



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0910368-6 B1



(22) Data do Depósito: 27/08/2009

(45) Data de Concessão: 28/01/2020

(54) Título: USO DE EDTA ASSOCIADO À TROMETAMINA E/OU UM OU MAIS FOTOINTENSIFICADOR(ES) E COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA

(51) Int.Cl.: A61K 31/14; A61K 31/19; A61K 31/195; A61K 31/352; A61K 31/473; (...).

(30) Prioridade Unionista: 28/08/2008 IT RM2008A000472.

(73) Titular(es): SOOFT ITALIA SPA.

(72) Inventor(es): MARCELLO STAGNI; EDOARDO STAGNI; MASSIMO FILIPPELLO; GIOVANNI CAVALLO; EUGENIO SODO.

(86) Pedido PCT: PCT IT2009000392 de 27/08/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/023705 de 04/03/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 12/01/2011

(57) Resumo: USO DE EDTA ASSOCIADO À TROMETAMINA E/OU UM OU MAIS FOTOINTENSIFICADOR(ES) E COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA Descreve o uso de intensificadores com possível riboflavina, bem como as composições correspondentes para o tratamento de ceratocone ou outras doenças corneana ectásicas por meio do método de ligação cruzada corneana.

"USO DE EDTA ASSOCIADO À TROMETAMINA E/OU UM OU MAIS FOTOINTENSIFICADOR(ES) E COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA".

[0001] A presente invenção está relacionada ao uso de intensificadores de absorção para a preparação de composições oftálmicas (em especial colírios) possivelmente contendo riboflavina, projetadas para embeber o estroma corneano sem ter de prosseguir, para obter a referida embebição, à remoção do epitélio corneano (deseptelização) na prática do tratamento do ceratocone ou outras doenças corneanas ectásicas por meio da ligação cruzada e também está relacionada às composições oftálmicas correspondentes para a técnica de ligação cruzada corneana.

[0002] O ceratocone é uma doença séria da córnea, uma vez que é uma distrofia progressiva não inflamatória que a cada ano afeta aproximadamente 50 pessoas a cada 100.000, geralmente pessoas jovens entre 10 e 20 anos de idade. O ceratocone é uma doença genética com uma frequência maior entre as mulheres e, por vezes, parece estar correlacionada a disfunções das glândulas endócrinas (hipófise e tireoide). Pode afetar ambos os olhos em aproximadamente 85% dos casos e tem uma evolução que pode variar de indivíduo para indivíduo.

[0003] No início dessa doença, aparece uma curvatura irregular que modifica a potência refratora da córnea, produzindo distorções de imagens e uma visão confusa de perto e de longe. O paciente reclama, em qualquer caso, de uma redução da visão, sobretudo da visão de longe. A visão continua a regredir de forma irreversível, com uma consequente necessidade de troca frequente de óculos e, por essa razão,

pode, a princípio, ser confundida com uma miopia associada ao astigmatismo.

[0004] Por conta da fraqueza estrutural congênita do estroma corneano devido à referida doença, após alguns anos a córnea progressivamente tende a se desgastar e se afinar na direção do ápice. Ocorre, então, uma curvatura irregular da córnea, que perde sua forma esférica e assume a forma característica de cone (ceratocone).

[0005] Usando o biomicroscópio é possível notar uma considerável redução na espessura da córnea no topo do ceratocone. Com o tempo, o topo do ceratocone se torna opaco por conta de uma alteração na nutrição dessa parte da córnea, o qual nas formas mais agudas pode apresentar uma curvatura corneana de mais de 62D e alcançar uma espessura corneana de até mesmo 446 µm.

[0006] Se a doença for negligenciada, o topo pode ulcerar com a consequente perfuração da córnea; aparecem dores, lacrimação e espasmo das pálpebras. Essas alterações da córnea devido ao ceratocone produzem uma alteração na disposição da proteína corneana, causando microcicatrices que distorcem ainda mais as imagens e, em alguns casos, impedem a passagem de luz, originando assim uma sensação ofuscante incômoda, sobretudo nas horas do dia em que o sol está baixo no horizonte (nascer do sol e pôr-do-sol).

[0007] Conforme já mencionado, para corrigir a visão torna-se necessário trocar de óculos com frequência. Somente após o uso do óculos ter sido comprovadamente insatisfatório, podem ser aplicadas lentes de contato rígidas em formas mais moderadas.

[0008] O real problema é originado quando a

córnea afetada pelo ceratocone passa por um considerável estreitamento ou se ocorre cicatrização seguida de lacerações da superfície corneana, tornando necessário, até mesmo, o transplante cirúrgico da córnea (ceratoplastia).

[0009] Em 2002 a assim chamada ceratoplastia lamelar foi introduzida na Itália para o tratamento do ceratocone, por meio da qual, na prática, a córnea não é substituída por inteiro, mas somente a espessura externa, isto é, a parte afetada pela doença.

[0010] No entanto, já em 1997 na Alemanha, na clínica oftálmica Carl Gustaw Carus da Universidade de Dresda, foi desenvolvida uma técnica nova e menos invasiva denominada "ligação cruzada corneana", que utiliza, em especial, riboflavina ativada por um laser UV; em 2005 essa técnica foi testada também na Itália e é até agora amplamente utilizada com sucesso em diversas clínicas de olhos italianas.

[0011] A ligação cruzada corneana é um método pouco invasivo que utiliza riboflavina ativada por um laser UV (366 nm); o referido método é indolor e é realizado em hospital diurno. A ligação cruzada possibilita o reforço da estrutura da córnea afetada pelo ceratocone através do entrelaçamento e do aumento nas ligações (ligação cruzada) entre as fibras do colágeno corneano. A partir dos estudos clínicos realizados, ficou provado que esse método é capaz de reduzir o astigmatismo associado ao ceratocone, assim como refrear ou interromper a evolução do ceratocone, assim evitando a necessidade de transplante de córnea. Outras doenças caracterizadas pela ectasia corneana também se beneficiam do tratamento utilizando o método de ligação cruzada.

[0012] A ligação cruzada corneana é

realizada aplicando uma anestesia local na córnea para fazer a abrasão do epitélio corneano (deseptelização) com um diâmetro de 8 a 9 mm. Isso é seguido por uma instilação frequente de 0,1% de uma solução oftálmica a base de riboflavina seguida, após 15 minutos, de irradiação com um emissor ultravioleta (UV-A) por 5 minutos, e, então, seguida de nova instilação e nova irradiação durante um total de 6 ciclos (30 minutos ao todo).

[0013] A riboflavina, em especial, o fosfato de riboflavina, que é normalmente usado na ligação cruzada corneana, é uma molécula hidrofílica fotossensitiva e fotopolimerizante com baixa capacidade de se difundir pelo epitélio e, por conseguinte, de alcançar o estroma corneano. É, portanto, necessário facilitar sua absorção e concluir a embebição do estroma corneano antes de dar início à irradiação com UV-A, por meio da remoção do epitélio corneano (deseptelização). Esse procedimento pode criar, embora raramente, complicações em um nível corneano, dor, além de ser um método que torna a tarefa do oculista mais difícil.

[0014] Seria, portanto, aconselhável aprimorar a absorção de riboflavina, ser ter de recorrer à deseptelização da córnea, por conseguinte, obtendo uma ligação cruzada corneana não invasiva com a eliminação ou a redução da anestesia e uma consequente cicatrização rápida sem dor ou possíveis complicações.

[0015] Além disso, seria aconselhável contemplar compostos que possam facilitar a absorção epitelial, mas que sejam providos de atividade igual ou superior à riboflavina na determinação da fotossensitização e fotopolimerização das fibrilas de colágeno; os referidos compostos devem, de preferência, ser ativados em intensidades

de luz próximas ao visível para superar os efeitos nocivos dos repetidos ciclos de irradiação UV necessários para a ativação da riboflavina.

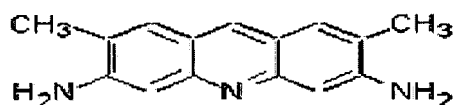
[0016] Foi descoberto de maneira surpreendente que administrar composições oftálmicas na córnea contendo intensificadores escolhidos dentre:

[0017] Biointensificadores (isto é, substâncias que favorecem a passagem da riboflavina ou de outras substâncias fotossensitivas e fotopolimerizantes através do epitélio corneano, permitindo a absorção pelo próprio estroma corneano), tais como, por exemplo, EDTA associados a trometamina, sais EDTA oftalmologicamente aceitáveis associados a trometamina, polissorbato 80, azone, cloreto de benzalcônio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de cetiltrimetilamônio, ácido láurico, mentol, metoxisalicilato, polioxietileno, glicolato de sódio, glicodeoxicolato de sódio, lauril sulfato de sódio, salicilato de sódio, taurocolato de sódio, taurodeoxicolato de sódio; e/ou

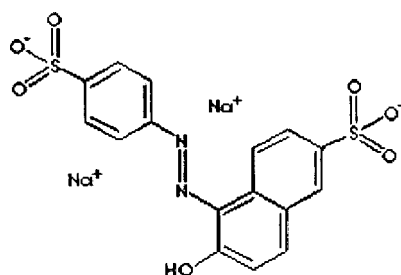
[0018] Fotointensificadores (isto é, substâncias fotossensitivas e fotopolimerizantes que podem ser imediatamente absorvidas pelo epitélio e que, como a riboflavina, também podem ser ativadas pela luz para formar uma ligação cruzada corneana), tais como, por exemplo, os corantes amarelo de acridina, amarelo de quinidina, azul de metileno e eritrosina, cujas estruturas são fornecidas abaixo:

Amarelo de acridina:

Absorção útil: 460 nm

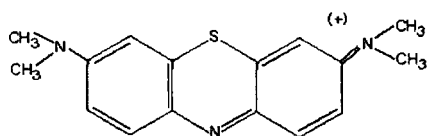


Amarelo de quinidina



Azul de metileno

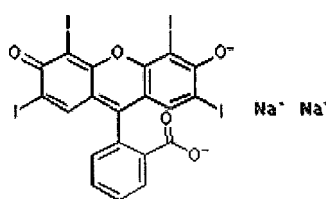
Absorção útil: 668 nm



Eritrosina B

2', 4', 5', 7' - Sal dissódico tetraiodofluoresceína

Absorção: 525 nm



Fórmula molecular:

$C_{20}H_6I_4Na_2O_5$

Peso molecular: 879,86

possivelmente associados à riboflavina, é obtida uma ligação cruzada corneana aprimorada por meio de uma irradiação próxima ao visível que é menos nociva, sem qualquer necessidade de

deseptelização.

[0019] A presente invenção, portanto, contempla a utilização dos intensificadores descritos acima, sozinhos ou em misturas variadas, possivelmente com riboflavina, para a preparação de composições oftálmicas a serem usadas para ligação cruzada no ceratocone ou em outras ectasias corneanas.

[0020] Os intensificadores, de acordo com a presente invenção, podem ser usados para aplicação diretamente sobre a córnea para ligação cruzada do ceratocone ou outras ectasias corneanas comprovadamente não citotóxicos.

[0021] É, ainda, assunto da presente invenção composições oftálmicas contendo os intensificadores mencionados acima, possivelmente associados à riboflavina; a referida composição oftálmica pode ser preparada de acordo com técnicas conhecidas e pode conter, especialmente:

- um ou mais biointensificadores com um ou mais fotointensificadores e possivelmente riboflavina;
- um ou mais biointensificadores, possivelmente com riboflavina;
- um ou mais fotointensificadores, possivelmente com riboflavina.

[0022] Após a administração ocular das composições descritas acima, contendo apenas um ou mais biointensificadores, ou, então, um ou mais fotointensificadores, é possível aplicar diretamente na córnea uma solução de uma ou mais substâncias fotossensitivas e fotopolimerizantes, em especial a riboflavina.

[0023] Os biointensificadores da presente invenção estão presentes em quantidades apropriadas em todas

as composições descritas acima, escolhidas entre 0,001% em peso e 5% em peso com relação à composição.

[0024] A EDTA tem sido amplamente utilizada para a inclusão nas formulações oftálmicas. Por exemplo, a patente Americana US 5.817.630 de Hofmann et al. descreve a incorporação de 0,05 peso para peso 0,5% em peso, de porcentagem EDTA em colírio glutatona, a patente Americana US 5.283.236 para Choiu descreve o uso de EDTA como agente de permeação de reforço pra a entrega sistemática de polipeptídeos através do olho, a patente Americana US 6.376.634 para Isaji et al. sugere que a EDTA podem ser eficazes em inibir a catarata secundária, a patente Americana US 6348508 para Denick Jr. et al. Descreve a EDTA como um agente sequestrante de íons metálicos de ligação.

[0025] Além de seu uso como um agente quelante, a EDTA também tem sido amplamente utilizada como conservante em lugar de cloreto benzalconico, como descrito, por exemplo, a patente Americana US 6.211.238 de Castillo et al. e a patente Americana US 6.265.444 de Bowman et al. divulgam o uso da EDTA como conservante e estabilizante. No entanto, a EDTA não tem sido aplicada topicamente em qualquer concentração significativa nas formulações oftálmicas devido à sua pobre penetração através do epitélio da córnea.

[0026] A capacidade do intensificador da presente formulação depende principalmente da associação de trometamina e EDTA, uma vez que os dois compostos formam juntos, um par de íons entre a carboxila não salificada de EDTA e a trometamina que possui uma notável capacidade de penetração de membrana.

[0027] Trometamina (Tris (hidroximetil) aminometano) é um álcool amino amplamente utilizado em vários produtos químicos, como cosméticos, soluções tampão industriais, componentes de composições farmacêuticas, devido à sua baixa toxicidade, é biologicamente inerte e é utilizado no meio intracelular e extracelular, como alcalinizante para a correção da acidose metabólica. Embora amplamente utilizada, a literatura clínica específica reportou apenas um caso de dermatite periorbital induzida por um gel contendo trometamina. (Nahas et al. Diretrizes para o tratamento da acidemia com THAM. Drogas de 1998. 55:191-224).

[0028] Dados experimentais têm salientado que, se a trometamina estiver presente de preferência entre 0,05% em peso e 0,5% em peso, e o EDTA estiver presente, de preferência, entre 0,05% em peso e 0,5% em peso a absorção de riboflavina é imediata.

[0029] As substâncias fotossensitivas e fotopolimerizantes (fotointensificadores), dentre as quais a riboflavina, da presente invenção, são usadas em quantidades apropriadas, escolhidas entre 0,001% em peso e 1% em peso com relação à composição.

[0030] Além disso, a riboflavina usada preferencialmente na presente invenção é o fosfato de riboflavina em quantidades apropriadas em todas as composições descritas acima; em especial está presente preferencialmente entre 0,05% em peso e 0,3% em peso da composição da presente invenção.

[0031] As composições oftálmicas da presente invenção podem ser preparadas na forma técnica de colírios, soluções oftálmicas, pomadas, e, em todo caso, em

todas as formas técnicas farmacêuticas que permitam uma aplicação na córnea de acordo com técnicas conhecidas; são fornecidos doravante exemplos como forma de ilustração, sem que isso signifique qualquer limitação da presente invenção.

[0032] Outros aspectos, as vantagens e as modificações no âmbito da invenção serão evidentes para aqueles hábeis na arte a que pertence o invento.

[0033] Formulações são reportadas abaixo, a dosagem dos componentes individuais é expressa em porcentagem de peso.

EXEMPLO 1

SOLUÇÃO PERMEABILIZANTE Dextran T.500 EDTA 0,1% Polissorbato 80 1% Trometamina 0,1%	3
Ingredientes	% em peso
DextranT500	15
EDTA de sódio	0,1
Polissorbato 80 1%	1
Trometamina	0,1
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	142MOs
PH	7,2
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 2

SOLUÇÃO PERMEABILIZANTE Dextran T500 EDTA 0,1% Trometamina 0,1	4
Ingredientes	% em peso
Sal de sódio desidratado de fosfato de riboflavina	0,147
DextranT500	15
EDTA de sódio	0,1
Trometamina	0,1

Continuação do Exemplo 2	
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	142MOs
PH	7,2
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 3

SOLUÇÃO PERMEABILIZANTE Dextran T500 EDTA 0,1% Trometamina 0,1	5
Ingredientes	% em peso
DextranT500	15
EDTA de sódio	0,2
Trometamina	0,2
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	142MOs
PH	7,2
Filtração esterilizada	Sim

Note que, quando a concentração de trometamina aumenta, é necessário aumentar NaH_2PO_4 o suficiente para garantir um pH de 7-7,2.

EXEMPLO 4

Preparação FOSFATO DE RIBOFLAVINA 0,147 % em peso Dextran T500 Amarelo de Quinolina 0,050%	E
Ingredientes	% em peso
Sal de sódio desidratado de fosfato de riboflavina	0,147
DextranT500	20
Amarelo de Quinolina	0,050
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g

Continuação do Exemplo 4	
Isotonicidade: hipotônico	139 mMOs
PH	7,2
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 5

Preparação FOSFATO DE RIBOFLAVINA HIPOTÔNICO 0,14 7 % em peso Dextran T500 Amarelo de Acridina 0,050%	F
Ingredientes	% em peso
Sal de sódio desidratado de fosfato de riboflavina	0,147
DextranT500	20
Amarelo de Acridina	0,050
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Continuação do Exemplo 5	
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	139 mMOs
PH	7,1
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 6

Preparação FOSFATO DE RIBOFLAVINA HIPOTÔNICO 0,14 7 % em peso Dextran T500 Eritrosina B 0,050%	G
Ingredientes	% em peso
Sal de sódio desidratado de fosfato de riboflavina	0,147
DextranT500	20
Eritrosina B	0,050
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	139 mMOs
PH	7,1
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 7

Preparação FOSFATO DE RIBOFLAVINA 0,147% em peso Dextran T500 Azul de Metileno 0,050%	H
Ingredientes	% em peso
Continuação do Exemplo 7	
Sal de sódio desidratado de fosfato de riboflavina	0,147
DextranT500	20
Azul de Metileno	0,050
Fosfato de sódio monobásico desidratado	0,067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0,285
NaCl	0,00
Água destilada	Até 100g
Isotonicidade: hipotônico	139 mMOs
PH	7,1
Filtração esterilizada	Sim

EXEMPLO 8

SOLUÇÃO PERMEABILIZANTE Dextran T500 EDTA 0.1% Trometamina 0.05%	I
Ingredientes	% w/w
Sal de sódio desidratado de fosfato de Riboflavina	0.147
Dextran T500	15
Sodio EDTA	0.1
Trometamina	0.05
Fosfato de sodio monobasico desidratado	0.067
fosfato de sodio dibasico desidratado	0.285
NaCl	0.00
Água destilada	Up to 100 g
Isotonicidade: hipotonico	142MOs
PH	7.2
Esterilizado por filtragem	Sim

[0034] Deve ser ressaltado que as formulações de 1 a 8 também podem ser isotônicas ou mesmo hipertônicas com a adição de cloreto de sódio suficiente (ou outro osmólito) para alcançar a referida finalidade.

[0035] Os dados experimentais dos estudos

realizados pelo requerente são apresentados abaixo.

ESTUDO EXPERIMENTAL 1

[0036] No presente estudo, foi avaliada a possibilidade de realizar uma CXL trans-epitelial utilizando uma formulação contendo riboflavina 0,1% em associação com a riboflavina potencializador permitindo permear estroma corneano, mesmo na presença de epitélio contínuo.

[0037] No estudo, 20 pacientes foram incluídos (14 homens e 6 mulheres, com idades entre 12 e 42 anos), afetados pela ceratocone bilateral, progressiva II e III classificados, de acordo com a classificação de Amsler-Krumeich.

[0038] Apenas um olho foi submetido ao tratamento, enquanto o contralateral foi utilizado como controle. O tratamento foi realizado no olho que apresenta maior curvatura e espessura corneana menor.

[0039] Todos os pacientes apresentaram uma espessura média da córnea de 412,9 micron (espessura mínima de 380, máximo 444).

[0040] Em todos os pacientes, a progressão da doença foi avaliada pelo aumento da curvatura máxima do vértice do cone apex de pelo menos 1 dioptria, topograficamente medido nos últimos seis meses, ou por uma diminuição da espessura da córnea superior a 2% e um aumento de astigmatism central da córnea de uma dioptria nos últimos 6 meses.

[0041] Os pacientes foram verificados antes do tratamento e acompanhados até 7 dias, 15 dias, 1, 3, 6, 9 meses após o tratamento.

[0042] Visus foi testado em condições de miose natural por meio de tabelas Log Mar ETDRS (Early

Treatment Diabetic Retinopathy Study), de acordo com o procedimento descrito por Ferreira et al. 1982. Am J Ophthalmol. 94: 91-6. Visus foi medida em 4 metros de distância.

[0043] As córneas foram analisadas pelo exame de luz de fenda, por ultra-som e paquimetria óptica, topografia corneana e aberrometria (Topografo Optikon Keratron software Scout 4.2).

[0044] A Evolução do ceratocone tem sido topograficamente definido usando mapas de curvatura, axial e refração.

[0045] A progressão da patologia tem sido seguida até o uso de parâmetros propter.

[0046] O Paquímetro foi realizada utilizando paquímetro ultra-som (Optikon Mizar) e OCT de cornea (Spectral outubro SLO-OPKO, EUA).

[0047] Três dias antes do tratamento, foi administrado norfloxacin em cerca de 50 ul (cerca de 1 gota) 4 vezes/dia.

[0048] Vinte minutos antes do tratatamento, a córnea foi anestesiada com hidrocloridrato de oxibuprocaina 0,2% e, a fim de reduzir danos a outras estruturas oculares devido à exposição UV, miose foi induzida pela administração de pilocarpina 1%.

[0049] A composição de acordo com a presente invenção que contém riboflavina 0,1% em associação com intensificador foi administrada duas horas antes do tratamento de 50µl (cerca de 1 gota) cada 10 minutos.

[0050] Então, a radiação UV tem sido realizada por 30 minutos a 2.9-3mW/cm² com uma mancha 8mm de

diâmetro de acordo com o protocolo estabelecido por Caporossi et al. 2006. J. Eur Ophthalmol 16:530-5.

[0051] Durante a irradiação, a quantidade de composição de riboflavina tem sido mantida constantemente em contato com o epitélio corneano. Continuando o tratamento, uma gota de norfloxacin e uma gota de olho artificial contendo 0,15% de ácido hialurônico e aminoácidos foram adicionados aos olhos.

[0052] As córneas foram verificadas por lâmpada de fenda para avaliar a integridade do epitélio.

Resultados.

Tabela 1: visus Natural e corrigido

	Pre CXL		1 mes		3 meses		6 meses		9 meses	
	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es
UCV	0,71±0.	0,84±0.	0,49±0.	0,81±0.	0,40±0.	0,80±0.	0,36±0.	0,85±0.	0,36±0.	0,88±0.
A	12	23	12	18	15	09	19	10	07	13
BCV	0,35±0.	0,46±0.	0,26±0.	0,48±0.	0,22±0.	0,50±0.	0,18±0.	0,62±0.	0,16±0.	0,66±0.
A	23	21	10	29	08	06	16	08	10	11

Legenda : Pré CXL = visus antes de reticulação (CXL);

UCVA = visus natural;

BCVA = visus corrigido;

LogMar = Logaritmo do canto de resolução mínimo, $p < 0,05$.

[0053] A Tabela 1 apresenta as medidas visus pré e pós-tratamento com a formulação da presente invenção que contém riboflavina 0,1% nos nove meses de período de acompanhamento.

[0054] Natural e visus corrigida começam a

melhorar no primeiro mês e melhoria continua até o sexto mês.

[0055] Melhoria dos rendimentos corrigidos visus até ao nono mês, ao passo que no olho não tratado foi evidente uma piora progressiva dos visus natural e corrigidos, o que é particularmente evidente após seis meses e indica uma progressão do ceratocone.

Tabela 2: Central variações ceratometricas (3mm)

	Pre CXL		1 mes		3 meses		6 meses		9 meses	
	CXL	Controle s	CXL	Control es	CXL	Controle s	CXL	Control es	CXL	Controle s
Sim	51,02±1	51,12±1	49,05±0	51,10±	48,65±0	51,42±0	47,82±0	51,40±	47,85±0	51,32±1
kS	.10	.02	.92	1.04	.89	.96	.78	0.92	.71	.13
Sim	45,13±0	46,12±0	44,46±1	46,12±	44,13±0	46,52±0	44,57±1	46,74±	47,85±0	46,23±0
kF	.97	.99	.03	0.65	.89	.91	.11	0.71	.84	.50
Sim Cyl	5,89	4,91	4,59	4,98	4,55	4,91	3,32	4,70	3,55	5,12

Legenda:

SimkS = Ceratometria do meridiano mais curvo

SimkF = Ceratometria do meridiano mais plano

Sim cyl: cilindro da córnea (K1 - K2). p <0,05.

[0056] Na tabela 2 os dados ceratometricos detectados pela topografia antes e 1, 3, 6 meses após o tratamento em uma área central de 3mm.

Tabela 3: Curvatura máxima (KcAK) e os parâmetros magnitude axial, magnitude apical.

	Pre CXL		1 mes		3 meses		6 meses		9 meses	
	CXL	Controle s	CXL	Controle s	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es

Kc	59,12±1	58,89±2	58,01±0	58,92±2	57,42±0	59,43±1	57,31±	59,86±2	57,56±	60,06±1
ak	.10	.02	.92	.34	.89	.87	0,78	.45	1.21	.13
Mc	56,46±0	56,31±1	55,73±1	56,29±2	55,52±0	57,02±0	55,49±	57,59±2	55,51±	58,18±0
	.97	.93	.41	.18	.89	.91	1,11	.02	1.23	.93
Ma	23,89±0	21,91±2	20,07±2	21,98±1	20,09±2	23,06±1	20,01±	23,21±0	20,12±	23,81±0
	.75	.05	.42	.67*	.50	.4	2.02	.67	1.22	.88

Legenda:

KcAK = ceratometria Ceratocone apical,

ma = magnitude axial,

mc = magnitude apical. $p < 0,05$ * $p > 0,05$.

[0057] A Tabela 3 mostra a variação da curvatura máxima do cone apex (KcAC) e parâmetros propter usado pelo software topógrafo para estudar a progressão do ceratocone.

Tabela 4: Aberração da córnea

■	Pre CXL		1 mês		3 meses		6 meses		9 meses	
	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es	CXL	Control es
Rm	4,68±0	4,43±0	4,21±0	4,12±0	3,75±0	4,39±1	3,01±0	4,56±2	3,21±0	4,71±1
s	.27	.75	.66	.83	.59	.47	.38	.45	.45	.02
Co	2,21±0	2,28±1	2,19±1	2,10±1	1,72±0	2,23±1	1,65±1	2,41±1	1,59±1	2,39±0
ma	.97	.93	.04	.74	.32	.05	.01	.88	.23	.93
S.A.	0,98±0	1,12±	0,77±0	1,08±0	0,45±0	1,26±0	0,45±0	1,26±0	0,35±0	1,31±0
	.15	.052	.42	.67	.59	.72	.39	.47	.64	.98

Legenda:

RMS (Media Quadrática), SA (aberração sferical). $p < 0,05$.

[0058] Na tabela 4 variações de aberrações da córnea são relatados. A tabela mostra que a raiz quadrada da média e aberrações melhorar a partir do primeiro até o sexto

mês; depois, eles tendem a se estabilizar, ao passo que as aberrações oculares não tratadas tendem a piorar.

[0059] A análise OCT pré e pós-tratamento demonstrou o espessamento do estroma corneano, em forma linear, colocado a 100 microns de epitélio corneano embaixo da membrana de Bowman.

[0060] Essa alteração da estrutura da córnea é evidente 1 mês após o tratamento.

[0061] As córneas foram transparentes em todo o período de acompanhamento e sem neblina ou sinais de edema sub típico de tratamento de epitheliation terem sido detectados. Não foram encontrados efeitos colaterais associados ao tratamento com trans-epitelial no período de acompanhamento.

ESTUDO EXPERIMENTAL 2

[0062] A eficácia da formulação de E preparação (exemplo 4), F (exemplo 5), H (exemplo 7), e I (exemplo 8) foi avaliada no tratamento de nove pacientes (5 homens e 3 mulheres), com uma idade média de 35 anos, todos afetados por ceratocone referido como na fase IV de acordo com Amsler - Classificação Krumeich.

[0063] Todos os pacientes foram divididos em três grupos experimentais, cada um com três pacientes, homogêneo para a espessura corneana e a gravidade da doença.

[0064] A preparação E foi administrada ao grupo 1, grupo 2 foi administrado com F, preparação e elaboração H foi administrada ao grupo 3.

[0065] As formulações foram administradas aos pacientes, uma gota (cerca de 50 µl), apenas no pior olho (de acordo com Amsler - Classificação Krumeich) 10 min durante 2 horas.

[0066] No final da administração todos os assuntos foram analisados a fim de verificar a penetração do produto no estroma corneano.

[0067] A avaliação da penetração do produto foi realizada através de exame com lâmpada de fenda.

[0068] Sem efeitos colaterais relatados pelos pacientes, que não tenham sido irritações menores temporárias na época da administração da formulação.

[0069] Em todos os casos foi observado que todos os três corantes geraram microfissuras no epitélio corneano através do qual é possível ver a coloração ligeira do estroma anterior da córnea.

[0070] No caso da administração de acridina e quinolina, a coloração do estroma corneano pode ser melhorada através de um filtro de cobalto na lâmpada de fenda. Após a administração de azul de metileno, nenhum filtro foi necessário uma vez que a cor azul é claramente evidente.

[0071] Na sequência deste procedimento de absorção de estroma corneano preliminar, procedeu-se com ligação em cruz de córnea, particularmente na composição da formulação de I:

SOLUÇÃO DE PERMEABILIZAÇÃO Dextran T500 EDTA 0.1% tROMETAMINA 0.05%	I
Ingredientes	% w/w
Sal de sódio desidratado de fosfato de Riboflavina	0.147
Dextran T500	15
Sódio EDTA	0.1
Trometamina	0.05
Fosfato de sódio desidratado monobásico desidratado	0.067
Fosfato de sódio dibásico desidratado	0.285
NaCl	0.00
Água destilada	Up to 100 g
Isotonicidade: hipotônica	142MOs

Continuação da Tabela	
PH	7.2
Esterilização pela Filtragem	Sim

[0072] Tem sido administrado aos pacientes de todos os grupos por 15 minutos e córneas foram irradiados por luz ultravioleta (3 watts) por 30 minutos. Foi tratado o olho apresenta a pior condição (ou seja, com a acentuada curvatura da córnea, de acordo com a classificação de Amsler-Krumeich).

[0073] O outro olho foi utilizado como controle. No exame de pacientes por lâmpadas de fenda, as córneas apareceram com o epitélio completo, apesar da presença de pequenas fissuras e estroma azul claro.

[0074] Todos os indivíduos foram acompanhados e examinados a cada mês, durante um período de seis meses, a fim de verificar o efeito terapêutico.

Resultados

Primeiro mês:

[0075] Córnea OCT revela espessamento do estroma corneano por baixo da membrana de Bowman (cerca de 100 micra de espessura). Tal alteração estroma é comum a todos os grupos de tratamento com a mesma espessura. Mapas topográficos, após um mês do tratamento mostram uma ligeira melhoria de curvatura máxima. Tal melhora é mais acentuada no grupo tratado quinoleína. Menos pronunciado em indivíduos que receberam azul de metileno. Ligações cruzadas não foram detectadas nos três grupos; a melhora visus não é avaliável. Córnea apareceu transparente quando marcada pela lâmpada de fenda.

Segundo mês:

[0076] Córnea OCT revela um pouco menos pronunciado espessamento do estroma corneano. Não houve

diferença nos três grupos de tratamento. Os mapas de topografia mostraram adicional melhora da condição de doença com redução da curvatura máxima e melhora geral dos outros índices topográficos de ceratocone. Em particular, tem sido relatada a redução do astigmatismo corneano associado à melhora da visus natural. A redução do astigmatismo é maior no grupo tratado quinoleína. A microscopia confocal mostrou estroma corneano espessamento associado à ativação de células da córnea. A córnea apareceu transparente apareceu quando analisada pela lâmpada de fenda.

Terceiro mês:

[0077] Ausência de sinais de alteração do estroma são evidentes por OCT. Os Mapas de córnea foram mantidos semelhantes aos obtidos dois meses após o tratamento com astigmatismo corneano inalterados e visus natural em todos os grupos de pacientes. A microscopia confocal revela uma maior ativação dos queratinócitos e pontes de ligação cruzadas nascentes no primeiro terço da córnea no site do estroma espessamento detectado pelo OCT. A Córnea transparente apareceu quando marcada pela lâmpada de fenda.

Quarto mês:

[0078] Houve o aumento da ativação de queratinócitos e mais pontes de ligação cruzadas de formação. Todos os outros parâmetros se mantiveram inalterados. Córnea transparente apareceu quando marcada pela lâmpada de fenda.

Quinto mês:

[0079] Modificação de estroma caracterizada pelas pontes de ligação cruzadas de formação no estroma anterior em cerca de 100-150 micron de profundidade. Melhoria dos índices topográficos com a redução do astigmatismo na

quinolina pacientes tratados. Córnea transparente apontado por lâmpada de fenda.

Sexto mês:

[0080] Aumento da formação de pontes de ligação cruzadas de formação em todos os pacientes tratados. Córnea transparente.

[0081] Durante os seis meses de seguimento ou nenhuma variação de transparência da córnea e outros efeitos colaterais foram relatados.

[0082] A alteração do estroma com ativação queratinócitos ocorreu nos grupos analisados, três meses após o tratamento determinou a formação de pontes de ligação cruzada. Tais ligações estão presentes apenas na parte anterior do estroma.

[0083] O efeito de reticulação obtido pelo procedimento descrito difere da prevista pela administração de riboflavina e remoção do epitélio, na verdade, no caso de ligações cruzadas com o de-epitelização, modificações estroma corneano são vistos por microscopia confocal apenas no terço inferior da córnea, enquanto o terço superior não é afetada pelo tratamento.

[0084] Resumidamente, os dados apresentados demonstram inequivocamente que as formulações de acordo com a presente invenção são eficazes em limitar a progressão do ceratocone, sem efeitos colaterais nem durante a intervenção e, depois disso, e durante o período de acompanhamento.

[0085] Os tratamentos foram gravados sem a remoção do epitélio a partir das composições descritos são simples e oferecem várias vantagens: ausência de complicações devido a de-epitelização, manutenção de pré-tratamento visus,

ausência de dor pós-tratamento, a ligação cruzada da córnea da presente invenção não exige uma sala de cirurgia para ser realizada, e há a possibilidade de tratar pacientes menores de 10 anos.

[0086] De fato, nos estudos de caso relatado pacientes voltaram às suas atividades habituais poucas horas após o tratamento, com uma melhora evidente dos principais parâmetros observados em um mês. Análise do estroma corneano obtidos pelos tratamentos empregando as formulações apresentadas determinadas as formações da espessura do estroma em cerca de 100 microns da superfície do epitélio. Essa alteração difere daquele classicamente obtido com CXL de epitalização. Assim, os dois processos CXL não fornecem resultados sobrepostas, mas podem ser considerados complementares.

[0087] Tais evidências abrem novas perspectivas no tratamento do ceratocone, uma vez que as técnicas trans-epiteliais com as formulações apresentadas não pretendem substituir os protocolos usados atualmente, mas para completá-lo, por exemplo, sem de-epitelização e procedimentos pós-cirúrgico, ele vai ser possível para reforçar o efeito do tratamento CXL tradicionais que não conseguiu bloquear totalmente a progressão do ceratocone.

[0088] Além disso, os procedimentos CXL realizados utilizando a formulação da presente invenção permitem alargar o leque de pacientes tratáveis, como devido ao cumprimento principais será possível tratar de pacientes muito jovens afetadas pelo ceratocone inicial, retardando a evolução da patologia e, geralmente, melhorando a sua terapêutica expectativas.

REIVINDICAÇÕES

1. "USO DE EDTA ASSOCIADO À TROMETAMINA E/OU UM OU MAIS FOTOINTENSIFICADOR(ES)", escolhido(s) entre: amarelo de acridina, amarelo de quinidina, azul de metileno e eritrosina para preparação de composições oftálmicas contendo riboflavina ou fosfato de riboflavina para o método de reticulação da córnea, caracterizado por ser para uso no tratamento do ceratocone ou de outros transtornos ectásicos da córnea.

2. "USO DE EDTA ASSOCIADO À TROMETAMINA E/OU UM OU MAIS FOTOINTENSIFICADOR(ES)", de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a composição oftálmica ser um colírio.

3. "COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA", tendo EDTA associado à trometamina e/ou um ou mais fotointensificador(es) escolhido(s) entre: amarelo de acridina, amarelo de quinidina, azul de metileno e eritrosina, caracterizada por o EDTA associado à trometamina estar presente com um ou mais fotointensificador(es) e riboflavina ou em que um ou mais fotointensificador(es) está(ão) presente(s) com riboflavina; em que os biointensificadores estão presentes em uma quantidade escolhida entre 0,0001 e 5% em peso em relação à composição, em particular, o EDTA está entre 0,001 e 1% em peso e a trometamina está entre 0,001 e 2% em peso.

4. "COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA", para uso de acordo com a reivindicação número 3, caracterizada por o EDTA estar presente em uma quantidade entre 0,05 e 0,5% em peso e a trometamina estar em uma quantidade entre 0,05 e 0,5% em

peso.

5. "COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA", para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de números 3 ou 4, caracterizada por os fotointensificadores estarem presentes em uma quantidade entre 0,001 e 1% em peso e pelo fosfato de riboflavina estar presente em uma quantidade entre 0,05 e 0,3% em peso.

6. "COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA", para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de números 3 a 5, caracterizada por o fosfato de riboflavina estar presente em uma quantidade entre 0,05 e 0,3% em peso.

7. "COMPOSIÇÃO OFTÁLMICA", para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de números 3 a 6, caracterizada por a composição ser um colírio.