene varias funciones putativas incluyendo ritmos circadianos del cuerpo, por lo tanto está involucrada en el ciclo sueño-vigilia, funciones de los sistemas inmune y cardiovascular, y la regulación celular [Reiter et al, 2003; Vijayalaxmi et al, 2002][13] [14], regula el eje reproductivo y es un antioxidante natural y potente carroñero de radicales libres [Reiter et al, 2003; Korkmaz et al, 2009; Bonnefont-Rousselot et al, 2010][13][15] [16]. Reducción relacionada con la edad de melatonina se ha correlacionado con la alteración del sueño, deterioro de la salud y enfermedades crónicas relacionadas con el daño oxidativo, incluyendo el cáncer [Megdal et al, 2005; Reiter et al, 2003][17][13]. La revisión histórica [Wettenberg, 1990][18] que trata de melatonina en los seres humanos muestra relaciones heterogéneas entre la melatonina y otros rasgos y evidencia el constante aumento de sus aplicaciones como medicamento que se propone para mitigar las condiciones fisiopatológicas por igual:

- estudios del sueño y ritmos biológicos;

- luz, sensibilidad de la retina en los seres humanos y el eje circadiano;

- estrés quirúrgico, anestesia;

- estudios relacionados con la edad (en el feto humano, en niños, en ancianos y como antioxidante; el biomarcador cíclico 3-hidroximelatonin (3-OHM) y regulador de la glucosa;

- depresión y algunos otros trastornos psiquiátricos (ritmo fragmentado en la esquizofrenia, trastorno obsesivo compulsivo [TOC], síndrome fibromialgico, péptidos relacionados con el apetito en el envejecimiento);

- alteración del sueño en la depresión, tratamiento del jet-lag, protección de la piel contra la radiación ultravioleta.

Sin embargo, durante la última década los investigadores han alentado continuamente estudios que sugieren el uso de melatonina en el manejo de condiciones graves que amenazan la vida. Estudios clínicos

recientes (una selección ya que sería imposible enumerar todos ellos) sugieren además que muchas condiciones fisiopatológicas y trastornos pueden beneficiarse de la administración de melatonina, en ávista de sus potentes efectos antioxidantes, tales como:

- homeostasis de glucosa [Karamitri et al, 2013][19];

- regular las funciones biliares [Glaser et al, 2014][20];

- ejercer funciones importantes sobre la fisiología periférica reproductiva, celular y organismo (maternal, placentaria y fetal) [Reiter et al, 2014][21];

- mejorar la fisiopatología e influencia de la expresión conductual del trastorno autista [Tordjman et al, 2013][22];

- reemplazar la disminución de la secreción para tratar la "desconexión del sol" y otros trastornos del sueño y vigilia típicos de la enfermedad de Alzheimer (Lin et al, 2013; Wade et al, 2014][23][24];

- regular la autofagia y la mitofagía [Coto-Montes et al, 2012][25];

- mejorar los trastornos del sueño de la enfermedad de Parkinson [Suzuki et al, 2011; Downling et al, 2005; Srinivasan et al, 2011][26][27][28];

- mejorar el sueño en los pacientes más ancianos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) [Sterniczuk et al, 2014] [29], mejora el sueño en Schlerosis Múltiple (MS) [Adamczyk-Sowa et al, 2014][30], reducir las alteraciones del sueño en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) [Kinnukan et al, 2013][31].

El creciente interés en melatonina se refleja en el histograma (Figura 1) que indica el número de ensayos clínicos por año que se han registrado en "ClinicalTrials.gov" (un servicio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos) desde 2004 hasta la fecha de descarga en 2014. De hecho, el creciente interés en las terapias de melatonina en ensayos clínicos que se llevan a cabo para la sepsis [Gitto et al, 2001][32], quemaduras [Sahib et al, 2010][33], reperfusión isquémica [Dominguez-Rodriguez et al, 2007][34], pre-quirúrgica [Caumo et al, 2009; Borazan et al, 2010][35] [36], post-quirúrgico [Gitto et al, 2004] [37] y perioperatorio [Jarratt, 2011; Maitra et al, 2013] [38] [39], adyuvante e inmunología de la terapia oncológica y el cáncer [Wang et al, 2012; Seely et al, 2011; Ghielmini et al, 1999; Bennukul et al, 2014; Martin et al, 2013; Carrillo-Vico et al, 2013][40][41][42][43][44][45], preeclampsia [Aversa et al, 2012][46], cataratas y glaucoma [Ismail et al, 2009][47], protección contra la radiación [Berk et al, 2007] [48], hipoxia perinatal y enfermedades neonatales [Ghitto et al, 2013; Alonso-Alconada et al, 2013][49] [50] y en otras terapias inexploradas que requieren de manera similar un régimen de alta dosificación de melatonina, no ha encontrado satisfacción en vista de que un producto farmacéutico conveniente de calidad inyectable todavía no está disponible en el comercio. Con frecuencia se nota que la forma oral de melatonina no es una ruta de administración apropiada o utilizable en condiciones de salud críticas. De hecho, melatonina oral tiene alto metabolismo de primer paso (>85-90%) en el hígado [Lane y Moss, 1985][51], biodisponibilidad humana absoluta baja y variable (promedio 8,6% mujer, 16,8% hombre, rango 1-37%) [Fourtillan et al, 2000] [4] y alta variabilidad de la dosis entre sujetos (curva AUC de sujetos individuales varía hasta 25 veces entre los sujetos) [Waldhauser et al, 1984][2], por lo que la vía de administración constante de perfusión de melatonina a menudo será la única opción viable para la entrega y el control de un régimen de dosificación alta.

Antecedentes de preparaciones inyectables.

Pacientes hospitalizados en unidades de cuidados críticos con sepsis grave o shock séptico, pacientes sometidos a cirugía, casos graves de quemaduras y exposición a la radiación, pacientes sometidos a terapias oncológicas, recién nacidos con enfermedades perinatales o neonatales, y en general pacientes en condiciones críticas de salud pueden no son capaces de ingerir melatonina por vía oral. Una persona experta reconocerá razonablemente que la infusión intravenosa de melatonina representaría la vía única y más conveniente para tratar los pacientes afectadas por enfermedades potencialmente mortales, donde se requieren dosis urgentes, adecuadas (masivas), precisas y constantes de melatonina. Por lo tanto, una persona cualificada debe reconocer además que existe una necesidad objetiva y urgente de proporcionar a los médicos melatonina parenteral farmacéutica para tratar esas condiciones y extender su uso a otros campos inexplorados del medicamento. Condiciones de salud críticas ejemplares en los seres humanos que se beneficiarían sustancialmente de una infusión de régimen de alta dosis de melatonina inyectable son:

Sepsis

Alrededor de 37.000 personas mueren por sepsis en el Reino Unido cada año, mientras que la sepsis severa golpea a unos 750.000 estadounidenses, y hasta 8 millones cada año en todo el mundo. Se ha estimado que entre el 28 y el 50 por ciento de estas personas mueren, mucho más que el número de muertes en Estados Unidos por cáncer de próstata, cáncer de mama y SIDA combinados. El número de casos de sepsis por año ha ido en aumento en los Estados Unidos. Aunque la Campaña de Sepsis Sobreviviente (un esfuerzo de mejora del desempeño por parte de hospitales de Europa, América del Sur y Estados Unidos) ha mejorado los resultados, la tasa de mortalidad sigue siendo del 31% en general, y >70% en pacientes que desarrollan fallo orgánico múltiple inducida por sepsis. Cualquier persona puede tener sepsis, pero las personas con sistemas inmunitarios debilitados, niños, bebés, por lo que frecuentes son pacientes pediátricos de casos intensivos con sepsis [Bagci et al, 2012] [52] y los ancianos son los más vulnerables, por lo que la sepsis es uno de los casos más comunes de muerte en unidades de cuidados intensivos [Moroni et al, 2010; Alan et al, 2010; Srinivasan et al, 2012][53][54][55]. Las personas con enfermedades crónicas, como diabetes, SIDA, cáncer y enfermedad renal o hepática, también corren un mayor riesgo, al igual que aquellas que han sufrido una quemadura grave o un trauma físico. Ha sido reconocido por los principales médicos que los antioxidantes exógenos pueden ser útiles en la sepsis y más recientemente se ha destacado el potencial de antioxidantes que actúan específicamente en las mitocondrias. En vista de los hallazgos anteriores, un grupo de autores [Galley et al, 2014] [56] indicó la melatonina como una terapia potencial para la sepsis y recientemente emprendió un estudio de escalamiento de dosis de fase I en voluntarios sanos para evaluar la tolerabilidad y la farmacocinética de 20, 30, 50, y 100 dosis orales de mg de cápsulas de melatonina. Para el ensayo de fase I, melatonina oral se administró a cinco sujetos en cada cohorte de dosis (n 20). La melatonina se limpió rápidamente en todas las dosis con una vida mediana (rango) de eliminación de 51.7 (29.5-63.2) minutos en el caso de todas las dosis. Sin embargo, hubo una variabilidad considerable en los niveles máximos de melatonina dentro de cada cohorte de dosis. Teniendo en cuenta de la alta variabilidad entre los niveles de dosis obtenidos tras la administración oral de cápsulas fabricadas a partir de melatonina sintetizada químicamente (dosis mg/AUC ng/ml/min a 20 mg: 1102-13616; 30 mg: 822-2491; 50 mg: 1812-8915; 100 mg: 4458-18229) una persona capacitada puede concluir razonablemente que una perfusión de melatonina resultaría en el método de administración más fiable para estudios sucesivos sobre la sepsis con el fin de asegurar en todos los pacientes el régimen de dosis efectiva terapéutica requerida, especialmente en la población pediátrica o recién nacidos.

Accidente cerebrovascular

Cada año, aproximadamente 795.000 personas sufren un derrame cerebral en los Estados Unidos. Alrededor de 600.000 de estos son los primeros ataques, y 185.000 son ataques recurrentes. Más de 140.000 personas mueren cada año a causa de un accidente cerebrovascular y es la tercera causa de muerte. Sin embargo, el accidente cerebrovascular es la principal causa de discapacidad grave a largo plazo. Esas cifras pueden ampliarse en todo el mundo con una cierta aproximación a otros países. Un documento de revisión [Shinozuka et al, 2013][57] apoya el enfoque para entregar melatonina y para apuntar a los receptores de melatonina para la neuroprotección en accidente cerebrovascular. Un número de estudios han reportado uniformemente el papel importante de la melatonina en la neuroprotección en modelos animales de accidente cerebrovascular. El accidente cerebrovascular inducido experimentalmente se exacerba en ratas pinealectomizadas [Manev et al, 1996; Kilic et al, 1999][58] [59]. La administración de melatonina después de un accidente cerebrovascular experimental reduce el volumen de infarto [Pei et al, 2003; Sinha et al, 2001][60][61]. Tal efecto protector se ve tanto en materia gris como blanca [Lee et al, 2005][62]. La melatonina también reduce la respuesta inflamatoria [Lee et al, 2007][63], la formación de edema cerebral [Kondoh el al, 2009][64], y la permeabilidad de la barrera hematoencefálica [Chen et al, 2006][65]. Funcionalmente, la administración de melatonina mejora la fuerza de agarre y la coordinación motora, y atenúa la hiperactividad y la ansiedad [Kilic et al, 2008][66]. Se conoce que la secreción de melatonina disminuye en forma edad dependiente [Brzezinski, 1997][67], lo que sugiere que si la melatonina afecta directamente el accidente cerebro-vascular, entonces las personas envejecidas deben sufrir más fuertemente de insultos de accidente cerebrovascular. Esto también puede ser mejorado con un pretratamiento de melatonina. Estudios en modelos animales de accidente cerebrovascular han demostrado que el pretratamiento de melatonina ejerce efectos antiinflamatorios y reduce el volumen de infarto [Pei et al, 2002; Pei et al, 2002][68][69]. Numerosos estudios han documentado la neuroprotección inducida por melatonina contra el accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico [Borlongan et al, 2000; Reiter et al, 2005][70][71]. Además, los autores describen un novedoso mecanismo de acción subyacente a los beneficios terapéuticos de la terapia con células madre en el accidente cerebrovascular, implicando el papel de los receptores de melatonina. Experimentos justifican consideración para revelar una estrategia óptima de tratamiento de melatonina que es seguro y eficaz para la aplicación humana. La neuroprotección se

logrará en un accidente cerebrovascular con un régimen de dosificación más alto de melatonina que se puede obtener de forma rápida y conveniente por vía intravenosa mediante perfusión.

Perioperative

La melatonina tiene algunas propiedades únicas que son altamente deseables en el cuidado preoperatorio de rutina por lo que se ha definido un nuevo armamento del anestesiólogo. Los datos clínicos disponibles muestran que la melatonina preoperatoria es tan eficaz como las benzodiacepinas en la reducción de la ansiedad preoperatoria con una acción mínima sobre el rendimiento psicomotor y el ciclo de vigilia y sueño. Se puede considerar como una alternativa segura y eficaz de las benzodiacepinas como ansiolítico preoperatorio. Puede tener un efecto de preservación de opioides, puede reducir la presión intraocular y desempeñar un papel en la prevención del delirio postoperatorio [Generali et al, 2013][72]. La administración a corto plazo de melatonina está libre de efectos adversos significativos también [Maitra et al, 2013][39]. Sin embargo, los efectos analgésicos de la melatonina también se han evidenciado en las clínicas [Wilhelmsen et al, 2011; Azevedo de Zanette et al, 2014][73] [74]. Parece que los pacientes en suplemento de melatonina deben seguir tomándolos preoperatoriamente porque puede haber beneficios [Jarratt, 2011][38]. También se ha observado que la melatonina causa anestesia por lo que es una herramienta adecuada para los pacientes en cuidado intensivo [Kurdi et al, 2013; Moroni et al, 2010; Alan et al, 2010][75][53][54].

Diálisis

Los trastornos del sueño son comunes en pacientes con enfermedad renal en diálisis debido a una alteración en sus relojes biológicos y las quejas del sueño son comunes en una unidad de diálisis. En una encuesta, los pacientes con diálisis reportaron trastornos del sueño (pacientes en hemodiálisis crónica/HD y diálisis peritoneal continua/dp) en aproximadamente el 52%. Los pacientes reportaron problemas para conciliar el sueño [Holley et al, 1992][76]. En otra encuesta, alrededor del 83% de los pacientes informaron quejas por sueño-vigilia: sueño perturbado (51,8%) secundario al retraso en el inicio del sueño (46,5%), despertar nocturno frecuente (35,2%), síndrome de piernas inquietas y generalizada (33,3% y 11,1% respectivamente), 72% admitido a la mañana temprano despertar y somnolencia diurna (66,7%) [Walker et al, 1995] [77]. Otra publicación confirmó trastornos del sueño similares en pacientes con HD y DP [Masaumi et al, 2013][78]. En una publicación anterior algunos autores observaron los efectos de la hemodiálisis nocturna en el ritmo de melatonina (medido en saliva) y el comportamiento sueño-vigilia (Koch et al, 2009][79]. en un artículo reciente setenta pacientes de diálisis recibieron melatonina o un placebo durante un año. A los tres meses, el efecto beneficioso mostrado previamente del uso a corto plazo de melatonina en el inicio del sueño fue confirmado. Los investigadores [Russcher et al, 2012] [80] también observaron una mejoría de la eficiencia del sueño y el tiempo de sueño. Por el contrario, a los 12 meses ninguno de los parámetros de sueño medidos difería significativamente del placebo. Sin embargo, los investigadores observaron que los beneficios de la melatonina en el sueño persisten a largo plazo, y que el uso a largo plazo de melatonina podría mejorar la calidad de vida de los pacientes. Las últimas publicaciones también subrayaron la necesidad de evaluar si la administración exógena de melatonina puede mejorar los trastornos del sueño múltiples en pacientes con ESRD (enfermedad renal terminal) [Sharma, 2013][81] y que se necesitan grandes ensayos controlados aleatorios para establecer su papel en la población de pacientes en diálisis [Aperis et al, 2012][82]. En otro ensayo clínico cruzado aleatorizado, doble ciego cruzado la eficacia de la melatonina frente a placebo se probó en el paciente en la HD diurna convencional. Los 82 pacientes inscritos recibieron dosis de melatonina exógena establecidas en un comprimido a la hora de acostarse (3 mg comprimido) [Edalat-Nejad et al, 2013][83]. El estudio sugirió que la melatonina emerge como una terapia segura para mejorar la calidad del sueño (CS) en pacientes con HD. Por lo tanto, en vista de la alta varianza en la absorción de dosis orales, una persona experta podría entender fácilmente los beneficios y ventajas derivadas de una solución de melatonina de administración parenteral conveniente mezclada al líquido de reemplazo durante la diálisis.

Carcinogénesis pancreática

El cáncer de páncreas tiene pronóstico fatal debido a la ausencia de síntomas tempranos, diagnóstico tardío y resistencia a la radio y la quimioterapia. Una revisión reciente [Jaworek et al, 2014] [84] se refiere que en la línea celular de carcinoma pancreático (PANC-1) melatonina utilizada en dosis altas afecta el equilibrio de proteínas Bax/Bcl, y estimula las expresiones de caspasa-9 y caspasa-3, activando así la vía mitocondrial de la apoptosis. La melatonina reduce la angiogénesis y disminuye la proliferación de células endoteliales a través de la inhibición del factor endotelial vascular (VEGF). En estudios con animales melatonina se ha encontrado para aumentar la eficacia de los medicamentos oncostáticos, para reducir los efectos secundarios de la quimioterapia y para disminuir la morbilidad. Estas observaciones sugieren que la melatonina en dosis altas podría ser potencialmente tomada en consideración como el tratamiento de apoyo

en la terapia de cáncer de páncreas, Aunque el efecto de la melatonina en la apoptosis requiere más estudio.

Mordedura de serpiente

Los resultados demostraron que la melatonina alivió eficientemente Echis carinatus (EC) hemorragia inducida por veneno y mionecrosis. También ha mitigado los niveles alterados de mediadores inflamatorios y marcadores de estrés oxidativo de los componentes sanguíneos y en el hígado y los riñones homogenados, acción renal y hepatoprotectora documentada de melatonina. La histopatología de la piel, músculo, hígado y los tejidos renales corroboraron aún más la protección general ofrecida por la melatonina contra lo efectos tóxicos de la mordedura de víbora. La incapacidad de los antivenenos para bloquear los efectos locales y el hecho de que la melatonina ya es un fármaco ampliamente utilizado promulgando una multitud de funcionalidades terapéuticas, su uso en la gestión de la mordedura de víbora es de alto interés y debe ser considerado seriamente [Katkar el al, 2014][85]. Por último, a pesar del uso de melatonina parenteral en otras enfermedades y condiciones potencialmente mortales aún no han sido descritos en la literatura, los autores creen que también los pacientes afectados por otras condiciones patológicas graves como la enfermedad del virus del Ébola y la fiebre hemorrágica del Ébola (FHE), el Dengue y el Dengue grave podrían aliviarse sustancialmente y beneficiarse de la administración intravenosa de un régimen de dosificación alta de melatonina parenteral. Los autores describen brevemente esas condiciones patológicas y los resultados preliminares de estudios abiertos incontrolados en voluntarios.

Ébola (EVE) y fiebre hemorrágica del Ébola (FHE)

La enfermedad por el virus del Ébola (EVE), anteriormente conocida como fiebre hemorrágica del Ébola (FHE), es una enfermedad grave, a menudo mortal en humanos. Los brotes de EVE tienen una tasa de letalidad de hasta el 90%, especialmente en personas de edad. El virus se transmite a personas de animales salvajes y se propaga en la población humana a través de la transmisión de persona a persona. Los murciélagos frutales de la familia Pteropodidae son considerados el huésped natural del virus del Ébola. El período de incubación en humanos, es decir, el intervalo de tiempo desde la infección con el virus hasta la aparición de los síntomas, es de 2 a 21 días. Todas las personas infectadas muestran cierta extensión de coagulopatía y sintomatología del sistema circulatorio deteriorada. El sangrado de las membranas mucosas y los sitios de punción se notifica en el 40-50% de los casos, mientras que las erupciones maculopapulares son evidentes en aproximadamente el 50% de los casos. Las fuentes de sangrado incluyen hematemesis, hemoptisis, melena y sangrado mencionado por las membranas mucosas (tracto gastrointestinal, nariz, vagina y gingiva). Sin embargo, sangrado difuso (es decir, abundante) es poco frecuente; ocurrencia es generalmente exclusiva del tracto gastrointestinal. En general, el desarrollo de síntomas hemorrágicos es indicativo de un pronóstico negativo. Sin embargo, contrariamente a la creencia popular, la hemorragia no conduce a hipovolemia y no es la causa de la muerte (la pérdida total de sangre es baja excepto durante el trabajo de parto). En cambio, la muerte ocurre debido al síndrome de disfunción múltiorgánica (SDMO) debido a la redistribución de líquidos, hipotensión, coagulación intravascular diseminada y necrosis de tejido focal. Los pacientes gravemente enfermos requieren cuidados intensivos de apoyo. No se dispone de un tratamiento o vacuna específico sin licencia para su uso en personas o animales. Hoy en día hay una verdadera emergencia en varios países de África Occidental donde los brotes no están bajo el control de las autoridades sanitarias locales. No existe un tratamiento o una vacuna específicos para la fiebre del Ébola. [OMS/Centro de medios: enfermedad del virus del Ébola/hoja informativa n. 103/abril de 2014]. Los autores observaron que las complicaciones hemorrágicas (hematemesis, hemoptisis, melena, sangrado de membranas mucosas del tracto gastrointestinal, nariz, vagina y encías) podrían beneficiarse sustancialmente de un tratamiento coadyuvante con una cantidad terapéuticamente eficaz de melatonina intravenosa, factible con la solución a granel de la invención que hacen posible un régimen de dosificación tan alta. Las pruebas compasivas realizadas en algunos pacientes admitidos en un estudio abierto mostraron algunos resultados favorables y prometedores en relación con el beneficio obtenido a la condición general por la solución concentrada de la invención diluida en un fluido salino, resultados preliminares que deben confirmarse en un estudio más supervisado.

Dengue y Dengue grave (fiebre hemorrágica por dengue/FHD)

La incidencia del Dengue ha crecido dramáticamente en todo el mundo en las últimas décadas. Más de 2.500 millones de personas (más del 40% de la población mundial) están ahora en riesgo de contraer el dengue. Hay más de 100 millones de nuevos casos de fiebre del dengue cada año en todo el mundo. Los casos en las Américas, Asia sudoriental y el Pacífico occidental han superado los 1,2 millones de casos en 2008 y más de 2,3 millones en 2010 (según datos oficiales presentados por los Estados Miembros). Recientemente, el número de casos notificados ha seguido aumentando. En 2013, se notificaron 2,35 millones de casos de dengue sólo en las Américas, de los cuales 37.687 casos fueron graves de dengue.

Se estima que 500.000 personas con dengue grave requieren hospitalización cada año, una gran proporción de las cuales son niños. Alrededor del 2,5% de los afectados mueren. La amenaza de un posible brote de Dengue existe ahora en Europa y la transmisión local del dengue se notificó por primera vez en Francia y Croacia en 2010 y se detectaron casos importados en otros tres países europeos. En 2012, un brote de dengue en las islas Madeira de Portugal dio lugar a más de 2000 casos y se detectaron casos importados en otros 10 países de Europa. En 2013, se han producido casos en Florida (Estados Unidos de América) y en la provincia china de Yunnan. El Dengue es una enfermedad grave similar a la gripe que afecta a bebés, niños pequeños y adultos, pero rara vez causa la muerte. Se debe sospechar que el Dengue cuando una fiebre alta (40°C/ 104°F) va acompañada de dos de los siguientes síntomas: dolor de cabeza intenso, dolor detrás de los ojos, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos, inflamación de las glándulas o erupción cutánea, equimosis y petequias. Los síntomas generalmente duran 2-7 días, después de un período de incubación de 4-10 días después de la picadura de un mosquito infectado. El Dengue grave es una complicación potencialmente mortal debido a fugas de plasma, acumulación de líquido, dificultad respiratoria, sangrado severo, deterioro de órganos. Los signos de advertencia se producen 3-7 días después de los primeros síntomas junto con una disminución de la temperatura (por debajo de 38°C/100°F) e incluyen: dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, respiración rápida, sangrado de las encías, fatiga, inquietud, sangre en el vómito. Las próximas 24-48 horas de la etapa crítica pueden ser letales; atención médica adecuada para evitar complicaciones y riesgo de muerte. No existe un tratamiento específico para la fiebre del Dengue [OMS/Centro de medios de comunicación: Dengue y hoja grave de dengue/hechos n. 117/marzo de 2014; MedlinePlus-NIH/Instituto Nacional de Salud-EE.UU./Octubre 2012]. Los autores observaron que el Dengue y el Dengue grave, además de la transfusión de sangre fresca o plaquetas para corregir los problemas de sangrado, podrían beneficiarse sustancialmente de una infusión terapéuticamente eficaz de melatonina intravenosa a un régimen de dosificación alta, factible con la solución a granel de melatonina de la invención instantánea.

Antecedentes y estado de la técnica

A pesar de la necesidad urgente, líderes de opinión médica, médicos clínicos y personal asignado a unidades de cuidados intensivos no puede permitirse preparaciones parenterales de melatonina inyectable, ya que actualmente no hay ninguna forma de dosificación intravenosa (IV) disponible comercialmente de melatonina. De hecho, melatonina presenta muchos aspectos fisicoquímicos cruciales que se considerarán bien al intentar preparar una composición inyectable de melatonina, como se informó en las publicaciones que tratan de este desafío técnico. De hecho, hay importantes desafíos técnicos a superar mediante la formulación de una composición de melatonina para ser entregado por vía intravenosa. A pesar de varios estudios clínicos y patentes mencionan la posibilidad de usar melatonina por vía intravenosa, la posibilidad de desarrollar formulaciones a altas concentraciones de melatonina todavía está sin resolver ya que no hay procedimiento utilizado para la preparación de dosis altas si la melatonina, como por ejemplo en una concentración del 10%, se ha descrito en la literatura. La melatonina es ligeramente soluble en agua (1,2-2,4 mg/ml) [Shida et al, 1994; Kandimalla et al, 1999][86][87], es sensible a la luz [Andrisano et al, 2000][88], e inestable en solución acuosa [Daya et *al,* 2001][89]. Muchos estudios han intentado mejorar la solubilidad de la melatonina incluyendo la estabilidad [Día y otros, 2003; Lee et al, 1997; Lee et al, 1998][90] [91] [92] pero sin resultados significativos. Por lo tanto, la posibilidad de preparar una solución estable con una alta concentración de melatonina en el agua se ve remota y casi imposible. Sin embargo, hay evidencia de que la solución de melatonina pierde gradualmente potencia en todos los valores de pH y no es estable cuando se expone a la luz u oxígeno. Algunos autores [Daya et al, 2001][89] estudiaron la estabilidad de las soluciones de melatonina en un amplio rango de pH (1,2-12) a temperatura ambiente y a 37ºC durante un período de 21 días y encontraron que de los días 3 a 21 hubo una disminución gradual de la potencia de la melatonina en toda esta gama de pHs, con una disminución no superior al 30%. Los resultados del estudio indicaron que las soluciones de melatonina son relativamente estables a temperatura ambiente (20oC) y a 37ºC durante al menos 2 días. Se preparó una solución acuosa estéril de melatonina a diversas concentraciones (1,0-113,0 microgramos/ml) en viales de vacío de vidrio sin pirógenos y se almacenó a temperatura ambiente, 4ºC, y a -70ºC durante un máximo de 6 meses [Cavallo et al, 1995][93]. Se encontró que la vida útil de la melatonina era de aproximadamente 5 meses a temperatura ambiente. Los productos de fotodegradación de melatonina fueron identificados como 6-hidroximelatonin (6-OHM) y N1- acetil N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) y los caracterizaron por NMR, FTIR y espectros de masa identificados [Andrisano et al, 2000][88]. Ambos de estos compuestos también se producen endógenamente en el cuerpo como productos de metabolismo hepático normal y barrido radical, y no se consideran tóxicos. Por lo tanto, muchos otros factores técnicos se deben considerar cuidadosamente al diseñar una solución estable de melatonina, especialmente cuando se desea una alta concentración de melatonina y cuando adicionalmente la solución está destinada a la administración parenteral o intravenosa a los seres humanos.

Otras dos formulaciones intravenosas diferentes (IV) para melatonina a una concentración de 5 mg/ml (0,5%) han sido reportadas en el estado de la técnica. La solubilidad de la melatonina en la solución de propilenglicol (PG) aumenta lentamente hasta 40% PG y luego aumenta abruptamente. Solubilidad de la melatonina aumentó en forma linear con la concentración de 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (2-HPBCD/CAS 128446-35-5) sin aumento en PG. Solubilidad de melatonina en mezclas de PG y 2-HPBCD también aumentó la linealidad, pero fue menor que la suma de su solubilidad en 2-HPBCD y PG individualmente. También se encontró que la mezcla más alta de PG en 40% v/v y 2-HPBCD al 30% w/v tenía solubilidad comparable a los otros vehículos a concentraciones mucho más altas, y tenía eficiencia de solubilización de melatonina [Lee *et al,* 1997][91]. La melatonina en 10% PG se degradó 85 veces más rápidamente que en solución acuosa sin PG a -70°C. Por otro lado, la constante de la tasa de degradación de melatonina en 2-HPBCD no se modificó significativamente en comparación con el agua. Ninguna de estas soluciones da una respuesta satisfactoria a la necesidad de disponer de soluciones concentradas de melatonina para uso parental, ofreciendo garantías de estabilidad adecuada en solución acuosa.

EP0835652 (también publicado como US 5,939,084) describe composiciones que contienen melatonina para uso farmacéutico y cosmético, en soluciones acuosas de PEG a diferentes concentraciones. Sin embargo, el enfoque propuesto no está exento de contraindicaciones, ya que la melatonina así formulada no era estable ni en términos cuantitativos, con pérdida de contenido, o en términos cualitativos, con el desarrollo de productos de degradación. Además, debido a la presencia de isopreno glicol, butilenglicol o propilenglicol en la composición, la osmolalidad de las soluciones presentadas no tienen un nivel aceptable de osmolalidad para una aplicación inyectable o una administración oral y rectal. Sin embargo, esta patente indica que la composición de un glicol y melatonina será una fase acuosa sustancialmente libre de etanol, es decir, que no comprenderá etanol o trazas de etanol insuficientes para disolver o mejorar la solubilidad de la melatonina (reclamación 1).

EP1174134 describe una composición farmacéutica o dietética para el tratamiento del infarto cerebral. Dicha composición farmacéutica se administra por vía oral, con el fin de reducir los efectos del infarto. Sin embargo, este tipo de administración presenta una serie de límites, ya que se obtienen modestas concentraciones sanguíneas de melatonina debido a su rápido metabolismo hepático. En consecuencia, niveles bajos del medicamento son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica y llegar a las áreas cerebrales dañadas. Además, debido a su baja solubilidad, una parte significativa de la dosis administrada a través de la vía oral se ingiere sin disolver en saliva y es responsable de la biodisponibilidad baja y variable de melatonina a través de la vía gastrointestinal. La evidencia informó que los pacientes con convulsiones de origen diverso muestran una alteración del ritmo de melatonina y es de apoyo a su uso, también para esta aplicación.

En otra evaluación clínica a pequeña escala se ha encontrado que la administración intravenosa (IV) de melatonina es apropiada en accidente cerebrovascular agudo [Cheung et al, 2006][94]. En el estudio preliminar farmacocinético y de seguridad, melatonina disuelta en propilenglicol se evaluó en ratas macho adultas Sprague-Dawley, por lo que se concluyó que la melatonina en propilenglicol eleva los niveles plasmáticos de melatonina sin toxicidad grave y que la preparación debe evaluarse más a fondo en pacientes humanos.

La publicación de la patente WO 2012/156565 describe una composición inyectable farmacéuticamente aceptable que comprende agua, propilenglicol (PPG) y melatonina, un derivado, una sal, un pro-droga o un solvato de la misma, que no contiene ningún otro disolvente, co-solvente o agente dispersante. La composición se utiliza como preparación inyectable como por ejemplo para la administración intravenosa. La composición reivindicada es una mezcla de agua (del 50% al 95%) y propilenglicol (PPG) (del 5% al 50%). El porcentaje de PPG puede variar del 10% y 30% del volumen total de la composición, mientras que la concentración adecuada comprende entre 20 y 30%, mientras que la preferida contiene alrededor del 25% del propilenglicol. La concentración de melatonina en la mezcla de agua/PPG es variable de 5 a 50 mg/ml; las concentraciones adecuadas son entre 7 y 20 mg/ml, y la preferida contiene aproximadamente 10 mg de melatonina/ml de composición (composición expresada como %: melatonina 1,0%; PPG 25%, por ejemplo, 250 mg PPG/ml). Ejemplo de indicar que los viales se esterilizan mediante autoclave (121°C durante 20 minutos). La estabilidad de los viales del ejemplo (solución de melatonina 1,0%) se ha probado durante 14 semanas, y la solución almacenada a 4°C presenta una pequeña cristalización de la solución.

La reciente publicación de patentes WO 2013/068565 describe un polvo para la reconstitución antes de su uso como preparación para la inyección que contiene melatonina para el tratamiento del infarto cerebral neonatal. Según estos autores, la invención se logra mediante un polvo para la reconstitución disuelto en una mezcla de agua y polialquileno glicol (PEG) en la que el polialquileno glicol está presente en una cantidad del 5 al 40% del volumen total, preferiblemente en una cantidad del 10% al 30%, como para

obtener una preparación inyectable en forma de una solución contenedora de melatonina. Composición de melatonina de ejemplos de 2 a 13 describen que la melatonina se mezcla en proporción diferente con Tween 80® y/o Poloxamer 188® y/o lactosa y/o leucina y/o glicina y/o manitol. El secador de pulverización operado a la temperatura de entrada de 150°C permite producir partículas de polvo sólido de melatonina con ciertos valores de diámetro medio (límites). La concentración alcanzada con 1 ml de la preparación de la formulación del ejemplo 10 son: 10,2 mg/ml de melatonina (1,02%), 800 mg/ml PEG-400 (80,0%) y 200 mg de agua (20,0%). Los autores no mencionan cómo se esterilizan las partículas de polvo y cómo se obtiene una preparación inyectable libre de endotoxinas y sin pirógenos. La solicitud de patente describe además que, para obtener una forma farmacéutica de melatonina que pueda utilizarse en el tratamiento del infarto cerebral y, en particular, en el infarto cerebral neonatal, la concentración de melatonina en forma farmacéutica debe ser de 2 mg/ml a 20 mg/ml (de 0,2 a 2,0%), preferiblemente de 5 mg/ml a 15 mg/ml (de 0,5 a 1,5%) y más preferiblemente de 8 mg/ml a 12 mg/ml (de 0,8 a 1,2%), siendo la solución también adecuada para su uso en el tratamiento o prevención de la asfixia perinatal, infarto cerebral neonatal, tratamiento de trastornos del sueño en pacientes pediátricos, tratamiento de trastornos del sueño en trastornos del espectro autista (TEA) y para su uso en preanestesia. Definitivamente, todos los usos del estado de la técnica para disolver melatonina esencialmente un sistema binario (agua y PEG), y a falta de cualquier criterio racional o estrategia, otros ingredientes también se añaden ocasionalmente, principalmente tensioactivos (Tween 80®, Poloxamer 188®, lecitina u otros por igual), para producir emulsiones, pero sin aumentar las concentraciones de melatonina, permaneciendo así sin resolver las otras desventajas técnicas. De hecho, al almacenar las soluciones del estado de la técnica a baja temperatura (por ejemplo, 4°C), con el objetivo de prolongar su estabilidad química, los ingredientes pueden recristalizarse parcialmente con una opalescencia o incluso con precipitaciones, añadiendo el riesgo de pérdida de ensayo de sustancias farmacéuticas activas y también de administrar al paciente una solución intravenosa que contenga partículas suspendidas.

En vista de los resultados anteriores hay una evidencia técnica de que los numerosos intentos revelados en el estado de la técnica para proporcionar una solución farmacéutica estable y conveniente con alta concentración de melatonina han fallado, ha sido insuficiente o inadecuada para producir una composición convenientemente estable que contiene una alta concentración de melatonina adecuada para la administración parenteral.

Definiciones

A menos que se diga lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento generalmente tienen el mismo significado común entendido por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Definiciones más específicas se proporcionan a continuación a fin de aclararlas.

Como se usa en el presente documento "Solución a granel" o "envase farmacéutico a granel" está destinado a ser soluciones concentradas según la monografía "Inyecciones/definiciones"de USP y monografía actuales "Preparaciones parenterales/Concentrados para inyecciones o infusiones" en la página 787 del vol. I de la Farmacopea Europea 8.0 y en las publicaciones "Producción y procesos del manual de fabricación farmacéutica" de Sayne Cox Gad, Wiley-Interscience, 2008 Publicado por John Wiley & Sons, inc. y "Cálculos farmacéuticos y clínicos", 2.ª edición, por Khan M.A. y Reddy I.K., editor CRC Press LLC, Capítulo 5 "Cálculo que involucra líquidos orales / Cálculos asociados con preparaciones a granel ", páginas 97-98/390, y" Remington: La ciencia y la práctica de la farmacia " Vigésimo Edición, 2000, Capítulo 11, página 117 Editor Gennaro AR et al.

Una solución a granel o envase farmacéutico o industrial a granel, es un recipiente de una preparación estéril para uso parenteral que contiene muchas dosis únicas. Los contenidos están destinados a ser utilizados en un programa de mezcla de farmacia y están restringidos a la preparación de mezclas para perfusión o, a través de una división de transferencia estéril, para el llenado de jeringas estériles vacías de otros envases unitarios o multidosis. Una solución a granel no puede utilizarse directamente como medicamento, pero debe diluirse aún más por un artesano cualificado o un profesional para producir la solución o la composición para su uso real. Los fabricantes y envasadores de envases a granel de medicamentos recetados no tienen generalmente que utilizar envases especiales, ya que la solución a granel también puede ser diluida y reenvasada por los farmacéuticos o profesionales de la salud, la industria farmacéutica con licencia o por personal calificado en clínicas u hospitales.

A veces será beneficioso hacer una solución a granel de ciertos medicamentos que se pueden preparar a granel para ser dispensado más tarde o para ser utilizado como soluciones de stock para preparar más medicamentos. Una solución a granel suele ser una solución a mayor concentración, a veces en la mayor medida posible. Se puede diluir más adelante para hacer otras soluciones diluidas destinadas a presentar

ventajas técnicas especiales (manipulación, estabilidad, economía y otras), que podrían utilizarse para producir soluciones más diluidas. Por lo tanto, la definición de solución concentrada o envase farmacéutico o industrial a granel se puede utilizar indiferentemente.

Como se utiliza en el presente documento, por lo tanto, el término "Solución Diluida" está destinado a incluir aquellas soluciones intermedias o finales que se pueden obtener de forma rápida y práctica de dicha solución a granel (como se definió anteriormente) convenientemente diluidas con uno o más fluidos inertes para concentración más baja, como también se sugiere en los casos ejemplares de las publicaciones antes citadas. Las soluciones diluidas también se pueden lograr mezclando a mano una solución a granel en un diluyente que no contiene algún ingrediente activo o a otra solución que contenga otro principio activo.

Como se utiliza en el presente documento**,** el término "preparaciones parenterales", incluyendo así soluciones parenterales, como también se define en La Farmacopea Internacional, 4.a Edición 3.a 2006, Suplemento, 2013, Organización Mundial de la Salud, está destinado a ser estéril, líquidos libres de pirógenos (soluciones, emulsiones o suspensiones) o formas de dosificación que contienen uno o más ingredientes activos, envasados en dosis únicas o en dosis múltiples. Hay cuatro formas principales de preparaciones parenterales: inyecciones, infusiones intravenosas (parenterales de gran volumen), polvos para inyecciones e implantes. Ciertas inyecciones e infusiones intravenosas pueden presentarse en forma de soluciones concentradas estériles, que deben diluirse adecuadamente antes de su uso. Los preparados parenterales cumplen con el párrafo 3.2 Prueba de esterilidad. Todas las perfusiones intravenosas y aquellas inyecciones en las que el volumen a inyectar en una sola dosis sea de 15 ml o más deberán cumplir lo dispuesto en el apartado 3.4 Ensayo para las endotoxinas bacterianas o, cuando esté justificado, con el apartado 3.5 De prueba de pirógenos.

Tal como se utiliza en el presente documento, «Melatonina» (acrónimo de identificación: MLT) debe ser el principio activo que se ajuste a las especificaciones y métodos analíticos de la monografía "Melatonina" en la página 1534 de la Farmacopea USP 36/NF 31 de los Estados Unidos, Oficial a partir del 1 de mayo de 2013, con un contenido prescrito no inferior al 98,5% y no superior al 101,5% de $C_{13}H_{16}N_2O_2$ calculado sobre la base seca, y también conforme a la monografía "Melatonina" publicada en La Farmacopea Británica 2012, con un contenido no inferior al 98,0% y no superior al 102,0% de $C_{13}H_{16}N_2O_2$ calculado sobre la base seca. Más particularmente, como se utiliza en el presente documento, el término "Melatonina Extra-Pure" (acrónimo de identificación: MLTEP) está destinado a incluir la sustancia activa farmacéutica totalmente conforme a las especificaciones y métodos analíticos de las monografías mencionadas anteriormente "Melatonina" pero con un contenido de pureza mucho más estricto no menos de 99.0% y no más de 101.0% de $C_{13}H_{16}N_2O_2$ calculado sobre la base seca.

Tal como se utiliza en el presente documento "Etanol anhidro" (también mal conocido como Etanol absoluto o deshidratado que a 20°C no es inferior al 99,5% de volumen/volumen o 199° grados proof) está destinado a ser el producto identificado en la monografía 04/2014:1318 de European Pharmacopoeia (EP) Suplemento 04/2014, armonización farmacopea (véase el capítulo 5.8 Armonización farmacopea del PE actual). Por lo tanto, la calidad anhidra de etanol, como se pretende en la invención actual, cumple o supera las especificaciones actuales EP/BP/USP/JP, y además es estéril.

Tal como se utiliza en el presente documento "Etanol (96 por ciento)" es etanol (C_2H_6O; MW 46,07) 95,1 por ciento v/v a 96,6 por ciento v/v calculado a partir de la densidad relativa a 20°C no es inferior al 95,0% de volumen/volumen 192° grados proof) debe ser el producto identificado en la monografía 04/2008:1317 del suplemento 01/2014 de la farmacopea europea (EP), armonización farmacopea (véase el capítulo 5.8 Armonización farmacopea del PE actual). Por lo tanto, la calidad del etanol 96%; 192° grados proof), según lo previsto en esta invención, cumple o supera las especificaciones actuales del grado EP/BP/USP/JP, y además es naturalmente estéril y de grado GMP.

Tal como se utiliza en el presente documento el término "Hidroxistearato de macrogol glicerol " está destinado a ser un derivado polietoxilado que cumple con las especificaciones de la monografía 01/2008:1083 de la Farmacopea Europea 8.0 Ed. página 2664, con la especial salvedad de que el valor nominal (moles de óxido de etileno ethoxilating trihydroxystearyl glicerol) se compone de 15 a 60, más preferiblemente entre 40-45; el mismo producto se publica como "Aceite de ricino hidrogenado polietoxilado" en la monografía de la Farmacopea Británica 2009, Volumen I, Página 377.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "Aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado" está destinado a ser el tipo de derivado poliotoxilado (equivalente al mencionado anteriormente "Hidroxiesteato de macrogol gilcerol"), mientras que el valor nominal está restringido a 40-45, según lo prescrito en la Monografía Oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos Ed. 36/The National Formular Ed. 31 (USP36/NF31), Volumen 1, página 2156, Oficial a partir del 1 de mayo de 2013.

Tal como se utiliza en el presente documento "Ricinoleato de macrogol glicerol" se refiere a un derivado polietoxilado, Ingrediente inerte que cumple con las especificaciones de la monografía 01/2008:1082 Farmacopea Europea 8.0 Ed. página 2665; este ingrediente también se publica como monografía "Aceite de ricino polioxil" en British Pharm. 2009, Volumen I, página 376.

Tal como se utiliza en el presente documento, "Aceite de ricino polioxil 35" está destinado a ser el derivado de poliotoxilato equivalente a "Macrogol glycerol ricinoleate", mientras que con el valor nominal es 35, así, cumpliendo con las especificaciones de la monografía de la Farmacopea de los Estados Unidos Ed. 36/El Formulario Nacional Ed. 31 (USP36/NF31), Volumen 1, página 2156, Oficial a partir del 1 de mayo de 2013

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "Hidroxi estearato de macrogol glicerol 15" está destinado a ser la mezcla descrita y que cumple con las especificaciones de la monografía 01/2008:2052 Farmacopea Europea 8.0 Ed. página 2655; contiene una mezcla de principalmente monómeros y diesters de ácido 12-hidroxistérico (12-hidroxioctadecanoico) y ácido polietoxilado 12-hidroxistérico (el valor nominal es de 15 moles de óxido de etileno).

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "Polioxil-15-hidroxiestearato" está destinado a ser el derivado (equivalente a "Hidroxi esterato polioxil 15" la Farmacopea de los Estados Unidos Ed. 36/El formulario nacional Ed. 31 (USP36/NF31), Volumen 1, página 2156, Oficial del 1 de mayo de 2013.

Tal como se utiliza en el presente documento, cualquiera de los derivados polietoxilados anteriores (en adelante definidos también con el acrónimo "PED") puede utilizarse indiferentemente en la presente invención, mientras que, si no se especifica de manera diferente, el término PED también significaba una mezcla de dos o más de los ingredientes inertes anteriores de los mismos.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "Agua para preparaciones inyectables" (Aqua pro Injectione) está destinado a ser el vehículo para inyecciones acuosas (The International Pharmacopoeia, 4.th Edition 3.rd 2006, Supplement, 2013, Organización Mundial de la Salud; European Pharm. 8.0 Ed. Monografía 1/2009:0169). Debe ser destilado recién por el proceso descrito en "Aqua pro Injectione", estar libre de dióxido de carbono, y cumplir con el párrafo 3.4 Prueba de endotoxinas bacterianas.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término general "Agua de grado farmacéutico" se entiende tanto el "Agua altamente purificada" como el "Agua purificada" (el segundo incluye "Agua purificada a granel" y "Agua purificada en recipientes") según las monografías 01/2009:1927 y 01/2009:0008 de la Farmacopea Europea 8.0 Ed., 01/2014 o equivalente.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "Infusión intravenosa de cloruro de sodio" o "Inyección de cloruro de sodio" o menos comúnmente definido como "solución salina fisiológica" está destinado a identificar una solución estéril de agua de cloruro de sodio para inyección, ambos ingredientes cumplen con la farmacopea aplicable o mejor con monografías armonizadas como se publicó en EP, JP y USP. No contiene agentes antimicrobianos. Una solución del 0,9% en agua es isoosmótica, y por lo tanto en la mayoría de los casos isotónica con suero.

Tal como se utiliza en el presente documento el término general "Solución salina hipertónica", para el que no hay disponible una definición oficial, es una solución hipertónica de bajo volumen de cloruro de sodio normalmente disponible en dos concentraciones, el primero de los cuales se administra con mayor frecuencia: 3,0% NaCl con 513 mEq/Litro y 5,0% De NaCl con 856 mEq/Litro, mientras que las soluciones NaCl menos utilizadas son 7,0% (1220 mEq/Litro) y 23,4% (aprox. 4000 mEq/Litro) junto con diuréticos suplementarios en el tratamiento de lesiones cerebrales traumáticas. La solución salina hipertónica también puede contener ingredientes adicionales, como en el caso de la solución salina hipertónica con hidroxietil almidón (7,2% de NaCl con 6,0% hidroxietil almidón 200.000/0,5), ya que se utilizan cada vez más en terapias de emergencia.

La presente invención proporciona una composición sustancialmente libre de agua de envase farmacéutico y industrial a granel de melatonina a una concentración de hasta y más de 10,0% (peso / volumen) con estabilidad química y física satisfactoria incluso a bajas temperaturas. Dicha solución versátil se diluye convenientemente y a mano en el momento de su uso con líquidos farmacéuticamente aceptables para producir perfusión intravenosa para su administración a los seres humanos, pero también para aplicaciones orales y locales. La composición sustancialmente libre de agua de envase farmacéutico y industrial a granel sorprendentemente proporciona una preparación parenteral de melatonina en una concentración de hasta y más de 10,0% destinada a ser entregada por vía intravenosa en seres humanos, mientras que en la actualidad no hay tal forma de dosificación alta de melatonina comercialmente disponible, llenando así la invención instantánea la brecha existente entre la tecnología previa (incapaz de proporcionar una solución

técnica adecuada) y los requisitos clínicos objetivos evidenciados en el mundo Publicaciones. Más preferiblemente la nueva técnica de la invención revela que dicha solución a granel de melatonina inyectable se logra sorprendentemente cuando la melatonina se disuelve en una mezcla portadora sustancialmente libre de agua de etanol y derivado polioxilado mezclado en proporción óptima por lo que la melatonina expresa su perfil de solubilidad más alto, casi el doble de eso con el estado de la técnica. En otra realización, la invención instantánea revela aún más la secuencia de varios pasos a los ingredientes de mezcla para producir la solución a granel altamente concentrada de melatonina de la invención obtenida mediante el amasado en primer lugar de melatonina y el derivado polietoxilado para producir una masa pastosa que a partir de entonces se disuelve en una cantidad conveniente de etanol sustancialmente libre de agua para producir la solución deseada a la concentración única del 10,0%. Es una realización adicional de la invención que la masa pastosa contiene melatonina y el derivado polietoxilado seleccionado en una proporción precisa para producir el rango de concentración óptimo de melatonina en la solución a granel superior a 10,0% (por ejemplo, 100 mg/ml), e incluso por encima, siendo dicha relación destinada específicamente a maximizar la solubilidad y los patrones de estabilidad del activo en el portador de fluidos, logrando así características óptimas de la estabilidad.

Por lo tanto, es un objeto tecnológico adicional de la invención de proporcionar una masa pastosa y una solución a granel de la misma, mientras que el principio activo es melatonina (MLT), preferiblemente la melatonina definida Extra-Pure (MLTEP) cuando se desea una solución parenteral. Es otra realización preferida de la invención que el derivado polioxilado se selecciona entre Hidroxiesterarato de macrogol glicerol (también aceite de ricino hidrogenado 40 polio etoxilado) con valor nominal 40-45, Ricinoleatop de macrogol glicerol (también aceite de ricino polioxil 35) y Hidroxiestearato de macrogol glicerol 15 (también hidroxiesteato polioxil 15) de calidad aprobada farmacéuticamente como se define. Sin embargo, es un beneficio regulador adicional que las monografías farmacéuticas de los derivados polietoxilados seleccionados se publiquen en las farmacopeas más comunes (ver Definiciones). En realidad, su uso ya permitido para la práctica farmacéutica y medicinal por las autoridades reguladoras de muchos países representa una ventaja técnica adicional, evitando esto de realizar estudios toxicológicos largos y costosos. Esta garantía adicional de garantía de calidad y cumplimiento normativo es apreciable además en vista de que la solución a granel de melatonina de la invención está destinada principalmente a fines de perfusión, mientras que también son factibles aplicaciones medicinales adicionales, como se divulgada adelante. En otra realización técnica, la invención abarca la secuencia de varios pasos para mezclar los ingredientes; la melatonina se amasa en primer lugar con una masa equivalente del derivado polietoxilado seleccionado para producir la mezcla pastosa. Es una realización más característica que la proporción de los ingredientes de la masa pastosa ha sido determinada experimentalmente por los autores para expresar la mayor tasa de solubilidad en etanol. Los autores también han determinado que la relación óptima melatonina/derivado polioxilado se compone entre rangos de 0.90-1.10 (w) : 0.90-1.10 (w), más preferiblemente 1:1 (p/p).

En un objeto preferido adicional la invención, en un segundo paso del proceso la masa pastosa se diluye cuidadosamente en un volumen apropiado de etanol sustancialmente libre de agua para producir la solución a granel de melatonina concentrada de la invención. Otra preferencia técnica de la invención es proporcionar una solución a granel sustancialmente libre de agua de melatonina, con el fin de minimizar la interacción de la melatonina con el agua y los demás ingredientes y evitar la inestabilidad reportada de melatonina con la presencia combinada de agua y oxígeno, de modo que la composición de la invención es convenientemente estable durante el período de almacenamiento compuesto entre su producción y uso posterior. La estabilidad también se logra evitando el uso de agentes preservadores, ya que el etanol en sí es un agente conservante eficiente. Una persona experta sabe que los conservantes tienen la reputación de causar intolerancia y otros trastornos o síntomas alérgicos, por lo que su uso en preparaciones parenterales es generalmente no deseado e incluso prohibido. Sin embargo, el etanol mantiene la solución a granel de melatonina a un pH biológico y no influye ni modifica el pH de otros fluidos utilizados para diluir la solución a granel.

Se prefiere además que la solución a granel de la invención se esteriliza simplemente pasándola en filtros de membrana convencionales (filtración esterilizadora) evitando así otros métodos físicos perjudiciales para la estabilidad de la melatonina, como los métodos térmicos (calor) y de radiación (rayos gamma y luz UV). Otra característica de la invención abarca que la preparación de la solución a granel se realiza de acuerdo con las condiciones actuales de GMP y más concretamente, que el medicamento que contiene la solución a granel parenteral es estéril y cumple con la calidad microbiológica requerida (pasar la prueba de límite de endotoxinas bacterianas y pirógenos). De hecho, es una característica adicional de la invención para proporcionar envase farmacéutico e industrial a granel de solución de melatonina concentrada (de y superior a 10,0%) a continuación, se utiliza ventajosamente para preparar al instante convenientes composiciones farmacéuticas diluidas de menor concentración de melatonina para ser destinada a la

administración parenteral, preferiblemente la infusión, a los seres humanos y para aplicaciones orales y tópicas. Según una realización, el envase farmacéutico e industrial a granel de melatonina concentrada y de los preparados diluidos de los mismos se rellenan aún más en recipientes dosificadores unitarios o de dosis múltiples adecuados caracterizados para entregar la dosis de forma líquida definida de solución de melatonina de o más de 10,0%, como se busca para el uso farmacológico o clínicamente previsto.

Es otra realización que el paquete de solución a granel de la solución de melatonina de o superior al 10,0% (p/v) y de la solución diluida, comprenden contenedores muy diferentes y sistemas de entrega ya disponibles en el mercado para el propósito clínico previsto.

El envase de solución a granel se caracteriza además por contener una solución concentrada de melatonina igual o superior a 10,0% (p/v) que puede entregar con precisión 10 mg de melatonina por 0,1 ml y múltiplos de los mismos o una solución diluida de la misma que puede entregar adecuadamente y con precisión desde 0,01 mg/ml de 10 mg/ml de melatonina, preferiblemente de 0,1 mg/ml a 5,0 mg/ml, y de 0,1 mg a 1000 mg de melatonina/unidad de dosis, preferiblemente de 0,5 mg a 100 mg.

La solución a granel concentrada y las soluciones diluidas de menor resistencia de la invención se llenan adecuadamente en un recipiente primario cerrado con componentes de cooperación convenientes (ya sea tapón o sistema de entrega, instalado por presión, atornillado o engarzado y similares) compatible con etanol, mientras que los componentes primarios están hechos de material no transparente rigurosamente resistente a la luz, preferiblemente ampollas de vidrio ámbar, viales o botellas, para proporcionar convenientemente protección absoluta de la luz UV resistente al gas para retener nitrógeno, el gas de proceso de purga que prefiere saturar el contenedor (antes de cerrar) para proteger la melatonina del aire, siendo así melatonina fácilmente oxidable.

En otra realización, la solución a granel de melatonina concentrada igual o superior al 10,0% (p/v), en el momento de su uso se diluye más conveniente y prácticamente para producir soluciones de concentración conocida de menor resistencia para uso real, evitando así frecuentes errores de dilución, mejorando la precisión de la operación de dilución, ahorrando tiempo de preparación, de modo que la solución diluida a la concentración buscada y/o la dosis prevista sea más apropiada y segura para su uso clínico inmediato, ventajosamente cuando se requiere vía de perfusión intravenosa de administración.

En un logro técnico adicional de la invención instantánea, la masa (mg) de melatonina expresada por volumen (ml) de solución a granel superior a 10,0% (por ejemplo, 100 mg/ml) produce que proporcionalmente se requiere un menor volumen de solución de melatonina de la invención para entregar la misma masa (mg) de melatonina. El volumen más bajo representa una ventaja adicional sobre las soluciones descritas en el estado de la técnica utilizando diferentes tecnologías y métodos. La alta concentración de melatonina en la solución a granel permite reducir significativamente el volumen de etanol, por lo que el volumen de etanol administrado a los pacientes resultará insignificante en relación con la alta dosis de melatonina entregada y sin sentido en consideración de las patologías potencialmente mortales que a veces requieren cantidades terapéuticamente eficaces de melatonina (algunas patologías son de 100 a 300 mg diarios o incluso por encima). En otras palabras, cuando 1 ml de solución a granel que contiene 100 mg de melatonina se disuelve en 1000 ml de líquido, constituyendo el mismo volumen de solución diluida de melatonina, la concentración de etanol resultará menos del 0,1% (v/v). Las soluciones líquidas diluidas de la invención que contienen menores concentraciones de melatonina, cuando resultan de la mezcla con fluidos de reemplazo convencionales, se pueden administrar de forma segura a los seres humanos por perfusión, o, cuando se mezclan en un portador de fluidos adecuado con ingredientes auxiliares, pueden ser procesadas, embaladas y almacenadas para producir composiciones farmacéuticas y nutracéuticas adicionales para uso oral por otras vías de administración para su uso previsto, siempre que se requiera una dosis terapéutica eficaz de melatonina . De hecho, en otra realización la solución a granel de melatonina 10.0% se diluye además convenientemente en un volumen de infusión intravenosa de cloruro de sodio para producir una solución clara y estéril a la concentración deseada de melatonina que se puede administrar rápida y artesanalmente por vía intravenosa a los seres humanos a una velocidad de perfusión adecuada a la edad también en relación con el efecto clínico previsto.

La invención también abarca el uso específico de la solución de stock en 10,0% de melatonina para producir una solución diluida vertiendo artesanalmente 1,0 ml (100 mg de melatonina) en 1 litro de infusión intravenosa de cloruro de sodio para entregar por perfusión intravenosa constante a los seres humanos una dosis total de 100 mg durante un cierto período para producir la alta concentración deseada de melatonina.

La invención abarca además una solución diluida de melatonina que puede obtener convenientemente una solución a granel adecuadamente obtenida con uno o más fluidos inertes para producir concentraciones más bajas de melatonina, siendo la solución diluida destinada tanto a medicamentos (pensada como terapia

de continuación de un tratamiento parenteral) como a composiciones nutracéuticas adecuadas para uso oral, siempre que se requiera una dosis terapéutica eficaz de melatonina propósitos que puedan ser dirigidos. Una solución diluida de melatonina también se puede aplicar tópicamente a las superficies del cuerpo como la piel o las membranas mucosas de la cavidad oral, siempre que se requiere una dosis terapéutica eficaz de melatonina localmente. La solución diluida de la invención se puede lograr mezclando manualmente una cantidad de solución a granel ya sea a un diluyente líquido adecuado que no contenga ningún ingrediente activo o a una solución que contenga uno o más principios activos químicamente compatibles con melatonina. Del mismo modo, otros ingredientes activos químicamente compatibles con melatonina (cuadros de compatibilidad están disponibles libremente en línea) también se pueden administrar simultáneamente por perfusión. Las composiciones diluidas para usos enterales y tópicos se embalarán en un recipiente dispensador conveniente principalmente para preservar la melatonina de la luz y de la oxidación (la fotodegradación y la oxidación son la fuente más común de degradación en los productos comerciales actuales) con el fin de garantizar un período de estabilidad desde la fecha de producción hasta un período de almacenamiento de 24 meses o incluso más, y también para proporcionar el sistema de dosificación más adecuado en relación con la dosis prevista y el lugar de aplicación. Los pulverizadores o nebulizadores especiales, como los equipados con bombas dosificadoras sin aire con boquilla de empuje o dispensador de garganta o basadas en bolsa en tecnología de válvulas, equipadas con un dispensador adecuado, son las preferidas como sistemas de entrega para la solución diluida de la invención.

Un objeto adicional es proporcionar composiciones farmacéuticas como arriba y más descritas útiles para los propósitos anteriores. Estos y otros objetos serán fácilmente evidentes para el artesano ordinario de la consideración de la invención en su conjunto

Sorprendentemente, en otra realización los autores han determinado que cuando la solución a granel que contiene melatonina al 10,0% puede diluirse rápida y adecuadamente en un volumen conveniente de infusión intravenosa de cloruro de sodio (generalmente 1 ml de solución a granel de 100 mg/ml en un fluido de perfusión de 1000 ml que produce una solución diluida isotónica clara y estéril de la invención) puede administrarse con ventaja por vía intravenosa a los seres humanos siempre que se requiera una dosis terapéutica eficaz de melatonina condiciones como las causadas por la fiebre hemorrágica del ébola (EHF) y la fiebre hemorrágica del dengue (DHF), donde los autores creen que los altos niveles plasmáticos de melatonina podrían corregir favorablemente los problemas de sangrado, promover la producción de plaquetas y glóbulos rojos en el cuerpo, mejorar un efecto protector general sobre el sistema nano y capilar, reducir la equimosis, las petequias y la fiebre generalizada, tejidos, órganos y para todo el cuerpo que presentan tales condiciones de salud críticas.

Sin embargo, la posibilidad de administrar por perfusión intravenosa constante a los seres humanos y, por lo tanto, de hacer bio-disponible durante la noche una dosis acumulativa de 100 mg y una meseta altamente concentrada de melatonina, hace que la solución a granel sea el sistema de administración preferido para diseños y tratamientos de prevención anti-oxidante y antienvejecimiento fuertes.

DESCRIPCION DETALLADA Y REALIZACIONES PREFERIDAS

Por lo tanto, la presente invención proporciona una solución a granel sustancialmente libre de agua, también definida envase farmacéutico e industrial a granel, como una preparación líquida de melatonina, que contiene al menos:

a) melatonina (MLT) cuantitativamente en la concentración igual o superior al 10,0% peso/ volumen de la solución a granel;

b) un derivado polioxilado seleccionado entre el hidroxiestearato de macrogol glicerol, preferentemente aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado, o ricinoleato de macrogol glyicerol, preferiblemente aceite de ricino polioxil 35, o hidroxiestearato de macrogol glicerol, también hidroxi esteato polioxil 15, o una mezcla del os mismos (en lo sucesivo definido como PED), mientras que la relación de masa preferida MLT/PED se compone entre los rangos variables 0.90-1.10 (peso) : 0.90-1.10 (peso) y la relación óptima preferida es 1:1 (peso/peso);

c) etanol menos 10 volúmenes;

para la administración parenteral después de una dilución conveniente, preferiblemente intravenosa, para los seres humanos, pero también para aplicaciones orales y locales.

La solución a granel de la invención se caracteriza además porque no contiene otro disolvente, cosolvente, agente dispersante o tensioactivo.

Es casi preferible cuando una solución a granel sustancialmente libre de agua o envase farmacéutico e industrial a granel de melatonina, contiene al menos:

a) melatonina (MLT) mientras que preferiblemente es melatonina extra-pura (MLTEP) a la concentración de 10.0% peso / volumen de la solución a granel;

b) el derivado polietoxilado (PED) es preferiblemente hidroxiesterato de macrogol glicerol (aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado), con restricción del valor nominal 40-45, o hidroxiesterato de macrogol 15 glicerol (polioxil-15-hidroxiesterato), con valor nominal 15; y

c) etanol mientras que preferiblemente es etanol anhidro de calidad armonizada y adicionalmente estéril;

donde también los ingredientes auxiliares son farmacéuticamente aceptables.

Es casi único que la solución a granel de la invención entrega al menos hasta e incluso más que la melatonina 100 mg/ml de solución a granel. Tan alta concentración de melatonina nunca se ha descrito en el estado de la técnica, incluso para una solución acuosa y tal forma de dosificación líquida concentrada alta de melatonina no está disponible comercialmente.

En otra característica distintiva, la masa del PED seleccionado se compone al menos entre el 90,0% y el 110,0% de la masa de MLT, siendo la combinación más preferible cuando la masa PED es igual a MLT, autores determinaron que la relación óptima de 1:1 (p/p) maximiza la solubilidad y los patrones de estabilidad del ingrediente activo en el portador, mientras que los sorprendentes patrones de estabilidad fisicoquímica también se logran. Los autores han demostrado que la masa pastosa de MLT/PED en la relación 1:1 (p/p) está expresando la mayor tasa de solubilidad de melatonina de y superior al 10,0% (p/v), cuando dicha mezcla semisólida se disuelve con etanol en el volumen suficiente hasta 100,0%. Sin embargo, es otra caracterización preferida de la realización de la solución a granel la proporción de MLT/PED/Etanol de 1 : 1 : 10 (p/p/v), con variaciones individuales y relativas compuestas de aproximadamente el 90,0 % a aproximadamente el 110,0 % para cada ingrediente, según sea aplicable.

De hecho, los autores han determinado experimentalmente que la alta concentración de melatonina de y más del 10,0% de la solución a granel de la invención se puede lograr sorprendentemente sólo cuando MLT se combina primero con PED en una proporción precisa y amasa bien para producir una masa pastosa, que en un segundo paso se disuelve en etanol observando la relación de caracterización anterior también. Vale la pena subrayar que dicha mezcla semisólida de MLT/PED (en la proporción 1:1) no es soluble en agua, mientras que la mezcla semisólida MLT/PED se disuelve fácilmente en al menos 10 volúmenes de etanol. Por el contrario, ya sea mediante la mezcla de 1 masa de MLT y etanol (10 volúmenes) y añadiendo a la suspensión obtenida 1 masa de PED, o también viceversa al disolver 1 masa de PED en etanol (10 volúmenes) y luego añadir 1 masa de MLT a la solución, no es posible lograr la solución clara, transparente y estable (a 5oC de almacenamiento sin precipitar) que caracteriza la invención, que luego se puede obtener mediante la secuencia de uso de la invención (en primer lugar mezcla semisólida MLT/PED y luego la disolución de la pasta semisólida al menos en la pasta semisólida en al menos 10 volúmenes de etanol). Los hallazgos experimentales que caracterizan la solución a granel de la invención se resumen en el Cuadro n. 1A, Cuadro n. 1B y C, Cuadro n. 2.

Cuadro n. 1A - Pruebas comparativas de solubilidad (20°C) Elemento variable : relación MLT/PED/ETHANOL				
Prueba Invención	MLT + PED - MLT/PED + Etanol (ET) - Ver Notas			
Relación Variable		Relación Variable		
MLT (p/g)	PED (p/g)	Etanol (v/ml)	RATIO MLT/PED/ET	Notas
0.5	0.5	10.0	1:1:20	Claro, límpido y estable a 5°C
0.5	1.0	10.0	1:2:20	Solución pero cambia de color
0.5	1.5	10.0	1:3:20	Solución pero cambia de color
1.0	0.5	10.0	2:1:20	Opalescente y precipitado
1.0	1.0	10.0	1:1:10	Despejado, límpido y estable a 5°C
1.0	1.5	10.0	1:1:10	Turbio & Cambio de color
1.5	0.5	10.0	2:3:20	Muy turbia y precipitada
1.5	1.0	10.0	3:1:20	Turbia & precipitado
1.5	1.5	10.0	3:2:20	Turbia & muy inestable
		10.0	3:3:20	

Cuadro n. 1B - Pruebas comparativas de solubilidad (20°C) Elemento variable : Secuencia de pasos de producción				
Prueba Invención Secuencia 1		MLT + PED - MLT/PED + Etanol - Solución a granel Proporción : (1:1:10) (p/p/v)		
MLT (p/g)	PED (p/g)	Consistencia MLT/PED	Etanol (v/ml)	Notas
0.5	0.5	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
0.8	0.8	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
0.9	0.9	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
1.0	1.0	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
1.1	1.1	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
1.2	1.2	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido y estable a 5°C
1.3	1.3	Masa pastosa	10.0	Despejado, límpido e inestable a 5°C
1.4	1.4	Masa pastosa	10.0	Turbio y precipitado ligero
Secuencia comparativa 2		MLT + Etanol - MLT/Etanol + PED - ver Notas Relación : (1:10:1) (p/v/w)		
MLT (p/g)	Etanol (v/ml)	Consistencia MLT/Etanol	PED (w/g)	Notes
0.5	10.0	Solución	0.5	Suspensión
1.0	10.0	Turbio	1.0	Suspensión
Secuencia comparativa 3		PED+Etanol -PED/Etanol + MLT - ver Notas Relación : (1:10:1) (p/v/w)		
PED (p/g)	Etanol (v/ml)	Consistencia de PED/Etanol	MLT (p/g)	Notas
0.5	10.0	Solución	0.5	Turbia, Lechosa
1.0	10.0	Solución	1.0	Suspensión opalescente

Cuadro n. 2 – Pruebas comparativas de solubilidad (20°C) Elemento variable : Disolvente				
Prueba comparativa Agua		MLT + PED - MLT/PED + Agua - Suspensión Relación : (1:1:20 y 1;1;10) (p/p/v)		
MLT (p/g)	PED (p/g)	MLT/PED Consistencia	Agua (v/ml)	Notas
0.5	0.5	Masa pastosa	10.0	Suspensión
1.0	1.0	Masa pastosa	10.0	Suspensión

Prueba comparativa Agua/Etanol		MLT + PED - Suspensión MLT/PED + P/E Relación : (1:1:10:10 y 1:1:5:5) (p/p/v/v)		
MLT (p/g)	PED (p/g)	MLT/PED Consistencia	P/E (v/ml)	Notas
0.5	0.5	Masa pastosa	10.0	Suspensión
1.0	1.0	Masa pastosa	10.0	Suspensión
Pruebas en blanco (20°C)				
Prueba en blanco 1		MLT + PED - ver Notas Relación : (1:1) (p/p)		
MLT (p/g)	PED (p/g)	MLT/PED Consistencia	Etanol (v/ml)	Notas
0.5	0.5	Masa pastosa	---	Masa pastosa
1.0	1.0	Masa pastosa	---	Masa pastosa
Prueba en blanco 2		MLT + Etanol - ver Notas Relación : (1:20 y 1:10) (p/v)		
MLT (p/g)	Etanol (v/ml)	MLT/Etanol Consistencia	PED (p/g)	Notas
0.5	10.0	Solución	---	Solución, opalescente a 5°C
1.0	10.0	Suspensión	---	Suspensión y precipitación
Prueba en blanco 3		PED + Etanol = ver Notas Relación : (1:20 y 1:10) (p/v)		
PED (p/g)	Etanol (v/ml)	PED/Etanol Consistencia	MLT (p/g)	Notas
0.5	10.0	Solución	---	Solución
1.0	10.0	Solución	---	Solución

Las características básicas resultantes del Cuadro 1/A y la caracterización de la solución a granel de la invención son que la masa del PED seleccionado está compuesta al menos entre el 90,0% y el 110,0% de la masa MLT y viceversa, habiendo determinado además que la relación óptima es 1 : 1 (p/p) y que,

además, cuando MLT/PED se mezclan en la relación 1 : 1 (p/p), la invención se caracteriza además de que la masa pastosa resultante (MLT/PED) es capaz de expresar la mayor tasa de solubilidad de melatonina en la solución a granel cuando el semisólido mezcla, se disuelve más tarde con etanol. Sin embargo, los autores han encontrado que se utiliza una realización más preferida que caracteriza la solución a granel de la invención en cuando se utiliza una relación MLT/PED/Etanol de 1 : 1 : 10 (p/p/v), con tolerancia individual y relativa de la cantidad de cada ingrediente compuesta de aproximadamente 90,0% a aproximadamente 110,0%, según sea aplicable. El Cuadro 1/B confirma además que la secuencia de pasos de producción también es preferida encarnación caracterizada de la solución a granel. Los resultados de Cuadro 2 caracterizan aún más la solución a granel de la invención, ya que la masa semisólida pastosa de MLT/PED (1 : 1) no es soluble en agua, tanto en las proporciones 1:50 (p/v), 1 : 20 (p/v) como también en 1 : 10 (p/v), por ejemplo, a 2,0 %, 5,0 % y 10,0% (p/v) respectivamente. Sin embargo, el agua de mezcla de disolvente (W)/etanol no resuelve el problema de solubilidad anterior: la mezcla MLT/PED/W/Etanol está en la relación 1 : 1 : 10 : 10 (p/p/v/v) produce una suspensión opalescente e inestable que precipita la temperatura; también cuando MLT/PED/W/Etanol está en la relación 1 : 1 : 5 : 5 (p/p/v/v) se obtiene una suspensión lechosa gruesa.

Por lo tanto, caracteriza aún más la invención de que la solución a granel sustancialmente libre de agua contiene etanol (etanol 96%; 192° grados proof). Además, se prefiere el uso de etanol deshidratado, como se define anteriormente, para producir un volumen del 100% de solución a granel y es preferible cuando se armoniza el etanol USP/BP/EP/JP anhidro (también definido absoluto, deshidratado) que cumple o excede las especificaciones armonizadas. Sin embargo, la ausencia caracterizada de agua en la solución a granel evita la inestabilidad conocida de la melatonina en presencia de humedad. Además, otra ventaja es que el etanol evita que las temperaturas más bajas, ya que las de almacenamiento y distribución de productos farmacéuticos que tienen zonas a temperatura refrigerada controlada suelen ser a 5°C (± 3°C), podrían resultar críticas y afectar también a la solución a granel que causa precipitaciones inesperadas. Es una ventaja adicional caracterizar la solución a granel o envase farmacéutico e industrial a granel que contiene la preparación líquida de melatonina concentrada que el etanol, de manera diferente al agua, no contiene ningún ion (OH^- o H^+) por lo que el pH está muy cerca de la neutralidad por lo que la solución a granel tiene una influencia insignificante en la solución acuosa a la que se mezcla.

Debido a que la solución de la invención está destinada principalmente a uso parenteral, como por ejemplo la administración intravenosa de cantidades significativas de melatonina para los seres humanos, los autores también han determinado que la calidad MLT debe ajustarse a las monografías de la USP/BP (ver definiciones) y que el MLT que caracteriza la solución a granel de la invención tendrá la especificación más estricta para que el ensayo y el contenido de pureza no sean inferiores al 99,0% y no más del 101,0% de $C_{13}H_{16}N_2O_2$, convencionalmente identificado con el acrónimo MLTEP (Melatonina Extra-Pura). Por lo tanto, otro aspecto caracterizador de la solución a granel de la invención es que MLTEP deberá cumplir con la calidad microbiológica requerida (pasa los límites de ensayo de endotoxinas bacterianas y pirógenos) ya que después de la cristalización (este paso de producción de MLTEP no se reivindica como parte de la invención), el MLTEP cristalino se lava con un alcohol bactericida para eliminar las endotoxinas bacterianas y los pirógenos, de modo que el polvo seco, después de pasar las pruebas de límite convencionales para la endotoxina bacteriana y pirógenos, ha sido clasificado por los autores como conforme a los límites de ensayo de endotoxina bacteriana y pirógeno. Los autores han determinado además que la caracterización de MLTEP de la solución a granel de la invención, siempre que esté destinada a un uso parenteral, principalmente intravenosa, deberá cumplir con el requisito de endotoxinas de un máximo de 300 UI/gramo.

En otro aspecto, la solución a granel de la invención se caracteriza además de que el PED seleccionado es preferido entre los hidroxiesteato de macrogol glicerol, preferiblemente aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado , con valor nominal 40-45, o ricinoleato de macrogol glicerol, preferentemente aceite de ricino polioxil 35, o hidroxi esteato de macrogol 15 glicerol, también hidroxiesteato de polioxil 15, con valor nominal 15, o una mezcla de los mismos (en lo sucesivo definido como PED), mientras que la relación de masa preferida MLT/PED se compone entre la variable rangos 0.90-1.10 (w) : 0.90-1.10 (w) y la relación óptima preferida es 1 : 1 (p/p). Para especificaciones adicionales, los autores hacen referencia directa a las Definiciones y a las farmacopeas oficiales.

La solución a granel de la invención se caracteriza además por combinar MLT con el PED seleccionado y el etanol, con las ventajas reportadas por los autores. El PED seleccionado mejora consistentemente la solubilidad de MLT en etanol hasta y más de 10,0% (p/v), mientras que el etanol tiene un efecto estabilizador en el PED seleccionado de la solución a granel. De hecho, el punto de congelación/congelación del PED seleccionado se encuentra en el rango de 20-30°C, de modo que una solución acuosa que contenga una concentración de aproximadamente el 10% del PED seleccionado tiene el riesgo de precipitarse cuando se almacena a una temperatura de almacenamiento controlada de 5°C (±

3°C) ya que a veces puede ser necesaria para las áreas de stock y distribución de productos farmacéuticos. Este riesgo no ha demostrado el uso de la solución concentrada de melatonina ya que etanol tiene una actividad anti-congelación adecuada. Otra característica deseable es que cada PED seleccionado tiene su propia monografía específica publicada en las farmacopeas líderes (según las definiciones). Por lo tanto, la ventaja regulatoria y técnica que caracteriza su presencia es que la idoneidad biológica y farmacéutica de cada PED seleccionado ya ha sido reconocida y licenciada en la práctica farmacéutica y medicinal por las autoridades reguladoras de muchos países. Sin embargo, esto representa una garantía de calidad adicional y garantía del cumplimiento normativo de cada PED seleccionado, de modo que la solución a granel y las soluciones diluidas de la invención instantánea destinadas principalmente a la administración parenteral a los seres humanos no presentan límites a su uso, también cuando las soluciones a granel y diluidas se dirigen a otras aplicaciones medicinales o nutricionales como se revela a continuación. No obstante, los autores han determinado que también el PED seleccionado, como MLT, cumplirá con la prueba de enumeración microbiológica (TAMC max 10^{-2} CFU/g; TYMC max 10 CFU/g) y con el requisito de endotoxinas máximo 300 UI/gramo.

Una encarnación adicional que caracteriza el método de producción de la solución a granel de la invención es la secuencia para mezclar los componentes en el proceso para producir la solución a granel deseada o forma líquida de envase farmacéutico e industrial a granel de melatonina concentrada. A pesar de que los autores ya han encontrado que la actuación más preferida de la invención se logra cuando la composición contiene la relación óptima 1 : 1 : 10 (p/p/v), entre MLT, PED y etanol, respectivamente (con variaciones de masa individuales y relativas compuestas de aproximadamente 90,0% a aproximadamente 110,0% para cada ingrediente, ya que puede ser adecuadamente aplicable) determinaron experimentalmente que se requiere una secuencia precisa de pasos para mezclar los componentes. De hecho, el primer paso para la producción de la solución a granel se caracteriza de que las masas igualmente pesadas de PED y MLT se colocan en un mezclador/homogeneizador de vacío adecuado, donde el nitrógeno se utiliza como gas de proceso de purga, y se mezclan bien a unos 21°C hasta que se obtiene una masa pastosa (la operación tarda aproximadamente una hora). En el segundo paso, la pasta semisólida se retira rápidamente del recipiente de mezcla y se coloca en un tanque agitado adecuado que opera al vacío (el nitrógeno se utiliza como gas de proceso de purga) donde la cantidad prescrita de etanol se agrega a la masa pastosa y la mezcla se mezcla suavemente hasta la disolución completa para producir la solución a granel de la invención. Una vez determinado el ensayo de melatonina en la solución a granel almacenada en el depósito, un operador cualificado determinará la cantidad de etanol absoluto que se añadirá a la masa de la solución (el tanque está equipado con un sistema de pesaje) para producir la concentración exacta de melatonina. El área técnica de las operaciones de producción estará equipada con un sistema de aligeramiento con filtros UV, para evitar las molestias de la foto-degradación de la melatonina.

Como se desprende de los resultados resumidos en el Cuadro 2, al cambiar la secuencia de los pasos de producción, no es posible lograr la característica de la solución a granel de la invención. Es decir, producir una solución a granel concentrada de melatonina en 10.0% (p/v). De hecho, la secuencia invertida para mezclar los ingredientes no aumenta el perfil de solubilidad de la melatonina (la concentración de melatonina sigue siendo mucho menor que el objetivo de la invención) por lo que se obtiene una suspensión lechosa o una solución opalescente gruesa o un precipitado pastoso. No obstante, debido a la presencia pertinente de etanol en la composición, la producción se realizará en una zona antideflativa específica, y también se operarán los equipos y servicios antideflagrantes. La invención abarca además los pasos de preparación realizados de acuerdo con las condiciones actuales y aplicables de GMP para producir una solución a granel estéril que cumpla también con el requisito de endotoxinas máximo 300 UI/gramo. Según una realización, el paquete de solución a granel de farmacia/industrial de melatonina concentrada se llena aún más en recipientes dosificadores unitarios o de dosis múltiples apropiados caracterizados para entregar la dosis de forma líquida definida de la solución de melatonina igual o superior al 10,0%, como se busca para el uso farmacológico o clínicamente previsto, o más convenientemente diluido para producir una solución diluida adecuada a la concentración deseada de melatonina para luego utilizarse al instante o también adecuadamente embalada para almacenamiento a corto, medio o largo plazo, según sea necesario.

Es otra realización que el paquete de solución a granel de solución de melatonina igual o superior a 10,0% (p/v) comprende también diferentes contenedores, sistemas cerrados y de entrega ya disponibles comercialmente para el propósito de uso previsto.

El envase farmacéutico e industrial a granel se caracteriza además para ser adecuadamente embalado para contener una solución concentrada de melatonina en 10.0% (p/v) que ofrece 10 mg de melatonina por 0,1 ml o que la solución diluida de la misma cumpla de forma precisa y adecuada desde 0,01 mg/ml hasta 10 mg/ml de melatonina, preferiblemente de 0,1 mg/ml a 5,0 mg/ml, y de 0,1 mg a 1000 mg de

melatonina/unidad de dosis, preferiblemente de 0,5 mg a 100 mg, de modo que se pueda cubrir un amplio espectro de aplicaciones clínicas. La alta concentración de melatonina en la solución a granel permite reducir significativamente el volumen de etanol residual en la solución diluida, de modo que el volumen administrado de etanol a los pacientes resultará insignificante en relación con la alta dosis de melatonina y sin sentido en consideración de las patologías potencialmente mortales a veces que requieren cantidades terapéuticamente efectivas de melatonina (algunas patologías requieren de 100 a 200 mg diarios o incluso más) para cumplir con el régimen de alta dosis deseada.

La solución a granel concentrada de la invención se presenta en el volumen deseado en un recipiente de dosis unitaria primaria o multidosis, como por ejemplo viales, sellados con un componente de cooperación adecuado compatible con etanol (tapón engarzado con una cápsula de aluminio engarzada, o instalado por presión o atornillado y similares), mientras que el recipiente primario está hecho de material no transparente, preferiblemente un pequeño vial de vidrio ámbar oscuro de grado farmacéutico tipo 1, rigurosamente resistente a la luz que proporciene fotoprotección y también capaz de retener nitrógeno, el gas del proceso de purga, destinado a saturar el recipiente durante el proceso de llenado con el objetivo de prevenir la oxidación de melatonina. A pesar que la solución a granel de la invención se puede utilizar raramente directamente como es (como por ejemplo para filmar implantes dentales y prótesis fijadas con cemento óseo y mezclado con cemento óseo de preimplantes dentales también, para estimular localmente la osteointegración, como ya se ha publicado, o para depositar películas multicapa en stents de hogar para evitar la agregación después del implante, o para ser añadido en una cantidad adecuada a las soluciones de preservación UW (Universidad de Wisconsin) para prevenir los injertos renales lesión de preservación en frío e instituto Georges Lopez (IGL-1) para proteger los injertos hepáticos no esteatoticos y esteatoticos contra lesiones por isquemia-reperfusión en frío, como se sugiere en publicaciones científicas recientes y similares), está destinado principalmente a producir instantáneamente las soluciones diluidas de la invención de la misma ya sea para uso parenteral inmediato, preferiblemente por vía intravenosa a los seres humanos, o luego ser embalada en recipientes adecuados para aplicaciones orales y locales. Por lo tanto, la solución a granel sin agua o envase farmacéutico e industrial a granel que contiene la preparación líquida de melatonina concentrada pasará pruebas de ensayo, claridad, pH, esterilidad, endotoxina bacteriana y estabilidad, como ya se ha previsto y como se ilustra en los detalles de los estudios ejemplares. La producción de la solución a granel se realizará bajo la clase de sala limpia controlada estrictamente 10.000 para la mezcla y la solución, y la clase 100 para las operaciones de llenado después de la esterilización. La formulación, las especificaciones, las características fisicoquímicas y la evaluación de los patrones de estabilidad de la solución a granel se divulgarán en ejemplos ilustrativos. Debido a su composición única y versátil, la solución a granel presenta varias ventajas que se pueden resumir, pero por mencionar algunas de ellas sin limitación, de la siguiente manera: mayor concentración de MLT igual o superior al 10,0% (p/v) (conseguida con una sorprendente combinación de ingredientes en una proporción determinada), bactericida (sin añadir agentes de conservación) y casi al pH neutro del etanol, y estable durante el almacenamiento prolongado incluso a temperatura controlada sin riesgo de cristalización, cantidad mínima de PED por solución a granel (por ejemplo, 100 mg de PED/ml), con una dosis relativamente muy baja de etanol en comparación con MLT (100 mg/1,0 ml de etanol). De manera diferente, otras soluciones acuosas (no etanólicas) descritas en el estado de la técnica contienen melatonina sólo al 1-3 % y PEG hasta el 40 % del volumen total del líquido utilizado (por ejemplo, hasta 400 mg de PEG/ml). Algunas cifras comparativas se muestran en el siguiente Cuadro n. 3.

Cuadro n. 3 – Comparación de soluciones intravenosas de melatonina (reclamaciones)

Ingredientes básicos		Presente invención Solución		WO 2012/156565 Solución		WO2013/068565 Solución reconstituida de polvo	
Ingrediente	Volumen o masa	Rango	Pref.	Rango	Pref.	Rango	Ejemplo
Melatonina	p/mg	100	100	0.5-50	10		10
PED	p/mg	100	10	---	---	---	---
Etanol	v/ml	1000	1000	---	---	---	---
Agua	mg	---	---	50-900	750		200

PPG	mg	---	---	50-500	250	---	---
PEG		---	---	---	---	50-400	800
Otros Ingredientes		---	---	---	---	Muchos y numero cantidad variables	
Total		1000 ml	1000 ml	1000 mg	1000 mg	---	---

Sorprendentemente, las características tecnológicas de la solución a granel de la invención se vuelven más impresionantes en el momento en que la solución altamente concentrada de la melatonina se diluye en forma conveniente y a mano práctica producir soluciones de concentración conocida y menor fuerza para uso parenteral, principalmente intravenosos, para los seres humanos, evitando así frecuentes errores de dilución, mejorando la precisión de la operación de dilución, ahorrando tiempo de preparación, de modo que la solución diluida en la concentración y la concentración/ o la dosis prevista es más apropiada y segura para su uso clínico inmediato o para mejorar la preservación de los órganos de trasplante. La solución a granel puede producir la solución diluida de menor concentración de melatonina de la invención, simplemente añadiendo un diluyente o líquidos inertes, tal como se diseñó, dicha solución diluida de la invención también destinada a medicamentos (como terapia de continuación de un tratamiento parenteral previo), o composiciones nutricionales adecuadas para uso enteral, siempre que se requiera una dosis terapéutica efectiva de melatonina por vía oral, incluyendo fines profilácticos como se puede dirigir. Diluente puede ser un líquido inerte que no contiene ningún ingrediente activo o una solución que contenga dentro de uno o más principios activos químicamente compatibles con melatonina.

La solución diluida es casi una/décima parte de la solución a granel y los autores se sorprendieron de que la mayor solubilidad de la melatonina de la solución a granel se mantiene también en la solución diluida, y la estabilidad también, incluso a concentraciones más bajas de etanol, de modo que los autores han formulado la hipótesis, que debe ser confirmada por estudios posteriores, de que la solución diluida representa un sistema llamado "solución de vidrio", donde el principio activo se dispersa molecularmente en estado amorfo para que el sistema de estabilidad se mantenga perfectamente en la medida en que la sustancia de la droga sea muy por debajo de la solubilidad de saturación.

Las concentraciones menores de la solución líquida farmacéutica de la invención pueden administrarse de forma segura por vía parenteral, preferiblemente por vía intravenosa, a los seres humanos, o pueden ser procesadas, embaladas y almacenadas para producir composiciones farmacéuticas y nutricionales adicionales para uso enteral por otras vías de administración adecuadas para su uso previsto, siempre que se requiera una dosis terapéutica efectiva de melatonina. De hecho, la solución a granel de melatonina 10.0% puede ser diluida convenientemente por un artesano experto, un profesional sanitario, clínico o farmacéutico, en un volumen conveniente, preferiblemente desde 500 ml hasta 1 litro, de infusión intravenosa de cloruro sódico para producir una solución diluida clara (estéril, isotónica/isomolar, sin influir ni modificar su pH fisiológico original) con la concentración deseada de melatonina que puede administrarse de forma rápida y práctica a los seres humanos a una velocidad de perfusión adecuado a la edad y al contenido de sodio. Por lo tanto, la solución diluida, fácilmente preparada directamente a partir de una parte de la solución en stock de la invención, está disponible para los pacientes siempre que los médicos requieran una administración intravenosa de melatonina en las condiciones patológicas de las publicaciones referidas, como por ejemplo, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Sepsis, Accidente cerebrovascular, Perioprative, Diálisis, Pancreas, Oncología, y mordeduras de serpiente y similares ó otros usos medicinales no explorados.

Otra realización de la invención es cuando 1,0 ml de solución a granel conteniendo MLT al 10,0% (por ejemplo. 100 mg MLT) se diluye en el conveniente volumen de 500 ml de Infusión intravenosa de cloruro sódico la solución diluida se puede administrar ventajosamente a los seres humanos siempre que se requiera un régimen de dosis terapéutica efectiva de 100 mg/día de MLT y se logre con una perfusión continua de melatonina a 20 mg/h que permita asegurar una cobertura única de sangre de meseta de MLT durante varias horas, como experimentalmente determinado en un estudio preliminar.

PACIENTES

6 voluntarios hombres sanos caucásicos de 20 a 30 años con ciclo normal de sueño-vigilia fueron reclutados para el estudio después de que el consenso escrito y el ensayo se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Se realizó una historia completa y un examen físico en todas las asignaturas

antes del inicio del estudio. Los participantes no estaban inscritos si estaban recibiendo algún medicamento durante el período de estudio. Los participantes fueron excluidos si tenían antecedentes de uso de melatonina durante el año anterior, enfermedad médica sistémica significativa, peso corporal superior al 30% de ideal, o productos de tabaco usados. Los sujetos también fueron sometidos a un examen químico de la sangre y análisis de orina antes de la iniciación del estudio. Los parámetros de los voluntarios se enumeran aquí abajo.

	Sujetos	Edad/años	Peso/Kg	Altura/cm
1	V.F.	23	73	178
2	U.C	25	69	168
3	A.L.	21	77	185
4	A.C.	22	75	180
5	N.S.	23	73	177
6	A.T.	24	74	183
Promedio			73.5	178.5

MATERIALES

El producto probado (100 mg de solución de melatonina/ml extraída del vial de 5 ml) se ha preparado de acuerdo con el ejemplo 4. La solución extraída (1 ml) se ha diluido en 500 ml de frasco de perfusión intravenosa de cloruro sódico.

DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio sobre voluntarios consistió en un día de intervención. Cuatro días hábiles antes del día de intervención, se han dado instrucciones a los sujetos a adaptarse a un ciclo de sueño estandarizado, sin cafeína y sin tomar alcohol en los dos días anteriores. En el día de la intervención, a los voluntarios se les insertó un catéter intravenoso en venas cubitales bilateralmente (uno para perfusión y el otro para la toma de sangre). Los voluntarios fueron monitoreados con medición por hora de presión arterial, temperatura y frecuencia cardíaca. Las muestras de sangre en el momento 0 se han tomado para el control basal. La velocidad de perfusión de melatonina (20 mg/hora) se inició a las 13:00 p.m. hasta las 6 p.m. (5 horas).

MUESTRAS DE SANGRE Y ANÁLISIS

Las muestras de sangre se extrajeron cada hora para su análisis hasta las 8 p.m. y se enviaron a análisis. El método analítico utilizado para la medición de melatonina en suero derivado de la publicación de renombre (Waldhauser et al, 1984) [2]. Los datos encontrados se tabulados en el Cuadro 4.

Cuadro 4 – Concentraciones individuales de melatonina Cmax de los sujetos

ID N°	Sujetos	Cmax (ng/ml) después de 1h	Cmax (ng/ml) después de 2h	Cmax (ng/ml) después de 3h
1	V.F.	74.9433333± 0.31134118	73.1733333± 0.922894	76.9066667± 0.33501244
2	U.C.	77.5066667± 0.45081408	75.7833333± 0.38070111	72.61133333± 0.48809152
3	A.L.	75.7533333± 0.47056703	77.6133333± 0.26350206	74.6966667± 0.8315247
4	A.C.	75.8033333± 0.66123622	79.7566667± 0.25006666	75.3033333± 0.38591882

5	N.S.	78.5766667± 0.33650161	79.7566667± 0.81291656	77.9266667± 0.75500552
6	A.T.	78.2766667± 0.63319297	82.7266667± 0.47815618	83.5666667± 0.5500303

ID N°	Cmax (ng/ml) después de 4h	Cmax (ng/ml) después de 5h	Cmax (ng/ml) después de 6h	Cmax (ng/ml) después de 7h
1	80.6166667± 0.32254199	76.5466667± 0.37527767	38.9266667± 0.39272552	20.7233333± 0.17214335
2	75.6366667± 0.5688878	74.4766667± 0.4424176	34.18666672± 0.5986932	18.2233333± 0.47162838
3	78.83333333± 0.74648063	78.3433333± 0.63129497	34.9066667± 0.89745938	19.3466667± 0.64500646
4	75.1966667± 0.68412962	78.9566667± 0.74567643	36.7766667± 0.26025628	22.0766667± 0.46177195
5	77.4766667± 0.45632591	78.3366667± 0.48232078	35.6033333± 0.44601943	21.11333333± 0.85991
6	76.2466667± 0.97592691	77.8333333± 0.44117268	36.5566667± 0.50816664	19.0666667± 0.40673497

CONCLUSIONES

La perfusión continua de melatonina a 20 mg/h permite asegurar una concentración de sangre en estado estacionario durante 5 horas en el rango de 70 ng/ml a 85 ng/ml, como se evidencia en la Figura 2.

Sorprendentemente, en otra realización los autores han determinado que cuando la solución a granel que contiene melatonina al 10,0% se diluye en un volumen conveniente de infusión intravenosa de cloruro de sodio (en general 1,0 ml de solución a granel que contiene 100 mg de melatonina se diluye en 500 ml o mejor en 1 litro), la solución diluida puede administrarse ventajosamente por vía intravenosa a los seres humanos cuando se requiera como adyuvante una dosis terapéutica efectiva de melatonina en condiciones de vida amenazantes como las causadas por Fiebre hemorrágica del Ébola (FHE) y fiebre hemorrágica del dengue (FHD), donde los autores creen que los altos niveles plasmáticos de melatonina podrían corregir favorablemente los problemas de sangrado, promover la producción de plaquetas y glóbulos rojos, mejorar un efecto protector general sobre el sistema nano y capilar, reducir la equimosis, las petequias y la fiebre generalizada, inhibir significativamente la producción y reducir la acumulación de citoquinas proinflamatorias con un considerable beneficio para los tejidos, órganos y para el cuerpo entero que se encuentran en condiciones de salud tan críticas. Una solución diluida de melatonina también se puede aplicar tópicamente a las superficies del cuerpo como la piel o las membranas mucosas de la cavidad oral, siempre que se requiere localmente una dosis terapéutica eficaz de melatonina.

La solución diluida de melatonina de la invención, es la alternativa más preferible a las formas sólidas de melatonina (cápsula de gelatina blanda y tableta) para pacientes que no colaboran como en el caso de hospitalización/condición (unidad de cuidado intensivo (UCI), ventilación asistida, esclerosis múltiple), para grupos de edad (pacientes pediátricos y ancianos), incapacidad no psiquiátrica (dificultad para tragar como obstrucción traqueal y esofágica), trastornos autísticos, pacientes con capacidad reducida o trastornos cognitivos (enfermedad de Alzheimer, Parkinson, enfermedades psiquiátricas), para mencionar algunas de ellas, factores que afectan la adherencia al tratamiento del paciente. Cuando la solución diluida de

melatonina de la invención se entrega por vía oral, directamente en la boca, (como líquido o gota o preferiblemente en la forma nebulizada) con el objetivo de entregar con precisión una dosis precisa de melatonina, ingerido naturalmente con la saliva, la dosis unitaria de melatonina en la solución se estudiará cuidadosamente en relación con la concentración de melatonina, el volumen entregado y el grupo de edad del paciente.

Sin embargo, los autores también han experimentado que la mejor precisión de la dosificación del dispositivo y que la entrega más conveniente en la boca se puede lograr mediante el uso de un sistema de bomba medida, que entrega el volumen requerido, y un actuador de cooperación adecuado, preferiblemente un dispensador de boca, ambos actualmente disponibles en el mercado. Por lo tanto, mientras que en un adulto el rango de dosis actual de melatonina (por la noche) generalmente varía de 3 mg (o múltiplos de los mismos) hasta 10 mg (en la noche), cuando se utiliza una dosis de bomba 0,1 ml de solución, con el fin de entregar un rango de 1-3 mg de melatonina por accionamiento de la bomba, la concentración de melatonina en la solución diluida de la invención estará en el rango de 10 a 30 mg/ml.

Teniendo en cuenta que la dosis recomendada en adolescentes que sufren de trastornos del espectro autista (TEA) y trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) varía de 1 a 3 mg de melatonina (o múltiplos) por la noche [Malow B, 2012; Humphreys J, 2014][95[96], una solución diluida a una concentración de melatonina 10 mg/ml, cuando se administra por medio de una bomba medida de 0,1 ml, entrega convenientemente 1 mg por cada actuación. Si en ambos casos se utiliza otra bomba que dispensa un volumen diferente y/o se desea una dosis diferente de melatonina por acción, la concentración de melatonina se puede ajustar proporcionalmente en la solución diluida de la invención, ya que será fácilmente evidente para un artesano ordinario.

A pesar de que PED tiene muy poco olor y en soluciones acuosas es casi insípido y melatonina también, en vista de que la solución diluida de la invención está destinada a la administración oral en adolescentes y pacientes de edad, los autores consideraron que también se prestará atención a la aceptabilidad del sabor, pero básicamente a los caracteres fisicoquímicos y por lo tanto la solución diluida final deberá presentar las siguientes especificaciones y caracteres:

(a) la melatonina permanecerá disuelta homogéneamente en la solución diluida, de modo que la sustancia activa de la solución a granel y los ingredientes no reaccionen con los ingredientes auxiliares;

(b) la solución diluida deberá ser biológicamente aceptable para la mucosa esofágica oral y superior (pH de 6,5 a 7,5); La solución diluida de la invención se mantendrá estable, clara y transparente sin precipitados ni contaminantes, de modo que sería aconsejable evitar incompatibilidades químicas, como el uso de parabenos con un pH superior a 8,0, utilizando ácido etilendiaminotetraacético y algunas de sus sales que atacan el calcio de la dentina ("Manual de receptores farmacéuticos", 4a edición, 2003, Asociación Farmacéutica Americana, página 226, párrafo 14, Seguridad) o el uso de colorantes para evitar pérdida de color durante el envejecimiento y así sucesivamente. Después de varios intentos, los autores han encontrado que la solución diluida de la invención se puede lograr convenientemente mediante el uso de:

(c) el agua de grado farmacéutico como diluyente básico, pero con la adopción de precauciones especiales como el envase de unidades especiales y las condiciones de almacenamiento del producto terminado para evitar la foto-degradación y la hidrólisis;

(d) cantidades moderadas de ingredientes auxiliares como glicerol (E422), xilitol (E967), neohesperidina DC (E959), pero también sorbitol (E420), manitol (E421), advantamo (E969) sacarina y sus sales (E054), acesulfamo potásico (E950), sal de aspartamo-acesulfamo (E062), como edulcorantes no cariogénicos.

Opcionalmente, también se pueden añadir a la solución esencias o sabores naturales. No obstante, en lo que respecta a la calidad y cantidad de los mismos indicados en los Ejemplos, estos ingredientes auxiliares son el resultado de una cuidadosa optimización que no se llevó a cabo de forma casual, sino que también implica una actividad inventiva, independientemente de que no se reivindiquen.

La invención también abarca el proceso de producción de la solución diluida, como se definió anteriormente, y la dispensación de la misma en el embalaje final listo para su distribución, venta y uso por el paciente, dicho proceso comprende la siguiente secuencia de operaciones:

1) la transferencia en un tanque de disolución con agitador y sistema de pesaje (con un sistema de encamisado aproximadamente a 15°C y con nitrógeno como gas de purga) del volumen (o peso) medido con precisión de la solución a granel;

(2) añadir medio volumen (o peso) de agua de grado farmacéutico y remover a la homogeneización (alrededor de 15 minutos);

3) añadir rápidamente la cantidad exacta de ingredientes auxiliares ya disueltos en aproximadamente una décima (1/10) parte de la mezcla de agua/etanol de grado farmacéutico y mezclar hasta a la homogeneización (alrededor de 10 minutos);

4) añadir la cantidad restante de agua de grado farmacéutico hasta el volumen (o peso) definido y mezclar a la homogeneización (alrededor de 15 minutos);

(5) sacar una muestra con fines analíticos (ensayo de melatonina), cerrar y purgar con nitrógeno el tanque de disolución hasta que la solución diluida se libere por el laboratorio de control de calidad.

La solución según la invención se prepara en la secuencia antes indicada utilizando los métodos y la maquinaria utilizados convencionalmente en el sector farmacéutico, pero esto no es obligatorio ni limita la invención en sí. De hecho, los ajustes siguen siendo posibles con respecto a la formulación específica utilizada, el volumen global del lote a preparar, obteniendo sin embargo un resultado que es comparable en general con el de la propia invención. La solución diluida de la invención se prorratea en un sistema de embalaje adecuado para su conservación, distribución, venta y uso posterior por parte de los pacientes. El recipiente preferido para la solución diluida de melatonina es un envase multidosis (preferiblemente una botella de vidrio ámbar o material plástico con película de protección UV externa) equipado con una bomba de operación a presión, equipada con un erogator dispensador (de tipo y forma variable) que permite al paciente dirigir la solución entregada dentro de la cavidad oral o en la lengua.

El sistema de dosificación para uso oral, y también para uso tópico, deberá preservar principalmente la melatonina de la luz y de la oxidación (la fotodegradación y la oxidación son la fuente más común de degradación en los productos comerciales actuales que contienen melatonina) [Andrisano et al, 2000][88], con el fin de garantizar un período de estabilidad desde la fecha de producción hasta un período de almacenamiento de 24 meses o incluso más, y también para proporcionar el sistema de dosificación más adecuado en relación con la dosis y el sitio de aplicación previstos. Por lo tanto, los nebulizadores especiales, como los basados en bombas dosificadoras de tecnología sin aire, actualmente disponibles en el mercado, equipados con boquilla o dispensador de garganta o basados en bolsa en tecnología de válvulas, equipados con un dispensador adecuado, son los preferidos como sistemas de entrega para la solución diluida de la invención. Las bombas dosificadoras también son muy adecuadas para entregar con precisión la cantidad de melatonina de la solución diluida, siempre que se destine a la dosis oral. La forma de dosificación farmacéutica basada en la solución diluida, tal como se definió anteriormente, se puede distribuir en un recipiente con un volumen que oscila entre 5 y 100 ml, preferiblemente de 10 a 20 ml. Un objeto adicional es proporcionar composiciones farmacéuticas como descrito arriba y más adelante, útil para los fines anteriores. Estos y otros objetos serán fácilmente evidentes para el artesano ordinario a partir de la consideración de la invención en su conjunto.

Estos ejemplos se proporcionan con el objetivo de ilustrar mejor la invención y, por lo tanto, no constituyen ninguna limitación de la invención en sí, siendo obvio que el espíritu y el alcance de la invención también incluyen cualquier otra modificación que sea obvia para la persona experta en la materia.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Preparación de 400 ml de solución a granel de melatonina 10% (100 mg/1 ml) y llenado de tubos de ensayo de 2,0 ml y viales de 5,0 ml (estériles).

Materiales:

MLT (ensayo 99,1%) lote comercial n. J94343002;
Aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado lote comercial n. J6142004;
Etanol (96 por ciento) disponible en el mercado lote n. BCBK8586.

La cristalería estéril según sea necesario; los materiales y contenedores fueron adquiridos de fabricantes cualificados y además aprobados por el control de calidad. Las cantidades se reportaron al 100% del ensayo. Se utilizó la sala limpia B equipada con cabina de flujo laminar aséptico (temperatura de 21ºC; sistema de iluminación con filtros UV).

Paso 1 - 40,36 g MLT y 40,0 g de aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado , ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocaron en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasaron bien para producir una masa homogénea pasada (alrededor de 15 minutos);

Paso 2 - 400,0 ml de etanol 96% se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (bajo vacío y usando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución mientras se obtenía una solución transparente (alrededor de 15 minutos). La solución a granel resultante se colocó en una botella de vidrio ámbar de 500 ml que estaba bien cerrada con un tapón adecuado, protegido de la luz; se obtuvieron alrededor de 370 ml de solución a granel (rendimiento 92,5%).

Paso 3 - 3,0 ml de muestra de la solución a granel sacada del frasco con pipeta adecuada se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT).

Paso 4 - Una vez que la solución a granel ha recibido aprobación (ensayo melatonina 100.2 mg/1 ml), la solución a granel se pasó a través de un filtro de membrana esterilizante y la solución filtrada se recogió en una botella de vidrio cerrada; la solución estéril se distribuyó adecuadamente bajo cabina de flujo laminar aséptico (el nitrógeno se utilizó como gas de purga de proceso) de acuerdo con el siguiente programa de llenado:

- n. 70 tubos de ensayo de vidrio tipo I (Ph. Eur.) se llenaron con 2,0 ml de solución a granel y se cerraron con tapones de polipropileno, etiquetados y envueltos con película de aluminio y colocados en una caja oscura protegida de la luz;

- n. 40 viales estériles de vidrio (10 ml de capacidad) Tipo I (Ph. Eur.) se llenaron con 5,0 ml de solución a granel, cerrados con tapón, firmemente sellado con una cápsula de aluminio, etiquetado y colocados en una caja oscura protegida de la luz. Se envió una muestra de cada tipo (tubo y vial) al control de calidad; soluciones aprobadas por las pruebas fisicoquímicas (claras y transparentes), ensayo de melatonina (99,7 mg/ml), cumplió con el rango de pH (6,5-7,5) y el volumen de llenado, con prueba de esterilidad y endotoxinas bacterianas (rendimiento acumulativo 85%). Los contenedores liberados se utilizaron parcialmente para las pruebas de estabilidad programadas

Ejemplo 2

Preparación de 200 ml de solución a granel de melatonina 10% (100 mg/1 ml) y llenado aséptico de 1,0 ml de solución a granel en ampollas de vidrio ámbar.

Materiales:

MLT (ensayo 99,1%) lote comercial n. J94343002;
Polioxil-*15*-idroxiestearato lote comercial n. 10063047G0;
Etanol (96 por ciento) lote comercial n. BCBK8586V.

La cristalería estéril según sea necesario; los materiales y contenedores fueron de fabricantes cualificados y, además, probados por el control de calidad.

Todas las cantidades fueron reportadas al 100% de los ensayos.

Sala limpia B y Sala limpia A equipada con máquina de llenado de ampollas con estación de llenado bajo flujo laminar (temperatura 21°C; sistema de iluminacióncon filtros UV; área y equipo antideflagrantes).

Paso 1 - 20,18 g MLT y 20,0 g de polioxil-*15*-idroxiestearato , ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocaron en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasaron bien para producir una masa pastosa homogénea (alrededor de 15 minutos);

Paso 2 - 200,0 ml de etanol (96 por ciento) se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (bajo vacío y utilizando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución mientras se obtenía una solución transparente (alrededor de 15 minutos). La solución a granel resultante se colocó en una botella de vidrio ámbar de 250 ml bien cerrada con un tapón adecuado, protegido de la luz (alrededor de 175 ml; rendimiento de los pasos 87,5%).

Paso 3 - 3,0 ml de muestra de la solución a granel sacada del frasco con una pipeta adecuada se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT).

Paso 4 - Una vez que la solución a granel recibió la aprobación (ensayo melatonina 99.7 mg/1 ml), la solución a granel se pasó a través de un filtro de membrana esterilizante y la solución filtrada se recogió

directamente en una botella de vidrio. La botella de vidrio con la solución estéril se pasó a la Sala Limpia A, donde la solución a granel se distribuyó mediante una máquina de llenado en ampollas de vidrio ámbar estériles (1,5 ml de capacidad) de vidrio Tipo I (Ph. Eur.). 128 ampollas de vidrio ámbar se llenaron con 1,0 ml de solución a granel; las ampollas fueron selladas automáticamente por la máquina, colocadas en ampollas de plástico y transferidas a un cuarto obscuro protegida de la luz. Dos ampollas fueron enviadas al control de calidad; soluciones pasaron los ensayos fisicoquímicos (claras y transparentes), el ensayo de melatonina (99,3 mg/ml), la solución cumplió con el rango de pH (6.5-7.5) y volumen de llenado, y con las pruebas de esterilidad y endotoxinas bacterianas. El producto liberado (n. 126 ampollas; rendimiento acumulativo 63%) se utilizó parcialmente para las pruebas de estabilidad programadas.

Ejemplo 3

Preparación de 500 ampollas de vidrio de 1,0 ml de solución estéril a granel (100 mg de melatonina/1 ml) de 500 ml de solución a granel de melatonina 10%.

Materiales:

MLTEP (ensayo 100,4%) lote comercial n. 140003;
Lote comercial de aceite de ricino hidrogenado 40 polietolilado n. 23660956P0;
Lote comercial de etanol anhidro n. C1311142.

La cristalería estéril según sea necesario; los materiales y contenedores fueron de fabricantes cualificados y, además, aprobados por el control de calidad.

Todas las cantidades están expresadas reportando a un ensayo del 100 %.

Sala de limpieza B y Sala de limpieza A equipada con máquina de llenado de ampollas con estación de llenado bajo flujo laminar (temperatura 21°C; sistema de iluminación con filtros UV).

Paso 1 - 49.80 g MLTEP (100.4%) y 50,0 g de aceite de ricino hidrogenado 40 polietolilado, ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocaron en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasaron bien para producir una masa pastosa homogénea (alrededor de 15 minutos);

Paso 2 - 500,0 ml de etanol anhidro se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (antes bajo vacío y luego usando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución hasta obtener una solución clara y transparente (alrededor de 15 minutos). La solución a granel resultante se colocó en una botella de vidrio ámbar de 750 ml que estaba bien cerrada con un tapón adecuado y protegida de la luz (alrededor de 465 ml; rendimiento 93%).

Paso 3 - 3,0 ml de muestra de la solución a granel tomada del frasco con una pipeta adecuada se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLTEP).

Paso 4 - Una vez que la solución a granel recibió la aprobación (ensayo melatonina 99.9 mg/1 ml), la solución a granel se pasó a través de un filtro de membrana esterilizante y la solución filtrada se recogió directamente en una botella de vidrio. La botella de vidrio con la solución estéril se pasó a la sala limpia A, donde la solución a granel se distribuyó mediante una máquina de llenado (bajo flujo de laminador de nitrógeno) en ampollas de vidrio ámbar (1,5 ml de capacidad) de vidrio tipo I (Ph. Eur.). Un total de 403 ampollas de vidrio ámbar se llenaron con 1,0 ml de solución a granel; las ampollas fueron selladas automáticamente por la máquina, colocadas en un contenedor de ampollas de plástico y transferidas a un cuarto oscuro protegida de la luz.

Dos ampollas fueron enviadas a control de calidad; las soluciones pasaron los ensayos fisicoquímicas (claras y transparentes), el ensayo de melatonina (99,6 mg/ml), cumplieron con el rango de pH (6.5-7.5) y el volumen de llenado, con la prueba de esterilidad y endotoxinas bacterianas. Los contenedores liberados (n. 401 ampollas; rendimiento acumulativo 80,2%) y se utilizaron parcialmente para las pruebas de estabilidad programadas.

Ejemplo 4

Preparación de 1000 viales de vidrio de 5,0 ml de solución estéril a granel de melatonina 10% (100 mg melatonina/1 ml).

Materiales:

MLTEP (ensayo 100,4%) lote comercial n. 140003;

Aceite de ricino hidrogenado polioxilo 15 lote comercial n. 659832970VO;
Etanol 96% estéril lote comercial n. 14073-02.
Cristalería estéril según sea necesario; los materiales y contenedores fueron comprados de fabricantes calificados y además aprobados por el control de calidad. Todos los materiales son de fabricantes calificados y han sido probados previamente por el control de calidad.

Sala de limpieza B y Sala limpia A equipada con máquina con estación de llenado bajo flujo laminar (temperatura 21°C; sistema de iluminación con filtros UV).

Paso 1 - 498.00 g MLTEP (100.4%) y 500.0 g de aceite de ricino hidrogenado de polioxilo 15 , ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocan en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasan adecuadamente para producir una masa pastosa homogénea (alrededor de 20 minutos);

Paso 2 - 5000.0 ml de etanol 96% estéril se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (en primer lugar bajo vacío y luego usando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución hasta obtener una solución clara y transparente (alrededor de 20 minutos). La solución a granel resultante se colocó en una botella de vidrio ámbar de 10 lt que está bien cerrada con un tapón adecuado y protegida de la luz (alrededor de 4820 ml; rendimiento escalonado 96,4%).

Paso 3 - Se envió al laboratorio aproximadamente 3,0 ml de muestra de la solución a granel retirada del frasco con una pipeta adecuada para su análisis (ensayo MLTEP).

Paso 4 - Una vez que la solución a granel ha recibido aprobación (ensayo melatonina 99.9 mg/ml), la solución se pasó a través de un filtro de membrana esterilizante y la solución filtrada se recogió directamente en una botella de vidrio ámbar. La botella de vidrio con la solución estéril se pasó en cámara esteral clase A donde la solución a granel se distribuyó mediante máquina de llenado bajo flujo laminar de nitrógeno en viales (10 ml de capacidad) de vidrio tipo I (Ph. Eur.). Un total de 958 viales de vidrio se llenaron con 5,0 ml de solución a granel; los viales fueron cerrados automáticamente con tapón perforado de neopreno y se fijaron al vial con una cápsula de aluminio. Los viales fueron etiquetados y transferidos a un contenedor oscuro al abrigo de la luz.

Un vial fue enviado a control de calidad; la solución pasó los ensayos fisicoquímicos (clara y transparente), ensayo de melatonina (100.2 mg/ml), cumplió con el rango de pH (6.5-7.5) y volumen de llenado, con pruebas de esterilidad y endotoxinas bacterianas. El producto liberado: n. 955 viales rendimiento acumulado 99,5%. Se utilizaron parcialmente algunos viales para los ensayos de estabilidad programados.

Ejemplo 5

Especificaciones que caracterizan el envase de farmacia y de la solución industrial a granel de melatonina 10% para el uso i.v. de la invención.

Por la presente se enumeran las especificaciones que caracterizan el envase unitario de melatonina 10% solución para la administración i.v., siendo los parámetros más típicos de la solución la concentración del 10% de melatonina y el rango fisiológico de pH entre 6.0-7.5 los parámetros.

Ensayos	Métodos	Especificaciones
1. Aspecto	Control visual	Libre de partículas extrañas
2. Claridad	Ph. Eur. 2.2.1	Solución clara
3. Color	Ph. Eur. 2.2.2	Solución incolora
4. Volumen extraíble	Ph. Eur. 2.9.17	100-105% del volumen declarado
5. pH	Ph. Eur. 2.2.3	6.0 – 7.5
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina	BP	≤ 0.5%

- cada impureza desconocida Sustancias relacionadas totales		≤ 0.1% ≤ 1.0%
7. Microbiología	Ph. Eur. 2.6.1	Estéril
8. Endotoxinas	Ph. Eur. 2.6.14	≤ 30 E.U./ml
9. Ensayo CL (melatonina 10% = 100mg/ml)	BP	95.0 – 105.0% del contenido declarado
Ph. Eur. - Farmacopea Europea Edición actual BP - Farmacopea Británica actual Edición		

Ejemplo 6

Estudios de estabilidad del envase de farmacia y de solución industrial a granel de melatonina 10% de la invención para uso i.v..

Protocolo de estudio

Forma farmacéutica: 1.0 ml ampolla de vidrio ámbar

Lote n.°: ampollas del Ejemplo 2

(A) Tipo de estabilidad: acelerada

Condiciones: 40°C ± 2ºC / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 6 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3 y 6 meses.

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	Claro	Claro	Claro
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Ligeramente opalescente
4. Volumen extraíble	1.0 ml (100-105%)	103%	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.9	6.8	7.1
6. Sustancias relacio-nadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas tota-les	≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	< 0.5% < 0.1% < 1.0%	< 0.5% < 0.1% < 1.0%	0.4% 0.2% 0.6%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---
8. Endotoxinas	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	99.3%	99.6%	98.9%

(B) Tipo de estabilidad: a largo plazo

Condiciones: 25°C ± 2°C / R.H. 60% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 12 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3, 6, 9 y 12 meses (continua durante 12 meses)

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen extraíble	1.0 ml (100-105%)	103%	---	---	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.9	6.8	7.0	6.9	6.8
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas totales	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% <0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---	----	Estéril
8. Endotoxinas	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---	---	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	99.3%	99.2%	99.4%	99.0%	99.1%

(C) Tipo de estabilidad: choque criogénico

Condiciones: -10°C ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 3 días

Intervalos: 0 (inicial), día 2 y día 3

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	Día 2	Día 3
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Precipitado parcial blanco; se disuelve por completo a t° ambiente y con ligero temblor
2. Claridad	Solución clara	Clara	Clara	Ver aspecto
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen extraíble	1.0 ml (100-105%)	103%	---	---

5. pH	6.0 – 7.5	6.9	---	----
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desco-nocida Sustancias relacionadas totales	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 --- --- ---	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---
8. Endotoxinas	≤30 E.U./ml	Cumple	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0-105.0%	99.3%	---	99.5%

Ejemplo 7

Estudios de estabilidad del envase de farmacia y de solución industrial a granel de melatonina 10% de la invención para uso i.v..

Protocolo de estudio 5,0 ml vial multidosis

Forma farmacéutica: Vial de 5,0 ml (multidosis)

Lote n.°: viales del ejemplo 4

(A) Tipo de estabilidad: acelerada

Condiciones: 40°C ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 6 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3 y 6 meses.

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	clara	clara	clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	blanquecino
4. Volumen extraíble	5.0 ml (100-105%)	104%	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.8	6.8	6.9
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas total	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 0.5% 0.3% 0.8%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---
8. Endotoxinas	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	100.2%	99.9%	99.1%

(B) Tipo de estabilidad: a largo plazo

Condiciones: 25°C ± 2°C/R.H. 60% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 12 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3, 6, 9 y 12 meses (en curso durante 12 meses)

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen extraíble	5.0 ml (100-105%)	104 %	---	---	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.8	7.0	6.9	6.8	6.9
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitripta-mina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas total	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% <0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---	----	Estéril
8. Endotoxinas	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---	---	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	100.2%	99.9%	100.3%	99.7%	99.8%

(C) Tipo de estabilidad: choque criogénico

Condiciones: -10°C ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 3 días

Intervalos: 0 (inicial), día 2 y día 3

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	Día 2	Día 3
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforman	Conforman	Precipitado blanco parcial; se disuelve por completo en la habitación t° y con ligero temblor
2. Claridad	Solución clara	clara	clara	No está completamente clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen extraíble	5.0 ml (100-105%)	104%	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.8	---	----

6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas totales	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 --- --- ---	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7. Microbiología	Estéril	Estéril	---	---
8. Endotoxina	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---	---
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	100.2%	---	99.7%

(D) Tipo de estabilidad: En uso (descontinuado)

Condiciones: 25°C ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 8 días

Intervalos: 4 retiros cada uno a intervalos de 2 días

Ensayos	Especificacio-nes	Tiempo 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	clara	clara	clara	clara	clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen extraíble	5.0 ml (100-105%)	104%	---	---	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.8	6.7	6.9	6-7	6-8
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxi-tripta-mina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas totales	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 --- --- ---	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 --- --- ---	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7.Microbiología	Estéril	Estéril	---			Estéril
8. Endotoxinas	≤ 30 E.U./ml	Cumple	---			
9. Ensayo CL (melatonina)	95.0-105.0%	100.2%	99.8%	99.3%	99.7%	99.1%

Ejemplo 8

Preparación de 2000 ml de solución oral de melatonina (25 mg MLT/ml).

Materiales:

MLT (ensayo 99,1%) lote comercial n. J94343002;

Lote comercial de aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado n. 23660956P0;
Etanol 96% lote comercial n. 14073-02.

Ingredientes auxiliares:
Glicerol (E422) producto comercial: 10,0%;

Xilitol producto comercial (E967): 7,0%;

Sacarina sal de sodio producto comercial (E054): 0,15%;

Esencia de cereza producto comercial: 4,0%;

Agua purificada producto comercial

La cristalería según sea necesario; los ingredientes, el recipiente (botella de vidrio ámbar de 38 ml) y el tapón son de fabricantes cualificados y, además han sido aprobados por el control de calidad. Todas las cantidades se refieren al 100% del ensayo.

Cámara estéril B equipada con máquina dosificadora para botellas (temperatura 21°C; sistema de aclarado con filtros UV).

Preparación de 500 ml de solución a granel (Solución A)

Paso 1 - 50.45 g MLT (ensayo 99.1%) y 50,0 g de aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado, ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocaron en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasaron bien para producir una masa pastosa homogénea (alrededor de 15 minutos);

Paso 2 - 500,0 ml de etanol 96 por ciento se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (antes bajo vacío y luego usando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución mientras se obtiene una solución clara y transparente (alrededor de 15 minutos). La solución a granel resultante se coloca en una botella de vidrio ámbar de 3000 ml que está bien cerrada con un tapón adecuado, al abrigo de la luz (alrededor de 465 ml; rendimiento escalonado 93,0%).

Paso 3 - 3,0 ml de muestra de la solución a granel anterior tomada del frasco se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT: 98,8 mg/ml).

Paso 4 - Preparación de 1500 ml de ingredientes auxiliares (Solución B) En un tanque de agitación de laboratorio de 5 litros (acero inoxidable) los siguientes ingredientes auxiliares (calculados para producir 2000 ml de solución oral concentrada final) glicerol 200 g, xilitol 140 g, sodio sacarinato 3.0 g se mezclaron bien en 1500 ml de agua purificada hasta la disolución completa.

Paso 5 - Preparación de la solución oral concentrada (teórica 2000 ml). 465 ml de solución a granel (factor de corrección del ensayo de melatonina de 98,8/100 = 459 ml de melatonina 100%) se colocó en un tanque de agitación de laboratorio de acero inoxidable y la esencia de la cereza (8,0 g) se disolvió en primer lugar en la solución a granel A y se agitó para completar la disolución. A continuación se añadieron y mezclaron 1395 ml de solución a granel B (en peso), que representa el 75% de la solución final, para producir el volumen final de 1854,0 ml de solución oral concentrada.

Paso 6 - 3,0 ml de muestra de la solución diluida retirada del frasco se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT: 24,95 mg/ml).

Paso 7 - Una vez que la solución oral concentrada recibió la aprobación, se pasó a través de un filtro de membrana y el filtrado se recogió directamente en una botella de vidrio ámbar adecuada. El frasco que contiene la solución diluida se pasó a la cámara estéril B, donde la solución se distribuyó mediante una máquina dosificadora en botellas de vidrio ámbar (38 ml de capacidad) a partir de vidrio tipo I (Ph. Eur.). Se obtuvieron un total de 51 frascos de vidrio llenos de 30,0 ml de solución diluida dosificada a 25 mg de MLT/ml; las botellas se cerraron automáticamente con una tapa de seguridad adecuada a prueba de niños. Las botellas fueron etiquetadas y transferidas a una caja oscura protegida de la luz.

Dos botellas completas fueron enviadas al control de calidad; la solución pasó los ensayos fisicoquímicas (clara y transparente), ensayo de melatonina (24,90 mg/ml), cumplió con el rango de pH (6,5-7,5), el volumen de llenado y con prueba de enumeración microbiológica (TAMC max 10^{-2} CFU/g; TYMC max 10 CFU/g). El producto fue embalado en una caja plegable junto con un vasito de plástico dosificador para adaptar la dosis de la solución de acuerdo con su uso.

El producto liberado (n. 49 botellas; rendimiento acumulado 74%) se utilizaron parcialmente para los ensayos de estabilidad programadas.

Ejemplo 9

Estudios de estabilidad del envase de farmacia y de solución industrial a granel de melatonina para uso oral del Ejemplo 8 de la invención - botella multidosis de 30,0 ml.

Protocolo de estudio

Forma farmacéutica: 30,0 ml (25 mg MLT/ml) botella de vidrio ámbar (multidosis)

Lote n.°: botella del ejemplo 8

(A) Tipo de estabilidad: acelerada

Condiciones: 40°C ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 6 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3 y 6 meses.

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	Clara	Clara	Clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen medio (vial)	30.0 - 31.5 ml	31.2 ml	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.9	7.0	6.9
6 Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas total	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 0.3% 0.2% 0.5%
7. Microbiología(CFU/g) - TAMC - TYMC	 ≤ 10^{-2} ≤ 10	 ≤ 10^{-2} ≤ 10	---	 ≤ 10^{-2} ≤ 10
8. Ensayo CL (melatonina)	95.0 –105.0%	99.7%	99.3%	99.2%

(B) Tipo de estabilidad: a largo plazo

Condiciones: 25°C ± 2°C / H.R. 60% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 12 meses

Intervalos: 0 (inicial), 3, 6, 9 y 12 meses (en curso durante 12 meses)

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	clara	clara	clara	clara	clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen medio (frasco)	30.0 – 31.5 ml	31.2 ml	---	---	---	---
5. pH	6.0 – 7.5	6.9	7.0	6.8	7.1	6.9
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas total.	 ≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%	 < 0.5% < 0.1% < 1.0%
7. Microbiología (CFU/g) - TAMC - TYMC	 ≤ 10^{-2} ≤ 10	 ≤ 10^{-2} ≤ 10	 --- ---	 --- ---	 --- ---	 ≤ 10^{-2} ≤ 10
8. Ensayo CL (melatonina)	95.0 – 105.0%	99.7%	100.2%	99.6 %	99.1%	99.4%

(C) Tipo de estabilidad: En uso (continuación)

Condiciones: 25° ± 2°C / H.R. 75% ± 5% (almacenamiento con temperatura controlada)

Duración: 30 días

Retiro: 1 ml una vez al día

Intervalos: análisis al final de cada semana

Ensayos	Especificaciones	Tiempo 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1. Aspecto	Libre de partículas	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
2. Claridad	Solución clara	clara	clara	clara	clara	clara
3. Color	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
4. Volumen medio	30.0 – 31.5 ml	31.2 ml	---	---	---	---

(frasco)						
5. pH	6.0 – 7.5	6.9	6.8	7.0	6.9	7.1
6. Sustancias relacionadas - 5-metoxitriptamina - cada impureza desconocida Sustancias relacionadas totales	≤ 0.5% ≤ 0.1% ≤ 1.0%	< 0.5% < 0.1% < 1.0%	--- --- ---	--- --- ---	--- --- ---	< 0.5% < 0.1% < 1.0%
7.Microbiología (CFU/g) - TAMC - TYMC	≤ 10^{-2} ≤ 10	≤ 10^{-2} ≤ 10	--- ---	--- ---	--- ---	≤ 10^{-2} ≤ 10
8. Ensayo CL (melatonina)	95.0–105.0%	99.7%	100.1%	99.6%	99.2%	98.7%

Ejemplo 10

Preparación instantánea de 10 frascos de 500 ml de infusión intravenosa de cloruro sódico (solución diluida de melatonina 0,2 mg/1 ml)

Materiales:

n. 10 ampollas de vidrio (100 mg/1.0 ml) del Ejemplo 3;

n. 10 botellas comerciales por 500 ml de infusión intravenosa de cloruro sódico.

Jeringas desechables estériles (2 ml de capacidad)

Cabina de seguridad de flujo laminar vertical (temperatura 21°C; sistema de iluminación con filtros UV).

Paso 1 - El operador pasó con precisión un paño húmedo con etanol alrededor del recipiente de cada una de las 10 botellas comerciales de Infusiones intravenosas de cloruro de sodio y las colocó en la cabina de seguridad de flujo laminar donde se abrieron los sellos de protección de plástico y se abrieron y quitaron.

Paso 2 - Cada ampolla de vidrio de solución a granel (100 mg melatonina/1 ml) del Ejemplo 3 se abrió uno por uno, el líquido se retiró separadamente de cada ampolla de vidrio por medio de la jeringa desechable y la aguja se utilizó para perforar el tapón de goma de cada botella de cloruro de sodio para inyectar dentro de la botella la solución a granel retirada de cada ampolla. Se aspiraba una pequeña porción (aproximadamente 1 ml) de la perfusión de cloruro sódico y se reinyectaba de nuevo para recuperar la solución a granel del cilindro y el pistón de la jeringa. La jeringa se extrajo definitivamente del tapón de goma y se deshizo, mientras que la cubierta de protección de plástico fue reinstalada por presión sobre la botella de vidrio y la solución diluida preparada. Se envió un frasco de perfusión de 500 ml al control de calidad; la solución diluida pasó loe ensayos fisicoquímicos (clara y transparente), el ensayo de melatonina (1,02 mg/ml), cumplió con el rango de pH (6,5-7,5) y con pruebas de esterilidad y endotoxinas bacterianas.

El producto liberado (n. 9 viales; rendimiento acumulativo 90%) se utilizó parcialmente para el estudio farmacocinético programado.

Ejemplo 11

Preparación de 200 frascos de nebulización (15,0 ml de solución diluida 10 mg/ml - 1 mg de accionamiento MLT/0.1 ml) a partir de solución a granel de melatonina 10%.

Materiales:

MLT (ensayo 99,1%) lote comercial n. J94343002;

Aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado lote comercial n. 23660956P0;

Etanol 96 por ciento lote comercial n. 14073-02.

Ingredientes auxiliares:

Glicerol (E422) producto comercial; cantidad: 10,0%;

Xylitol (E967) producto comercial; cantidad : 7,0%;

Sacarina sal de sodio (E054) producto comercial; cantidad : 0,15%;

Esencia de menta producto comercial; cantidad : 4,0%;

Agua purificada de producción interna.

La cristalería según sea necesario; los materiales (bomba dosificadora 0,1 ml y actuador), los ingredientes y recipientes (botella de vidrio de 17 ml) son de fabricantes calificados y, además, son aprobados por el control de calidad. Todas las cantidades son reportadas al 100% de ensayo.

Cámara estéril B equipada con máquina dosificadora para botellas (botella de 17 ml de capacidad que coopera con bomba dosificadora de 0,1 ml con aplicador oral) (temperatura 21°C; sistema de iluminación con filtros UV).

Preparación de 300 ml de solución a granel (Solución A)

Paso 1 - 30,27 g MLT (ensayo 99,1%) y 30,0 g de aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado, ambos pesados exactamente con una balanza de precisión, se colocaron en un mezclador de acero inoxidable a escala de laboratorio y se amasaron bien para producir una masa pastosa homogénea (alrededor de 15 minutos);

Paso 2 - 300,0 ml de etanol 96 por ciento se añadieron a la masa pastosa dentro de la mezcladora (antes bajo vacío y luego usando nitrógeno como gas de purga) y se agitaron lentamente para completar la disolución para obtener una solución clara y transparente (alrededor de 15 minutos). La solución a granel resultante se coloca en una botella de vidrio ámbar de 500 ml que está bien cerrada con un tapón adecuado, al abrigo de la luz (alrededor de 275 ml; rendimiento escalonado 91,6%).

Paso 3 - 3,0 ml de muestra de la solución a granel retirada del frasco se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT: 98,7 mg/ml).

Paso 4 - Preparación de 2400 ml de ingredientes auxiliares (Solución B). En un tanque de agitación de laboratorio de 5 litros (acero inoxidable) se mezclaron bien los siguientes ingredientes auxiliares de glicerol 270 g, xilitol 189 g, sacarina sal de sodio 4,0 g en 2400 ml de agua purificada hasta la disolución completa.

Paso 5 - Preparación de la solución diluida (teórica 2665 ml). 270 ml de solución a granel (factor de corrección del ensayo de melatonina de 98,7/100) se colocó en un tanque de agitación de laboratorio de acero inoxidable y la esencia de menta (9,6 g) se disolvió en primer lugar en la solución a granel A y se movió para completar la disolución. A continuación se añadieron y mezclaron 2395 ml de solución a granel B (en peso, que representa el 90% de la solución a corregida A) para producir el volumen final de 2665,0 ml de solución diluida.

Paso 6 - 3,0 ml de muestra de la solución diluida retirada del frasco se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT: 10,2 mg/ml).

Paso 7 - Una vez que la solución a granel recibió la aprobación, la solución se pasó a través de un filtro de membrana y la solución filtrada se recogió directamente en una botella de vidrio ámbar adecuada. El frasco que contiene la solución diluida se pasó a la cámara limpia B, donde la solución se repartió mediante una máquina de llenado en botellas de vidrio ámbar (17 ml de capacidad) de vidrio tipo I (Ph. Eur.). Se obtuvieron un total de 152 botellas de vidrio llenas con 15,0 ml de solución diluida; la botella se cerró automáticamente mediante el engarce en el cuello de la botella de la bomba dosificadora y se instaló también el actuador oral cooperante. Las botellas fueron etiquetadas y transferidas a una cuarto oscuro a abrigo de la luz.

Dos botellas completas fueron enviadas al control de calidad; la solución pasó los ensayos fisicoquímicos (clara y transparente), el ensayo de melatonina (10,7 mg/ml), cumplió con el rango de pH (6,5-7,5), el volumen de llenado y con la prueba de enumeración microbiológica (TAMC max 10^{-2} CFU/g; TYMC max 10 CFU/g); funcionalidad y dosificación del dispositivo completo fueron también aprobadas.

El producto liberado (n. 150 frascos nebulizadores; rendimiento acumulado 75%) se utilizó parcialmente para las pruebas de estabilidad programadas.

Ejemplo 12

Preparación de 200 frascos de nebulización (10,0 ml de solución/dosificación 3 mg MLT/0.2 ml de soplo) a partir de solución a granel de melatonina 10%.

Al operar de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo anterior 11 se utilizaron los siguientes productos y cantidades para producir 100 ml de solución diluida de melatonina 1,5 mg /0,1 ml.

Materiales:

MLTEP (ensayo 100,4%) lote comercial n. 140003;

Polioxil-15-hidroxiestearato lote comercial n. 10063047G0;

Etanol 96 por ciento lote comercial n. 14073-02.

Ingredientes auxiliares:

Glicerol (E422) producto comercial; cantidad: 10,0%;

Xylitol (E967) producto comercial; cantidad : 7,0%;

Neohesperidina DC (E959) producto comercial; cantidad : 0,05%;

Esencia de fresa producto comercial ; cantidad : 4,0%;

Agua purificada en producción interna.

La cristalería según sea necesario; los materiales (dosificación de bombas 0,2 ml y actuador), los ingredientes y recipientes (botella de vidrio de 17 ml) son de fabricantes cualificados y, además, son aprobados por el control de calidad. Todas las cantidades son reportadas al 100% de ensayo.

Preparación de 300 ml de solución a granel (Solución A)

Paso 1 - 30,0 g MLTEP (100,4%) y 30,0 g polioxil-15-hidroxiestearato,

Paso 2 - 300,0 ml de etanol 96 por ciento se utilizaron para producir 290 ml de solución a granel A.

Paso 3 - Ensayo MLTEP de solución a granel: 100,5 mg/ml.

Preparación de 1720 ml de ingredientes auxiliares (solución B)

Ingredientes auxiliares utilizados glicerol 200 g, xilitol 140 g, neohesperidina DC 0,1 g se mezclaron en 1720 ml de agua purificada.

Paso 4 - Preparación de la solución diluida (teórica 2000 ml). La esencia de fresa (8,0 g) se disolvió en 290 ml de solución a granel A. 1710 ml (en peso) de la solución B se añadieron lentamente y se mezclaron para producir el volumen final de 2000 ml de solución diluida.

Paso 5 - 3,0 ml de muestra de la solución diluida retirada del frasco se envió al laboratorio para su análisis (ensayo MLT: 15,3 mg/ml).

Paso 6 -Se obtuvieron un total de 149 botellas de vidrio rellenadas con 10,0 ml de solución diluida.

Dos botellas de vidrio completas fueron enviadas al control de calidad; la solución pasó los ensayos fisicoquímicos (clara y transparente), ensayo de melatonina (15,2 mg/ml), cumplieron con el rango de pH (6,5-7,5), con volumen de llenado y con prueba de enumeración microbiológica (TAMC max 10^{-2} CFU/g; TYMC max 10 CFU/g); funcionalidad y dosificación del dispositivo completo también fueron aprobadas. El producto liberado (n. 147 botellas de nebulización; rendimiento acumulativo 73%) se utilizó parcialmente para las pruebas de estabilidad programada.

Ejemplo 13

Efecto protector de la melatonina en un modelo de infección de ERBOV inducida experimentalmente en el ratón.

Prólogo

Varios modelos animales han sido desarrollados recientemente para la EVD utilizando primates no humanos (NHP) y roedores, que son cruciales para entender la fisiopatología y desarrollar diagnósticos, vacunas y terapias. Los macacos de Rhesus y cynomolgus son modelos representativos de infección por filovirus, ya que presentan síntomas notablemente similares a los observados en humanos. Sin embargo, los modelos NHP tienen problemas prácticos y éticos que limitan su uso experimental. Además, no hay cepas endogámicas y manipuladas genéticamente de NHP. También se han desarrollado modelos de roedores como ratón, conejillo de indias y hámster. Sin embargo, estos modelos de roedores requieren la adaptación del virus para producir enfermedad letal y no reflejan todos los síntomas de la infección por filovirus humano. Puesto que la melatonina es un modificador de respuesta biológica (inmunomodulador) que se relaciona también con el sistema endocrino, en presencia de condiciones alteradas melatonina ayuda a activar, aumenta o contribuye a restaurar las funciones inmunes normales en los mamíferos. El mecanismo de acción es multifacético y se desarrolla por medio del eje pineo-intestinal, pero también a nivel de receptores MT y cascadas moleculares de órganos, en lugar de dirigirse a proteínas virales o secuencias genéticas, de modo que los efectos protectores se evalúen en modelos animales pequeños en lugar de cultivos *in vitro* con una respuesta inmunológica reducida o ausente. Sin embargo, se ha diseñado un estudio abierto (sin producto de referencia), ya que no hay ningún medicamento aprobado por alguna Autoridad de Salud para el tratamiento de la afección de la EVE. La ventaja parece que las vías antivirales celulares de inmunidad innata no están sujetas a los cambios mutacionales que caracterizan a la EBOV, lo que sugiere que, incluso ante la mutación viral, la melatonina modificadora natural que activa en cualquier caso la inmunidad innata, es probable que siga mostrando actividad biológica sostenida por la defensa del órgano y celular.

Materiales y métodos

Medicamentos y dosis

La solución de melatonina (Ejemplo 2 por vía oral y Ejemplo 5 por i.v.) se diluyó adecuadamente y administró a diferentes niveles de dosis de melatonina (50, 100 y 150 mg/Kg/día) por i.v. (mediante el uso de bomba de infusión en miniatura) o por vía oral (por sonda), según el ciclo circadiano conocido de los animales, a los 30 minutos después del desafío y continuando durante 15 días. Un pretratamiento oral de dos días antes del desafío se realizó también en las dos dosis más altas.

Modelo animal

Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo internacional en relación con el código de prácticas para el alojamiento y el cuidado de los animales utilizados en el procedimiento científico. A los animales se les dio una semana de aclimatación en el nivel de bioseguridad del isolator 4 (BSL-4) antes de entrar en el experimento para excluir cualquier otra patología en curso que pudiera alterar el experimento. Los animales admitidos (Bulb/c macho, 9-10 semanas de edad) se dividieron en 9 grupos de 6 ratones cada uno. Un grupo (n.1) fue utilizado como control absoluto (no desafiado y no tratado), mientras que 8 grupos de ratones fueron infectados al mismo tiempo por una sola inoculación subcutánea de 100 PFU del virus del Ebola adaptado al ratón (0,2 ml de PBS). La supervivencia se observó durante 16 días.

Diseño y resultados del estudio

Grupo	n. (*)	Tratamiento Producto	Dosis mg/kg Peso corporal	Ruta Admin.	Duración después del desafío (días)	Supervivencia en el día 16
1	6	Ninguno	Control	--	--	6/6
2	6	Salino	Salino	IV	15	0/6
3	6	MLT	50	IV	15	4/6
4	6	MLT	100	IV	15	5/6

5	6	MLT	100	OS	15	5/6
6	6	MLT	100	OS	P 2 + 15	6/6
7	6	MLT	150	IV	15	6/6
8	6	MLT	150	OS	15	6/6
9	6	MLT	150	OS	P 2 + 15	6/6
(*) varones 9-10 semanas de edad P = Pretratamiento (2 + 15 días)						

Resultados

La supervivencia se ha considerado como el parámetro para monitorear los efectos de protección de la melatonina frente a la condición inducida por el virus del Ebola en el modelo animal. Efectos beneficiosos parciales se observaron en la dosis de 50 mg/Kg/día de melatonina. La supervivencia completa contra la infección por EBOV se logró experimentalmente a partir de 100 mg/kg/día con 2 días de pretratamiento oral y en todos los demás casos (IV y oral) al régimen de dosis de 150 mg/Kg/día durante el tratamiento de 15 días. Los hallazgos anteriores son la demostración de que la solución de melatonina de la invención ha provocado una respuesta inmunológica adecuada que produjo la eficacia y protección deseadas frente a la infección inducida. Sin embargo, el pretratamiento oral de melatonina a partir de 100 mg/Kg/día ha demostrado mejorar constantemente la tasa de supervivencia, confirmando así la posibilidad de utilizar el nivel de dosis más baja de melatonina también para uso profiláctico en profesionales de la salud y trabajadores de la salud resultantes frecuentemente infectados mientras asisten a pacientes con sospecho o confirmado EVD. Finalmente este estudio confirmó los datos conocidos que los niveles de régimen de alta dosis de melatonina que van desde 50 Para 150 mg/Kg/día son absolutamente bien tolerados en mamíferos.

Ejemplo 14

Efecto protector de la melatonina en el modelo de ratón del virus del dengue (DENV) infección inducida experimentalmente.

El desarrollo de modelos animales de infección y enfermedad del virus del dengue (DENV) ha sido un desafío, ya que la epidemia de DENV no infecta naturalmente las especies no humanas. Los primates no humanos (NCP) pueden sostener la replicación viral en los tipos celulares relevantes y desarrollar una respuesta inmune robusta, pero no desarrollan enfermedades manifiestas. Por el contrario, ciertos modelos de ratón inmunodeficientes infectados con cepas DENV adaptadas al ratón muestran signos de enfermedad grave similar al síndrome de "pérdida vascular" observado en el dengue grave en humanos. Los modelos de ratón humanizados pueden sostener la replicación de DENV y mostrar algunos signos de enfermedad, pero se necesita un mayor desarrollo para validar la respuesta inmunitaria. Clásicamente, los ratones inmunocompetentes infectados con DENV no manifiestan enfermedad. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que un nuevo modelo con altas dosis de DENV desarrolla signos hemorrágicos después de la infección. En general, cada modelo tiene sus ventajas y desventajas y es diferentemente adecuado para estudios de patógenos del dengue e inmunopatógenos y/o ensayos preclínicos de medicamentos antivirales y vacunas.

A diferencia de los medicamentos antivirales, melatonina, un modificador de la respuesta biológica, en presencia de condiciones alteradas ayuda a activar, aumenta la activación de las funciones inmunitarias normales en los mamíferos, y el mecanismo de acción es multifacético trabajando a través del eje pineo-intestinal, pero también a nivel de receptores y cascadas moleculares celulares, en lugar de apuntar a proteínas virales o secuencias genéticas, los efectos protectores se evaluarán en modelos animales pequeños, en lugar de *cultivos in vitro* con una respuesta inmunológica reducida o ausente. Sin embargo, se ha diseñado necesariamente un estudio abierto (sin producto de referencia), ya que ningún medicamento ha sido aún aprobado por la Autoridad de Salud para el tratamiento del dengue

Materiales y métodos

Medicamentos y dosis

La solución concentrada de melatonina de la invención (Ejemplo 2 por i.v.) se utilizó adecuadamente después de dilución y se administró en dos niveles altos de diferentes dosis (75, 100 y 150 mg/Kg/día) por i.v. (mediante el uso de bomba de infusión en miniatura) de acuerdo con el ciclo circadiano de los animales, a los 30 minutos después del desafío y continuando durante los 19 días consecutivos.

Modelo animal

Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo internacional en relación con el código de prácticas para alojamiento y el cuidado de los animales utilizados en el experimento científico. A los animales se les ha dado una semana de aclimatación antes de entrar en el experimento para excluir cualquier otra patología en curso que pudiera alterar el experimento. Los animales admitidos (varones de ratones AG129, 5-6 semanas de edad) se dividieron en 4 grupos de 10 ratones cada uno. Un grupo (n. 1) fue utilizado como control, mientras que 3 grupos de ratones fueron infectados al mismo tiempo por una sola inoculación intraperitoneal (i.p.) de 105 PFU de cepa DENV-2 adaptada al ratón D2S10. Se ha monitoreado la supervivencia durante 20 días.

Diseño del estudio y resultados

Grupo	n. (*)	Tratamiento Producto	Dosis mg/kg Peso corporal	Ruta Admini-straciòn	Tratamiento (días) después del desafío	Supervivencia en el día 20
1	10	salino	salino	IV	19	0/6
2	10	MLT	75	IV	19	4/6
3	10	MLT	100	IV	19	6/6
4	10	MLT	150	IV	19	6/6
(*) V/H 5 6 semanas de edad						

Resultados

La supervivencia se ha considerado como el parámetro para monitorear los efectos de protección de la melatonina versus la condición inducida por el virus del dengue en el modelo animal. Efectos beneficiosos parciales se observaron en la dosis de 75 mg/Kg/día de melatonina. La supervivencia completa contra la infección por DENV se logró experimentalmente tanto en el régimen de dosis de 100 y 150 mg/Kg/día durante el tratamiento de 19 días. Los hallazgos anteriores son la demostración de que la solución de melatonina de la invención ha provocado una respuesta inmunológica adecuada que produjo la eficacia y protección deseadas frente a la infección inducida. Finalmente este estudio confirmó también los datos publicados que los niveles de régimen de alta dosis de melatonina que van de 75 a 150 mg/Kg/día son absolutamente bien tolerados en mamíferos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Yeleswaram K et al. J Pineal Res,1997;22:45-51

[2] Waldhauser F et al. Neuroendocrinology,1984;39:307-313.

[3] Shirakawa S et al. Psychiatry and clinical neur,1998;52:266-267.

[4] Fourtillan JB et al. Biopharm Drug Dispos,2000;21:15-22.

[5] Vakkuri O et al. Life Sciences,1985;37 (5):489-495.

[6] DeMuro RL et al. Journal of Clinical Pharmacology, 2000;40:781-784.

[7] Kopin IJ et al. Journal of Biological Chemistry,1971;236:3072-3075.

[8] Vitte PA et al. J Pineal Res,1998;5(5):437-453.

[9] Mallo C et al. European J of Clinical Pharm,1990;38:297-301.

[10] Le Bars D et al. Nuclear Medicine and Biology,1991;18(3),357-362.

[11] Facciolá G et al. European J of Clinical Pharm,2001;56(12):881-888.

[12] Ma X et al. Drug Metabolism and Disposition,2005;33(4):489-494.

[13] Reiter EJ et al. Polish Journal of Pharmacology,2004;56:159-170.

[14] Vijayalaxmi TCR Jr et al. J Clin Oncol,2002;20:2575-2601.

[15] Korkmaz A et al. Mol Med 2009;15:43-50.

[16] Bonnefont-Rousselot D et al. Toxicology 2010;278:55-67.

[17] Megdal SP et al. Eur J Cancer,2005;41:2023-2032.

[18] Wettenberg L. Reprod Nutr Dev 1999;39(3):367-382.

[19] Karamitri A et al. Mol Endocrinol, 2013 Aug;27(8):1217-33.

[20] Glaser S et al. Hepatobiliary Surg Nutr, 2104 Feb 3;3(1):35-43.

[21] Reiter RJ et al. Hum Reprod Update 2014 Mar-Apr;20(2):293-307.

[22] Tordjman S et al. Int J Mol Sci. Oct 2013;14(10):20508.20542.

[23] Lin L et al. Int J Mol Sci,2013 Jul; 14(7): 14574-93.

[24] Wade AG et al. Clinical Investigations in Aging, 2014 June;9:947-961.

[25] Coto-Montes A et al. Mol Cell Endocrinol 2012 Sep 25;361(1-2):12-13.

[26] Suzuki K et al. Parkinson's Disease,2011,Article ID 219056,10 pages.

[27] Dowling GA et al. Sleep Med, 2005 Sept;6(5):459-66.

[28] Srinivasan V et al. Ther Adv Neurol Disord,2011;4(5):297-317.

[29] Sterniczuk R et al. Clinical Interventions in Ageing,2014;9:969-977.

[30] Adamczyk-Sowa M et al. Nuerochem Res,2014;39:1585-1593.

[31] Kinnukan JA et al. Gastroenterol Hepatol (NY),2013;9(11):718-727.

[32] Gitto E et al. Pediatr Res,2001;50:756-760.

[33] Sahib AS et al. Ann Burns Fire Disasters,2010;23:199-205.

[34] Dominguez-Rodriguez A et al. Contemp Clin Trials,2007;28:532-539.

[35] Caumo W et al J Pain, 2009;10:100-108.

[36] Borazan H et al. J Anesth,2010;24:155 160.

[37] Gitto E et al. J Pediatr Surg,2004;39:184-189.

[38] Jarratt J et al. Anaesth Intensive Care,2011 Mar;39(2): 171-81.

[39] Maitra S et al. Saudi J Anaesth,Jul-Sep 2013;7(3):315-321.

[40] Wang YM et al. Cancer Chemother Pharm,2012 May;69(5):1213-20.

[41] Seely D et a.. Integr Cancer Ther,2012 Dec;11(4):293-303.

[42] Ghielmini M et al. British Journal of Cancer,1999;80(7): 1058-1061.

[43] Bennekul K et al. World J Hepatol,Apr.27,2014;6(4):230-242.

[44] Martin V et al. British J Cancer,2013;108:2005-2012.

[45] Carrillo-Vico A et al. Int J Mol Sci,2013;14:8638-8683.

[46] Aversa Set al. J Matern Fetal Neonatal Med,2012;25:207-221.

[47] Ismail SA et al. Anesth Analg,2009;108:1146 1151.

[48] Berk L et al. Int J Radiation Oncology Biol Phys,2007;68:852 857.

[49] Gitto E et al. Oxidative Medicine and Cell Longevity,2013,ID 980374.

[50] Alonso-Alconada D et al. Int J Mol Sci,2013,14,9379-9395.

[51] Lane EA et al. J Clin Endocrinol Met, 1985;61(6):1214-6.

[52] Bagci S et al. Paediatr Crit Care Med,2012 Mar;13(2):e120-3.

[53] Moroni B et al Critical Care,2010,14(Suppl 1):p494 (30th Int Symp on Int Care and Em Med., Brussels 9-12 March 2010).

[54] Alan K et al. Critical Care 2010,14(Suppl 1):p39 (30th Int Symp on Int Care and Em Med., Brussels 9-12 March 2010).

[55] Srinivasan V et al. J Crit Care 2012 Dec;25(4):656.e1-6.

[56] Galley H et al. J Pineal Res,2014;56:427-438.

[57] Shinozuka K et al. Int J Mol Sci,2013,14,8924-8947.

[58] Manev H et al. FASEB J,1996;10(13):1546-1551.

[59] Kilic E et al. J. Cereb. Blood Flow Metab,1999 May,19, 511-516.

[60] Pei Z et al. Stroke,2003;34:770-775.

[61] Sinha K et al. Eur J Pharmacol,2001;428:185-192.

[62] Lee EJ et al. J Pineal Res,2005;38:42-52.

[63] Lee MY et al. J Pineal Res, 2007;42:297-309.

[64] Kondoh T et al. Life Sci,2002;72:583-590.

[65] Chen TY ,et al. J. Pineal Res,2006;40:242-250.

[66] Kilic E et al. J. Pineal Res. 2008,45, 142-148.

[67] Brzezinski. N. Engl J Med,1997;336:186-195.

[68] Pei Z et al. Neurosci Lett,2002;318:141-144.

[69] Pei Z et al. J Pineal Res,2002;32:168-172.

[70] Borlongan CV et al. FASEB J,2000;14:1307-17.

[71] Reiter RJ et al. Exp Biol Med,2005;230:104-117.

[72] Generali JA et al. Hosp Pharm,2013;48(5):378-379.

[73] Wilhelmsen M et al. J Pineal Res,2011 Oct;51(3):270-7.

[74] Azevedo de Zanette S et al. BMC Pharm and Toxicology,2014; 15:40.

[75] Kurdl MS et al. Indian J of Anaesthesia,Mar-Apr-2013;57(2):133-144.

[76] Holley JL et al. Am J Kidney Dis,1992 Feb;19(2):156-61.

[77] Walker S et al. Am J Kidney Dis,1995 Nov;26(5):751-6.

[78] Masaumi M et al. Int J Prev Med,2013 Feb;4(2);165-172.

[79] Koch BC et al. Am J Kidney Dis,2009;53:658-64.

[80] Russcher M, et al. Frontiers in Bioscience,2012 June 1;17:2644-2656.

[81] Sharma U. Indian J Nephrol,2013 Jul-Aug;23(4):269-270.

[82] Aperis G et al. J Ren Care,2012 Jun;38(2): 86-92.

[83] Edalat-Nejad M. et al. Indian J Nephrol,2013 Jul-Aug;23(4):264-269.

[84] Jaworek J et al. Histol Histopathol,2014;29:423-431.

[85] Katkar GD et al. J Pineal Res,2014;56:295-312.

[86] Shida CSet al. J Pin Res,1994;16:198-201.

[87] Kandimalla KK et al. J Control Release,1999;61:71-82.

[88] Andrisano V eta al. J Pharm Biomed Anal,2000;23:15-23.

[89] Daya S et al. J Pineal Res,2001;31:155-158.

[90] Dayal PP et al. AAPS Pharm Sci,2003;5:T3017.

[91] Lee BJ et al. Arch Pharm Res,1997;20:560-565.

[92] Lee BJ et al. Arch Pharm Res,1998;2:503-507.

[93] Cavallo A et al. J Pineal Res,1995,18(2),90-92.

[94] Cheung RT et al. Journal of Pineal Research,2006 Nov;41(4):337-43.

[95] Malow BA et al. J Autism Dev Disord 2012;42(8): 1729-37.

[96] Humphreys JS et al. Arch Dis Child 2014;99:114-118.

REIVINDICACIONES

1. Una solución parenteral a granel sustancialmente libre de agua que consiste en una preparación líquida anhidra de melatonina que contiene al menos:

a) melatonina (MLT) cuantitativamente a la concentración igual o superior al 10,0% peso/volumen de la solución a granel;

b) un derivado polietoxilado (PED) seleccionado entre el hidroxiesteato de macrogol glicerol, preferentemente aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado , o aceite de ricino polioxil, preferentemente aceite de ricino polioxil 35, o hidroxiesteato de macrogol glicerol, también hidroxiesterato polioxil 15, o una mezcla de mismo; mientras que la relación de masa MLT/PED es 1 : 1 (peso/peso); Y

c) etanol 10 volúmenes.

2. Una solución parenteral de acuerdo a la reivindicación 1 caracterizada en que la proporción de MLT/PED/Etanol en la solución a granel es 1: 1: 10 (p/p/v), mientras que cada ingrediente puede variar aún más en el rango de aproximadamente 90% a aproximadamente 110% para cada ingrediente.

3. Una solución parenteral de acuerdo a las reivindicaciones 1 y 2 caracterizada por no tener un agente dispersante o tensioactivo o agentes conservantes.

4. Una solución parenteral de acuerdo a la reivindicación 1 caracterizada en que**:**

a-1) melatonina (MLT) es melatonina extra pura (MLTEP) a la concentración exacta de 10.0% peso/volumen de la solución a granel;

b-1) el derivado polietoxilado (PED) es hidroxiesterato de macrogol glicerol (aceite de ricino hidrogenado 40 polietoxilado), con restricción del valor nominal a 40-45, o hidroxi esterato de macrogol 15vglicerol (hidroxi esterato polioxil 15), con valor nominal 15; y

c-1) el etanol es etanol 96 por ciento o etanol anhidro;

5. Una solución parenteral de acuerdo a las reivindicaciones 1 a 4 caracterizada en que la melatonina extrapura (MLTEP) tiene un ensayo contenido no inferior al 99,0% y no superior al 101,0% calculado sobre la base seca, además de cumplir con el requisito de endotoxinas máximo 300 UI/gramo y con prueba de enumeración microbiológica TAMC max 10^{-2} CFU/g y TYMC max 10 CFU/g.

6. Una solución parenteral de acuerdo a la reivindicación 4 caracterizada por contener MLTEP a la concentración precisa de 10,0% de peso/volumen de la solución a granel, conteniendo 1,0 ml de la solución a granel exactamente 100 mg de MLTEP.

7. Una solución parenteral de acuerdo a cada una de las reivindicaciones anteriores de uso farmacéutico y clínico después de la dilución con líquidos, preferentemente para la administración intravenosa a seres humanos.

8. Un proceso para la preparación de la solución de acuerdo con cualquier persona de las reivindicaciones 1 a 6 que incluya los pasos de:

a) mezclar masas iguales de MLT o MLTEP y un PED en la proporción de 1 : 1 (peso/peso) y amasar bien para producir una masa pastosa;

b) disolver la masa pastosa MLT/PED o MLTEP/PED en 10 volúmenes de etanol, siendo la relación MLT/PED/Etanol o MLTEP/PED/Etanol 1 : 1: 10 (peso/peso/volumen).

9. Una solución parenteral de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 7 caracterizada por pasar la prueba de esterilidad, el requisito de endotoxinas máximo 300 UI/ml, para cumplir con un rango de pH dentro de 6.5-7.5 y un contenido de humedad inferior al 4.0%.

10. Una solución parenteral de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 6 caracterizada por ser envasada en una dosis unitaria o en un envase multidosis conteniendo de 0,5 a 20 ml de melatonina concentrada al 10,0% (p/v) equivalente a 10 mg de melatonina por 0,1 ml.

11. Una solución diluida parenteral que se puede obtener mezclando un volumen adecuado de la solución de acuerdo a la reivindicación 1 que incluye 100 mg de melatonina/1.0 ml con un líquido diluyente

compatible para inyecciones, preferentemente perfusión intravenosa de cloruro sódico, salina hipertónica de la fuerza deseada que incluye opcionalmente hixroxietil almidón.

12. Una porción de una solución parenteral de acuerdo a las reivindicaciones de 1 a 10 caracterizada en que la solución diluida a la concentración deseada de melatonina se obtiene mediante la mezcla de un volumen preciso de melatonina a 100 mg/1.0 ml con un volumen adecuado del líquido diluyente agua purificada para uso farmacéutico para producir un medicamento para uso enteral como mejor convenga cuando se requiera una dosis terapéutica efectiva de melatonina por la administración oral, incluyendo para fines profilácticos como puede ser dirigido.

13. Una dosis unitaria de una solución diluida de acuerdo a la reivindicación 11 para uso parenteral caracterizada en que la solución diluida suministra desde 0,01 mg/ml hasta 10 mg/ml de melatonina, preferiblemente de 0,1 mg/ml a 5,0 mg/ml, y de 0,1 mg a 1000 mg de melatonina/unidad de dosis, según corresponda, preferentemente de 0,5 mg a 100 mg.

14. Una solución diluida de acuerdo a la reivindicación 11 para su uso en perfusión intravenosa en la que 1,0 ml (100 mg de melatonina) en 500 ml de perfusión intravenosa de cloruro sódico se administra por vía intravenosa a los seres humanos a la dosis total de 100 mg durante 5 horas (20 mg de melatonina/hora) para producir niveles efectivos nocturnos de melatonina en la sangre durante en un rango de hasta 70 a 85 ng/ml.

15. Una solución diluida de acuerdo a la reivindicación 12, mientras que el medicamento enteral optimizado se caracteriza de que el líquido diluyente es agua para uso farmacéutico sin ningún ingrediente activo o que contiene una o más sustancias activas químicamente compatibles con melatonina.

16. La solución diluida de acuerdo a las reivindicaciones 13 y 14 para su uso para prevenir problemas de sangrado en los tejidos y órganos en condiciones críticas de salud como la fiebre hemorrágica del ébola (FHE) y la fiebre hemorrágica del dengue (FHD) y otras condiciones críticas de salud donde se requiere una administración parenteral de melatonina.

Figura 1

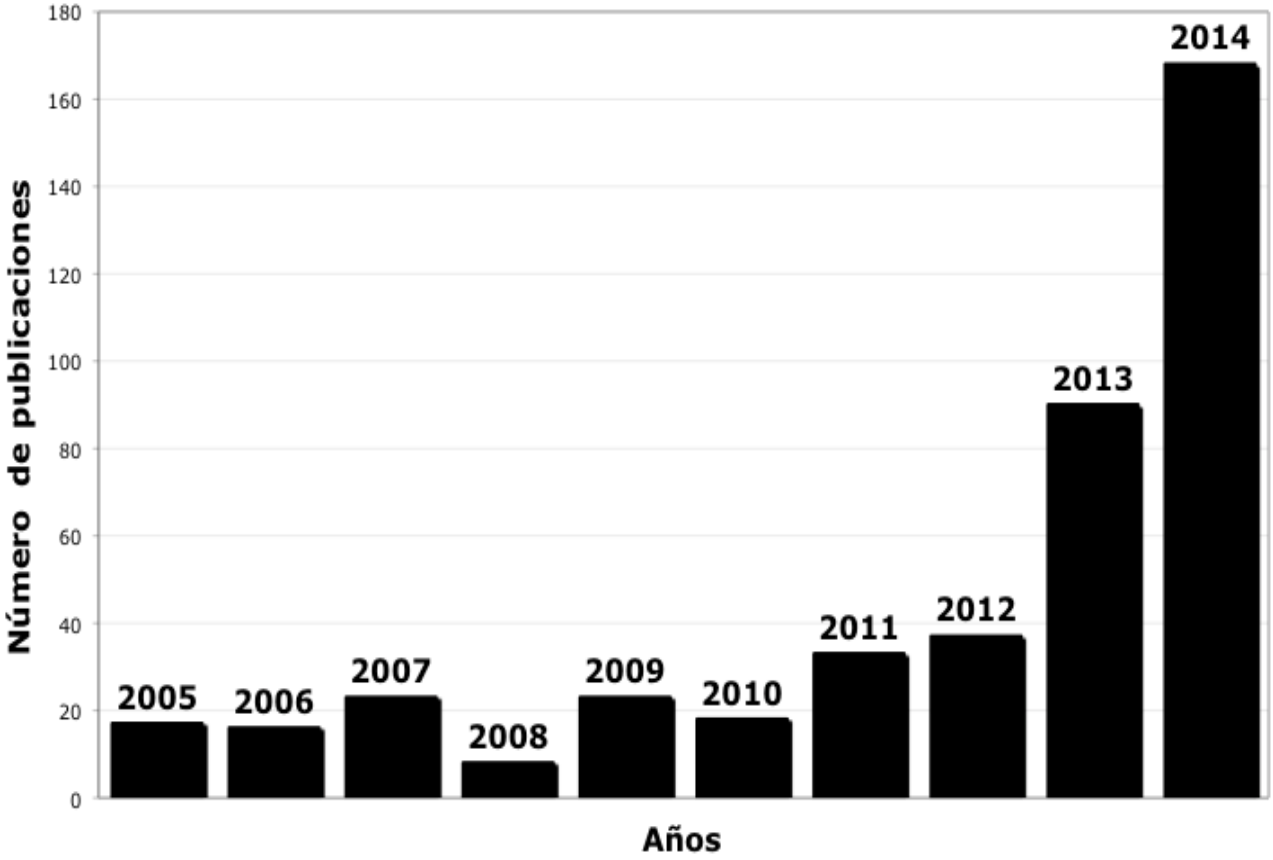
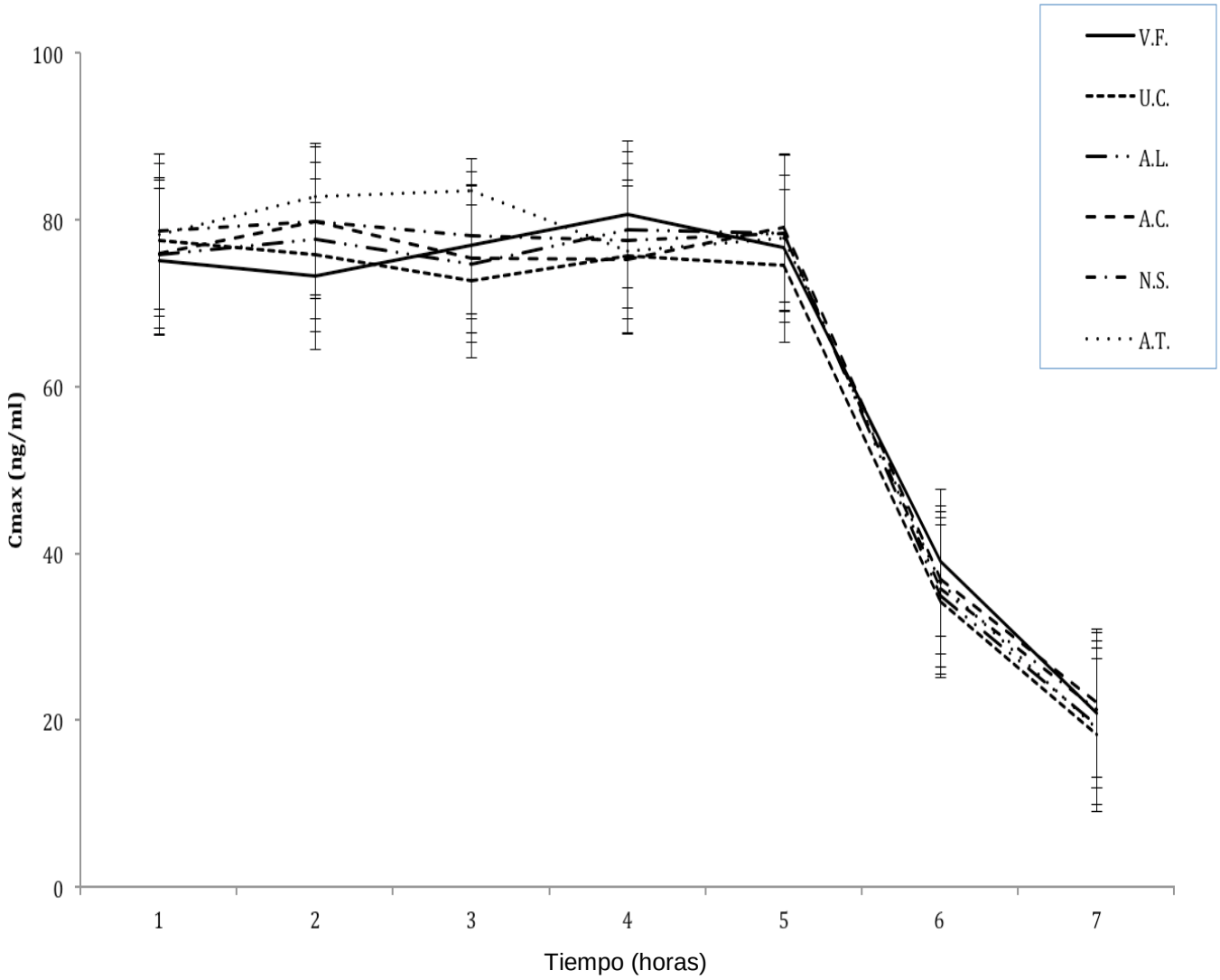

Número de publicaciones
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
Años

Figura 2


V.F.
U.C.
A.L.
A.C.
N.S.
A.T.
Cmax (ng/ml)
100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
5
6
7
Tiempo (horas)