

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 991 899**

51 Int. Cl.:

A61K 47/69 (2007.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2018** **PCT/EP2018/085593**
87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2019** **WO19121748**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2018** **E 18822053 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2024** **EP 3727349**

54 Título: **Nanopartículas para su uso para el tratamiento de un trastorno neuronal**

30 Prioridad:

19.12.2017 EP 17306826

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.12.2024

73 Titular/es:

NANOBIOTIX (100.0%)
60 rue de Wattignies
75012 Paris, FR

72 Inventor/es:

MEYRE, MARIE-EDITH;
LEVY, LAURENT y
POTTIER, AGNÈS

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 991 899 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

Nanopartículas para su uso para el tratamiento de un trastorno neuronal

La presente invención se refiere al campo médico, en particular, al tratamiento de trastornos neurológicos. Más específicamente, la presente invención se refiere a una nanopartícula o a un agregado de nanopartículas para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica o al menos un síntoma de la misma en un sujeto sin exposición de la nanopartícula o el agregado de nanopartículas a un campo eléctrico y, sin su exposición a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, en donde el material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona de determinados materiales conductores, materiales semiconductores y determinados materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200 y materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100, como se define en las reivindicaciones. Además, se refiere a composiciones que comprenden dichas nanopartículas y/o agregados de nanopartículas para dichos usos sin exponerlos a un campo eléctrico y sin exponerlos a ninguna otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos.

ANTECEDENTES

Los trastornos neurológicos son un importante problema de salud (Neurological disorders public health challenges. WHO, 2006). El deterioro de la función de la red neural puede tener diferentes orígenes. La enfermedad de Parkinson es un trastorno del movimiento causado por la muerte de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra, ubicada en el mesencéfalo. El accidente cerebrovascular corresponde a un bloqueo en el suministro de sangre al cerebro. Sin oxígeno, las neuronas en el área afectada mueren y la parte del cuerpo controlada por estas células no puede funcionar. La enfermedad de Huntington es un trastorno genético. La epilepsia es un trastorno causado por la excitación anómala de grandes grupos de neuronas en diversas regiones del cerebro. La enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la muerte de neuronas en el hipocampo, la corteza cerebral y otras regiones cerebrales. Las causas de los trastornos del espectro autista son multifactoriales: genéticas, ambientales, etc.

Los trastornos neurológicos pueden clasificarse dependiendo de los síntomas primarios que afectan a los pacientes. Se observan tres tipos de síntomas principales: trastornos motores, trastornos psiquiátricos (estado de ánimo/sociales) y trastornos cognitivos, como se explica con más detalle más adelante en el presente documento.

Los trastornos motores engloban temblores, hipocinesia, tal como bradicinesia o discinesia, fasciculaciones, rigidez, inestabilidad postural, bloqueo de la marcha, etc. Las enfermedades que presentan trastornos motores incluyen normalmente enfermedad de Parkinson, distonía, epilepsia, enfermedad de Huntington y síndrome de Tourette.

Los trastornos psiquiátricos constituyen una variedad de enfermedades que presentan síntomas de deterioros del estado de ánimo/sociales. Una lista no exhaustiva incluye trastornos del espectro autista, trastornos esquizofrénicos, trastornos bipolares, trastornos depresivos, trastornos de ansiedad, trastornos obsesivos-compulsivos, trastornos relacionados con sustancias y/o adictivos (*definición del* Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 2013, quinta edición, the American Psychiatric Association). Algunos pacientes que padecen trastornos motores, tales como enfermedad de Parkinson y distonía, pueden desarrollar trastornos psiquiátricos en la etapa tardía de las enfermedades. Los trastornos cognitivos están presentes en muchos y posiblemente todos los trastornos mentales (por ejemplo, esquizofrenia, trastornos bipolares). Solo se incluyen en la categoría de los trastornos cognitivos los trastornos cuyas características principales sean cognitivas. Los trastornos cognitivos afectan a la vida diaria de los pacientes: es complicado efectuar tareas simples. La demencia es un trastorno cognitivo representativo y es un término general para un deterioro en la capacidad mental lo suficientemente grave como para interferir en la vida diaria. La enfermedad de Alzheimer es un tipo peculiar de demencia, con un aspecto neurodegenerativo.

Siempre que sea posible, los trastornos neurológicos se tratan con fármacos que actúan en la regulación del nivel de neurotransmisores en el cerebro y en el control de las interacciones con sus receptores de neurotransmisores específicos. Los principales neurotransmisores implicados son: glutamato, ácido γ -aminobutírico (GABA), dopamina y acetilcolina. Los neurotransmisores de glutamato y GABA son particularmente interesantes ya que desempeñan un papel principal en el aumento (Platt et al., The Veterinary Journal, 2007, 173, 278-286: *The role of glutamate in central nervous system health and disease - a review*) y en la reducción de la excitabilidad neuronal, respectivamente (Holmes et al., Mental Retardation and Developmental Disabilities, 1995, 1, 208-219: *Role of glutamate and GABA in the pathophysiology of epilepsy*). La dopamina está implicada en varias funciones cerebrales: el control del movimiento a través de los núcleos basales (un nivel inadecuado de dopamina en los núcleos basales da como resultado movimientos incontrolados), el comportamiento de búsqueda de placer y gratificación (su alteración puede causar una adicción disfuncional), la capacidad intelectual (los trastornos de la dopamina en los lóbulos frontales pueden causar un deterioro en las funciones neurocognitivas), etc. (Alcaro et al., Brain Res. Rev., 2007, 56(2), 283-321: *Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: an affective neuroethological perspective*). La acetilcolina es un neurotransmisor implicado en el aprendizaje y la memoria a nivel del sistema nervioso central (Hasselmo et al., Curr Opin Neurobiol, 2006, 16(6), 710-715: *The role of acetylcholine in learning and memory*).

Un medicamento común para aliviar los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson es la levodopa, que se transforma en dopamina en el cerebro y de este modo, ayuda a equilibrar el déficit de dopamina. La levodopa se asocia con la carbidopa, que ayuda a evitar la transformación de la levodopa en dopamina en todo el cuerpo. Un problema del tratamiento con levodopa es el fenómeno de "oscilaciones al azar", que da como resultado fases de inmovilidad e incapacidad asociadas con depresión alternada con accesos de júbilo (Lees et al., J Neurology Neurosurgery Psychiatry, Special Supplement, 1989, 29-37: *The on-off phenomenon*). La insensibilidad de los pacientes con enfermedad de Parkinson en etapa tardía a este tratamiento es problemática (Fabbri et al., Parkinsonism and related disorders, 2016: *Do patients with late-stage Parkinson's disease still respond to levodopa?*). Otras medicaciones comunes para tratar los síntomas de trastornos neuropsiquiátricos, como los síntomas "positivos", delirios y alucinaciones, en la esquizofrenia son los fármacos antipsicóticos. Sin embargo, los tratamientos terapéuticos de los síntomas de trastornos neurológicos con estos fármacos son inespecíficos y, por tanto, pueden inducir acontecimientos adversos graves. Además, puede aparecer refractariedad al fármaco usado.

Con los avances en la comprensión de las neurociencias, el cerebro puede entenderse como una red eléctrica, que codifica y transmite información a través de sus cables eléctricos, las neuronas. La conectividad entre neuronas es simple y compleja al mismo tiempo: simple porque está basada en la el flujo de entrada/flujo de salida de iones del interior de las neuronas, que dan como resultado potenciales de acción (o "picos" de actividad eléctrica); compleja debido a que la red neuronal está compuesta por cientos de miles de millones de neuronas, que forman nódulos, centros de actividad y módulos que demuestran interacciones coordinadas, a diversas escalas espaciales y temporales (Fornito et al., Nature Reviews Neuroscience, 2015, 16, 159-172: *The connectomics of brain disorders*). La comunicación neural depende de los componentes anatómicos que conectan a las neuronas individuales (estructura) y del proceso de transmitir información (función). Ambos aspectos afectan al funcionamiento general del sistema nervioso. Las interacciones neuronales se traducen en oscilaciones del patrón de actividad eléctrica del cerebro, cuyas oscilaciones son normalmente medibles mediante electroencefalograma (EEG). Se observan diferentes bandas de frecuencia de las oscilaciones: delta, theta, alfa, beta, gamma (Ward et al., Trends in Cognitive Sciences, 2003, 7(12), 553-559: *Synchronous neural oscillations and cognitive processes*). Estructuralmente, la característica neuroanatómica más sorprendente del cerebro es la abundante conectividad entre neuronas, lo que refleja la importancia de la comunicación neural. La sincronización de oscilaciones ("sincronía") entre un área del cerebro y otra parece constituir el último nivel de codificación de la información [primer nivel (neurona): potenciales de acción; segundo nivel (red(es) neuronal(es)): oscilaciones neuronales] proporcionando coordinación espaciotemporal (Engel et al., Nature Reviews Neuroscience, 2001, 2, 704-716: *Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing*). De manera importante, cada vez hay más pruebas de que es fundamental un patrón delicadamente equilibrado de sincronización y desincronización en el espacio y el tiempo para la actividad funcional del sistema nervioso (Schnitzler et al., Nature Reviews Neuroscience, 2005, 6, 285-296: *Normal and pathological oscillatory communication in the brain*).

Los procesos de sincronización anormal (sincronía demasiado elevada y/o demasiado extendida, es decir, también denominada hipersincronía o sincronía demasiado baja, es decir, también denominada sincronía alterada), se han asociado con varios trastornos cerebrales, tales como epilepsia, esquizofrenia, demencia y enfermedad de Parkinson (Schnitzler et al., Nature Reviews Neuroscience, 2005, 6, 285-296: *Normal and pathological oscillatory communication in the brain*).

Hoy en día, puede inducirse la modulación del patrón de actividad eléctrica de las neuronas (neuromodulación) mediante estimulaciones eléctricas. Las técnicas actuales para producir un estímulo eléctrico en el cerebro utilizan o bien una estimulación eléctrica directa o la inducción de un campo eléctrico mediante la aplicación de una corriente eléctrica a través de una bobina magnética. Debido a que ciertos trastornos neurológicos afectan a las estructuras encefálicas profundas y ya que la profundidad de penetración del campo eléctrico es débil, se ha implementado el implante quirúrgico de electrodos dentro del cerebro para suministrar estímulos eléctricos de manera continua y representa la técnica de "estimulación cerebral profunda" (DBS). Su eficacia depende de los parámetros usados para la estimulación, especialmente la frecuencia. En 1987, se observó que la estimulación de alta frecuencia (≥ 100 Hz) del núcleo ventral intermedio (VIM) con electrodos implantados alivia los síntomas de temblores de pacientes que padecen enfermedad de Parkinson (Benabid et al., Applied Neurophysiology, 1987, 50, 344-346: *Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease*). Asimismo, se ha demostrado en monos que la estimulación de alta frecuencia (> 100 Hz), en comparación con la estimulación de baja frecuencia (< 50 Hz), permite cambios en el patrón de descarga temporal de las neuronas en el globo pálido externo (GPe) y el globo pálido interno (GPi) (patrón de descarga regular sincronizada por estímulos), que bloquea la transmisión de patrones alterados de actividad neuronal en los núcleos basales a sus estructuras diana en el tálamo y el tronco encefálico, aliviando de este modo los síntomas de bradicinesia y rigidez (Hashimoto et al., The Journal of Neuroscience, 2003, 23(5), 1916-1923: *Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons*). La DBS está aprobada en la actualidad para tratar varios trastornos motores (enfermedad de Parkinson, distonía, temblor hereditario, epilepsia) y trastornos psiquiátricos (trastorno obsesivo-compulsivo, depresión).

Sin embargo, pueden asociarse varios inconvenientes con la DBS, siendo el primero la invasividad de la técnica y los riesgos de diversas complicaciones, como hemorragia, crisis epilépticas, infecciones, migración de la derivación,

ruptura de la derivación, etc. (Fenoy et al., J Neurosurg, 2014, 120, 132-139: *Risks of common complications in DBS surgery: management and avoidance*).

La focalidad (es decir, resolución espacial) del campo eléctrico generado en la diana es otro problema. La dispersión del estímulo eléctrico también se ha relacionado con efectos secundarios, tales como depresión. Se ha dedicado mucha investigación en el diseño de nuevos tipos de electrodos que puedan desplazar y confinar el estímulo a un área determinada (Luan et al., Frontiers in Neuroengineering, 2014, 7(27), 1-9: *Neuromodulation: present and emerging methods*). Se encuentran en evaluación otros aspectos tecnológicos: los electrodos (o derivaciones), su tamaño, la invasividad del dispositivo de DBS, el material del que están hechas las derivaciones, la compatibilidad con técnicas de obtención de imágenes (resonancia magnética), la duración de la batería del generador de pulsos interno (IPG) asociada con la necesidad de estimulación continua.

Los otros tipos principales existentes de estimulación eléctrica, concretamente, la estimulación eléctrica transcraneal o la estimulación magnética transcraneal, tienen la ventaja de no ser invasivos, pero la profundidad de penetración del campo eléctrico es débil. Por tanto, sus aplicaciones se limitan a la estimulación de la corteza cerebral (no se puede alcanzar el encéfalo profundo). Además, la resolución espacial sigue siendo baja.

Dante et al. [SILVIA DANTE ET AL: "Selective Targeting of Neurons with Inorganic Nanoparticles: Revealing the Crucial Role of Nanoparticle Surface Charge", ACS NANO, vol. 11, n.º 7, 23 de junio de 2017 (23-06-2017), páginas 6630-6640], describen cómo la presencia de negativamente nanopartículas inorgánicas cargadas excitabilidad, que incluyen CdSe/CdS, pueden modular la excitabilidad de las células neuronales en los primeros minutos desde la administración en un ensayo celular.

Moore et al. [KELLY A. MOORE ET AL: "Influence of gold nanoparticle surface chemistry and diameter upon Alzheimer's disease amyloid-[beta] protein aggregation", JOURNAL OF BIOLOGICAL ENGINEERING, vol. 11, n.º 1, 6 de febrero de 2017 (06-02-2017)] describen cómo se descubrió que tanto el diámetro como la superficie química de las nanopartículas modulaban el grado de proteína beta-amiloide como se determinó en un ensayo celular que probó la neurotoxicidad de las nanopartículas. Se usaron proteína beta-amiloide fluorescente y microscopía electrónica de transmisión (TEM) para caracterizar las alteraciones inducidas por nanopartículas en la formación y morfología de agregados de proteína beta-amiloide, respectivamente. Se describieron nanopartículas de oro recubiertas con ácido poliacrílico (PAA) de 8 y 18 nm de diámetro como eficaces en inhibir la agregación de proteínas beta-amiloide, mientras que las NP de oro recubiertas con PAA de 40 nm se describieron como tóxicas. Los autores llegaron a la conclusión de que "*Similarmente, otros estudios han mostrado tamaños más grandes que provocaron una respuesta más tóxica*" (véase página 2, RHC, último tercio del segundo párrafo).

La presente invención trata acerca de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas para su uso para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica (normalmente trastornos de redes neuronales) como se define en las reivindicaciones.

Las nanopartículas o los agregados de nanopartículas normalizan la sincronización de las oscilaciones neuronales (mejoran la sincronía) dentro de y/o entre redes neuronales y dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro. Las nanopartículas o los agregados de nanopartículas descritos en el presente documento por los inventores ayudan al sujeto/paciente a volver a un estado sano/normal.

Las nanopartículas y agregados de nanopartículas descritos en el presente documento por los inventores no requieren la aplicación/inducción de una corriente o campo/estímulo eléctrico y no requieren la exposición a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, para ejercer su función (es decir, para que sean eficientes). Las nanopartículas y agregados de nanopartículas descritos en el presente documento no requieren su exposición a una corriente o campo/estímulo eléctrico y no requieren su exposición a cualquier otra fuente externa de activación, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, para que sean funcionales en el contexto de los usos descritos en el presente documento. Los inventores han descubierto que estas nanopartículas o agregados de nanopartículas pueden usarse eficientemente de forma ventajosa y sorprendente sin exponerse o sin exposición del sujeto al que se administran, a una corriente o campo/estímulo eléctrico, normalmente a una corriente o campo/estímulo eléctrico aplicado a dicho sujeto, por ejemplo, mediante estimulación cerebral profunda (DBS), mediante estimulación eléctrica transcraneal (TES) o mediante estimulación magnética transcraneal (TMS) y sin exposición a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos. Esto significa que el sujeto tratado no sufrirá los efectos secundarios negativos de la exposición a una corriente o campo/estímulo eléctrico o a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, gracias a la presente invención.

Como bien sabrá un experto en la materia, una nanopartícula tiene una elevada/alta relación de superficie/volumen, normalmente aproximadamente el 35 %-40 % de átomos se localizan en la superficie de una nanopartícula de 10 nm, en comparación con menos del 20 % para una nanopartícula que tiene un tamaño superior a 30 nm. Esta alta relación de superficie/volumen se asocia con una fuerte reactividad superficial que es dependiente del tamaño. Como resultado, las nanopartículas (especialmente aquellas más pequeñas de 20 nm) pueden mostrar propiedades novedosas en

comparación con materiales voluminosos. Por ejemplo, se sabe que las partículas de oro son químicamente inertes y resistentes a la oxidación a escala macroscópica, mientras que las partículas de oro que tienen un tamaño inferior a 10 nm tienen una superficie químicamente activa. Los mecanismos tóxicos asociados con la desestabilización química de nanopartículas metálicas pueden ser (i) la liberación directa de metales en disoluciones (proceso de disolución), (ii) las propiedades catalíticas de nanopartículas metálicas y (iii) la evolución redox de la superficie de las nanopartículas, que puede oxidar proteínas, generar especies de oxígeno reactivo (ROS) e inducir un estrés oxidativo (véase M. Auffan et al., *Environmental Pollution* 157 (2009) 1127-1133: *Chemical Stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro*).

Aparte de las nanopartículas de oro descritas anteriormente en el presente documento que presentan propiedades catalíticas, las nanopartículas de óxido de cerio (partícula de CeO_2 de 7 nm) u óxido de hierro (partícula de Fe_3O_4 de 20 nm) han mostrado modificación redox de su superficie que da lugar a efectos citotóxicos relacionados con el estrés oxidativo *in vitro* (véase M. Auffan et al., *Environmental Pollution* 157 (2009) 1127-1133: *Chemical Stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro*). Asimismo, la nanoestructura de sílice de 11 nm se erosiona por medios biológicos (véase S-A Yang et al., *Scientific Reports* 2018 8:185: Silica nanoparticle stability in biological media revisited).

Como se explica más adelante en el presente documento por los inventores, han de seleccionarse cuidadosamente nanopartículas que tengan un tamaño inferior a 30 nm cuando se pretende su uso *in vivo* en un sujeto, normalmente en un mamífero, en particular, en un ser humano.

BREVE DESCRIPCIÓN

Las referencias a los métodos de tratamiento de la presente descripción se deben interpretar como referencias a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) por terapia (o para diagnóstico).

En el presente documento se describe ventajosamente por primera vez una nanopartícula o agregado de nanopartículas para su uso para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de determinadas enfermedades neurológicas en un sujeto que lo necesite sin exposición de la nanopartícula o el agregado de nanopartículas a un campo eléctrico y sin exponerlas a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos. El material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona normalmente de determinados materiales conductores, determinados materiales semiconductores y determinados materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 y materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200, como se define en las reivindicaciones.

Los inventores describen en el presente documento, en un aspecto particular, una nanopartícula o un agregado de nanopartículas para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto sin exposición de la nanopartícula o agregado de nanopartículas a un campo eléctrico ni a ninguna otra fuente de activación externa, en donde el material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona de un material conductor que es un metal seleccionado de Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt y/o Au, un material semiconductor con una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV seleccionado de un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual a o superior a 200 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) que es un óxido metálico mixto seleccionado de BaTiO_3 , PbTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 y BaSrTiO_3 , y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) seleccionado de Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y diamante de carbono, siendo la constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} medida entre 20 °C y 30 °C y entre 10^2 Hz hasta la frecuencia infrarroja en donde i) la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o agregado de nanopartículas de la población es de al menos 30 nm cuando el material es un material conductor, un material semiconductor o un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200, y en donde ii) el núcleo de la nanopartícula o agregado de nanopartículas está recubierto con un recubrimiento biocompatible que proporciona una carga superficial neutra o negativa cuando se mide en una disolución de agua que tiene una concentración de electrolitos entre 0,001 y 0,2 M, una concentración del material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas entre 0,01 y 10 g/l y un pH entre 6 y 8, y en donde la nanopartícula o el agregado de nanopartículas no se usa como portador de compuesto(s) terapéutico(s) o fármaco(s), en donde, cuando el material es un conductor, proporcionando el recubrimiento biocompatible una carga superficial negativa que se elige de un agente que proporciona un fosfato, un citrato, un ácido dicarboxílico o un sulfato, y en donde, cuando el recubrimiento biocompatible es un polímero, dicho recubrimiento se selecciona de poliácridamida, policarbamida, un biopolímero, un polisacárido, colágeno, poliéster, poliéter, poli(óxido de etileno), polietilenglicol, poli(alcohol vinílico), policaprolactona, polivinilpirrolidona y polipirrol.

En el presente documento también se describe (pero no es parte de la invención reivindicada) el uso de una nanopartícula o agregado de nanopartículas para preparar una composición para prevenir o tratar una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto que lo necesita sin exposición de la nanopartícula o agregado de nanopartículas a un campo eléctrico, y preferentemente sin exposición del mismo a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético, o una fuente de ultrasonidos.

En el presente documento también se describe una composición para su uso para prevenir o tratar / para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto, en donde la composición comprende, o consiste en, nanopartículas y/o agregados de nanopartículas y un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde el material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas normalmente se selecciona de ciertos materiales conductores metálicos, ciertos materiales semiconductores, ciertos materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200, y ciertos materiales aislantes con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100, como se define en las reivindicaciones, y en donde la prevención o el tratamiento se realiza sin exposición a un campo eléctrico de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas administrados al sujeto a través de la composición, y sin exposición de las mismas a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético, o una fuente de ultrasonidos.

Además, en el presente documento se describe (pero no es parte de la invención reivindicada) un kit que comprende, o que consiste en, al menos dos nanopartículas y/o agregados de nanopartículas distintos, consistiendo cada nanopartícula o agregado de nanopartículas en un material distinto seleccionado normalmente de un material conductor, un material semiconductor, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200 y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100, y usos de los mismos normalmente en la prevención o el tratamiento de / en un método para prevenir o tratar una enfermedad neurológica o al menos un síntoma de la misma en un sujeto sin exposición de las nanopartículas o agregados de nanopartículas a un campo eléctrico, y preferentemente sin exposición de las mismas a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Se estima que el sistema nervioso humano consiste en aproximadamente 80-120 miles de millones de células nerviosas (Hereulano-Houzel S. *Frontier in Human Neuroscience* (2009), 3(31): 1-11, *The human brain in numbers: a linearly sealed-up primate brain*). La característica definitoria de una neurona (o célula nerviosa) es su capacidad para transmitir señales eléctricas en la forma de potenciales de acción.

La neurona/célula nerviosa constituye el nódulo elemental del cerebro. Las células nerviosas pueden comunicarse entre sí de una manera altamente estructurada formando redes neuronales. La neurona se comunica mediante conexiones sinápticas. Dentro de la neurona, los *nanocircuitos* constituyen la maquinaria bioquímica subyacente para mediar en las propiedades neuronales clave, tales como el aprendizaje y la memoria y la génesis de la ritmicidad neuronal. Un microcircuito puede formarse con tan solo unas pocas neuronas interconectadas y puede llevar a cabo tareas sofisticadas, tales como mediar en reflejos, procesar información sensorial, iniciar la locomoción y mediación en el aprendizaje y la memoria. Un macrocircuito es una red más compleja que consiste en múltiples microcircuitos incrustados. Los macrocircuitos median en funciones cerebrales superiores, tales como reconocimiento de objetos y la capacidad intelectual. Por tanto, el sistema nervioso está formado por múltiples niveles de redes.

Excitabilidad de la red neural

Las neuronas envían mensajes electroquímicamente (es decir, los agentes químicos/iones provocan una señal eléctrica). Los iones importantes en el sistema nervioso son sodio y potasio, calcio y cloruro. Cuando una neurona no está enviando una señal, se encuentra "en reposo". Cuando una neurona se encuentra en reposo, el interior de la neurona tiene carga negativa con respecto al exterior. Aunque las concentraciones de los diferentes iones intentan equilibrarse a ambos lados de la membrana, no pueden debido a que la membrana celular solo permite que algunos iones pasen a través de los canales (canales de iones). Además de estos canales de iones selectivos, hay una bomba que usa energía para mover tres iones sodio fuera de la neurona por cada dos iones potasio que introduce. Finalmente, cuando todas estas fuerzas se equilibran y se mide la diferencia en el voltaje entre el interior y el exterior de la neurona, el potencial de membrana en reposo (también "potencial en reposo") de una neurona es de aproximadamente -70 mV. Esto significa que el interior de la neurona es 70 mV menor que el exterior. En reposo, hay relativamente más iones sodio fuera de la neurona y más iones potasio dentro de dicha neurona. Un potencial de acción (también identificado como "pico" o "impulso") se produce cuando una neurona envía información a través de un axón, fuera del cuerpo

celular. Esto significa que algún evento (un estímulo) provoca que el potencial de reposo se mueva hacia 0 mV. Cuando la despolarización alcanza aproximadamente -55 mV, la neurona lanza un potencial de acción. Si la despolarización no alcanza este nivel umbral crítico, no se dispara ningún potencial de acción (mecanismo de encendido/apagado). Asimismo, cuando se alcanza el nivel umbral, siempre se descarga un potencial de acción de amplitud fija. Por lo tanto, o bien la despolarización no alcanza el umbral o se genera un potencial de acción completo.

Se encuentra una gran variabilidad en la velocidad de propagación de los potenciales de acción. De hecho, la velocidad de propagación de los potenciales de acción en los nervios puede variar de 100 metros por segundo a menos de una décima parte de metro por segundo. Mientras que la constante de tiempo es un índice de cómo de rápido responderá una membrana a un estímulo en el tiempo, la constante de espacio (también constante de longitud) es un índice de cómo de bien un potencial eléctrico se extenderá a lo largo de un axón en función de la distancia.

Conectividad dentro y entre redes neuronales

Hay tres tipos de red de conectividad que se usan para investigar la comunicación dentro y a través del cerebro. La conectividad estructural se basa en la detección de las pistas de fibra que conectan físicamente las regiones del cerebro. Estas son los mapas de la red anatómica que indican las posibles vías por las que pueden viajar las señales en el cerebro. La conectividad funcional identifica la actividad en regiones cerebrales que tienen una frecuencia, fase y/o amplitud de actividad correlacionada similar. La conectividad efectiva usa la información de conectividad funcional y va un paso más allá a la hora de determinar la influencia directa o indirecta que un sistema neural pueda tener sobre otro, más específicamente, la dirección del flujo dinámico de información en el cerebro (Bowyer et al., *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2016, 2(1), 1-12: *Coherence a measure of the brain networks: past and present*).

La actividad sincronizada en una red neuronal puede detectarse mediante magnetoencefalograma (MEG), electroencefalograma (EEG), imagen por resonancia magnética funcional (IRMf) o tomografía de emisión de positrones (PET), después obtener imágenes usando análisis de la conectividad de redes. Se prefieren el MEG (magnetoencefalograma) o el EEG (electroencefalograma) debido a que tienen una elevada resolución temporal para resolver el flujo dinámico de información. El análisis de conectividad del cerebro se lleva a cabo para mapear las redes de comunicación necesarias para que funcione el cerebro. Las regiones específicas en el cerebro están especializadas para procesar determinados tipos de información. Las técnicas de obtención de imágenes han revelado que estas regiones están conectadas y se comunican con otras regiones especializadas entre redes en el cerebro. La "coherencia" (Bowyer et al., *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2016, 2(1), 1-12: *Coherence a measure of the brain networks: past and present*) es una técnica matemática que cuantifica la frecuencia y la amplitud de la sincronización (el estado de estar en sincronía o de estar sincronizado) de los patrones neuronales de actividad cerebral oscilante. La detección de la activación sincrónica de las neuronas puede usarse para determinar el bienestar o la integridad de la conectividad funcional en el cerebro humano. La superposición de los mapas de conectividad funcional sobre las imágenes de conectividad estructural y el uso de la dirección del flujo de información procedente de una conectividad efectiva proporciona una comprensión integral de cómo funciona el cerebro. Estas técnicas ayudan a evaluar las terapias de tratamiento basadas en la obtención de imágenes de conectividad cerebral antes y después del tratamiento.

El cerebro intacto (es decir, "normal" o "sano") expresa patrones complejos de actividad sincrónica ("normal" o "sana"), asociada con diferentes "estados" del organismo, desde un ritmo lento delta (0,5-4 Hz), hasta oscilaciones theta (4-8 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (15-30 Hz) y gamma (30-70 Hz). De manera interesante, el cultivo disociado de estructuras corticales ofrece un sistema conveniente para examinar las reglas que rigen la emergencia, la generación y la dispersión de la descarga (picos) y ráfagas (grupos de picos) de la red en poblaciones de neuronas densamente interconectadas. La actividad de la red puede registrarse durante periodos de tiempo prolongados de un modo no invasivo y con una resolución de tiempo finita usando matrices de múltiples electrodos. El cultivo disociado en 2 dimensiones puede usarse como sistema de ensayo viable para estudiar las reglas que rigen la formación y el mantenimiento de la actividad de red en el cerebro, que permite evaluar la hipótesis que no puede abordarse en el cerebro intacto (Cohen E. et al., *Brain Research*, 2008, 1235, 21-30: *Determinants of spontaneous activity: in networks of cultured hippocampus*).

En el presente documento se describe ventajosamente por primera vez una nanopartícula o agregado de nanopartículas para su uso para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica o al menos un síntoma de la misma en un sujeto que lo necesite sin exposición de la nanopartícula o el agregado de nanopartículas a un campo eléctrico y sin exposición de la misma a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos. Dicha exposición a un campo eléctrico (terapéutico o de diagnóstico) o a cualquier otra fuente de activación externa (terapéutica o de diagnóstico), tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos ha de entenderse normalmente en el presente documento como una exposición terapéutica o de diagnóstico, normalmente realizada por personal médico, por ejemplo, por un médico o un profesional de enfermería.

El material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona normalmente de un material conductor, un material semiconductor, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200 y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100, como se define en las reivindicaciones.

El término "tratamiento" se refiere al tratamiento terapéutico o a medidas capaces de prevenir, aliviar o curar una enfermedad, trastorno o estado disfuncional como se describe en el presente documento. Dicho tratamiento está previsto para un sujeto mamífero, preferentemente un ser humano que lo necesite. Se consideran como tales los sujetos en los que ya se ha identificado (diagnosticado) que padecen una enfermedad, trastorno o estado disfuncional como se describe en el presente documento o aquellos considerados "en riesgo de desarrollar" dicha enfermedad, trastorno o estado disfuncional para el cual el tratamiento es un tratamiento preventivo o profiláctico.

En un aspecto particular, el sujeto no es un sujeto que padece epilepsia.

La modulación anormal de la comunicación oscilante entre neuronas existe de hecho en diferentes tipos de enfermedades o trastornos neurológicos (también identificados en el presente documento como "enfermedades o trastornos neurales") (Uhlhaas et al., *Neuron*, 2006, 52, 155-168: *Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology*; Basar E. et al., *International Journal of Psychophysiology* 103 (2016) 135-148, *What does the broken brain say to the neuroscientist? Oscillations and connectivity: in schizophrenia, Alzheimer's disease, and bipolar disorder*).

El sistema nervioso humano está dividido en el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El SNC, a su vez, se divide en el cerebro y la médula espinal, que se encuentran en la cavidad craneal del cráneo y el canal vertebral, respectivamente. El SNC y el SNP, actuando de manera coordinada, integran la información sensorial y controlan las funciones motoras y cognitivas. La Figura 1 muestra una ilustración simplificada de la estructura cerebral.

La sincronía (o sincronización) dentro de y/o entre redes neuronales, dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro, se lleva a cabo mediante la coordinación de las oscilaciones neuronales en el tiempo (Buzsaki et al., *Science*, 2004, 304, 1926-1929: *Neuronal oscillations in cortical networks*).

Los trastornos motores en un sujeto normalmente se deben a la hipersincronía, lo que significa que la sincronización de las oscilaciones dentro de y/o entre redes neuronales dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro, normalmente observadas en un electroencefalograma (EEG), es demasiado alta y/o demasiado extendida ("excesiva") cuando se comparan con un sujeto sano/normal.

Los trastornos psiquiátricos y cognitivos en un sujeto normalmente se deben a una sincronía alterada, lo que significa que la sincronización de las oscilaciones dentro de y/o entre redes neuronales dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro, normalmente observada en un EEG, está reducida (normalmente presenta una actividad reducida) cuando se compara con un sujeto sano/normal o incluso desaparece, es decir, no es detectable [véase la Tabla 1: Sincronía neural anormal en trastornos neurológicos (adaptada de Uhlhaas et al., *Neuron*, 2006, 52, 155-168: *Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology*).

Tabla 1:

Tipo de síntomas	Trastorno neurológico	Sincronía neural
Motores	Enfermedad de Parkinson	alta/extendida (excesiva)
	Epilepsia	
	Distonía	
Psiquiátricos	Esquizofrenia	baja/no detectable (deteriorada)
	Autismo	
Cognitivos	Enfermedad de Alzheimer	

Ya que la "coherencia" es una técnica matemática que cuantifica la frecuencia y la amplitud de la sincronización en un sujeto (el estado de estar en sincronía o de estar sincronizado) de los patrones neuronales de actividad cerebral oscilante, se puede pensar que en los trastornos motores y los trastornos psiquiátricos/cognitivos está implicada una coherencia demasiado alta y demasiado baja en comparación con un sujeto sano/normal, respectivamente (Bowyer et al., *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2016, 2(1), 1-12: *Coherence & measure of the brain networks: past and present*) (véase la Figura 2).

En un aspecto particular, la enfermedad o trastorno neurológico diana en el contexto de la invención se selecciona de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno depresivo, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno de adicción, estado de consciencia vegetativo, por ejemplo, seleccionado de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno depresivo, distonía,

síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de adicción y estado de consciencia vegetativo.

Como ya se ha explicado anteriormente en el presente documento, las enfermedades o trastornos neurológicos pueden clasificarse dependiendo de los síntomas primarios que afectan a los pacientes que son trastornos motores, trastornos psiquiátricos (estado de ánimo/sociales) y trastornos cognitivos, como se detalla más adelante en el presente documento.

Ejemplo de trastornos motores

Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) afecta a de aproximadamente 7 a 10 millones de personas en todo el mundo y se caracteriza por temblores, discinesia, bradicinesia, bloqueo de la marcha, etc. La EP es una enfermedad degenerativa de progresión lenta del cerebro. Afecta a las células nerviosas en áreas del cerebro denominadas núcleos basales y la sustancia negra. Las células nerviosas en la sustancia negra producen dopamina, un neurotransmisor que actúa como mensajero químico en circuitos cerebrales importantes para planear y controlar el movimiento corporal. En la EP, las células nerviosas productoras de dopamina de la sustancia negra mueren de manera prematura en algunos individuos (Corti et al., *Physiol Rev*, 2011, 91, 1161-1218: *What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease*). Cuando no se estimulan adecuadamente los receptores de dopamina en el cuerpo estriado, algunas partes de los núcleos basales están sub- o sobreestimuladas. En particular, el núcleo subtalámico (NST) está sobreestimulado y actúa como un acelerador en el globo pálido interno (GPi). La sobreestimulación del GPi tiene un efecto excesivamente inhibitor en el tálamo, que a su vez reduce su eferencia y provoca la ralentización del movimiento y rigidez (Guo et al., *Frontiers in Computational Neuroscience*, 2013, 7, 124, 1-11: *Basal ganglia modulation of thalamocortical relay in Parkinson's disease and dystonia*).

La falta de dopamina en la EP se ha relacionado con una sincronización oscilatoria excesiva en la frecuencia beta por toda la red motora de los núcleos corticobasales. De hecho, se ha predicho que los niveles de dopamina en los núcleos basales suprimen la sincronía beta, que a su vez median en la implicación dopaminérgica necesaria para la anticipación de movimientos (Jenkinson et al., *Trends in Neuroscience*, 2011, 34(12), 611-618: *New insights into the relationship between dopamine, beta oscillations and motor function*). Si el nivel de dopamina en los núcleos basales no es lo suficientemente elevado, deja de haber control de la sincronía de oscilaciones beta y puede aparecer lentitud de movimientos. Otra observación en los pacientes con enfermedad de Parkinson hace llegar a la conclusión de que las oscilaciones corticales en la banda beta dan lugar a e impulsan aquellas en los núcleos basales (Lalo et al., *The Journal of Neuroscience*, 2008, 28(12), 3008-3016: *Patterns of bidirectional communication between cortex and basal ganglia during movement in patients with Parkinson disease*).

Puede usarse estimulación cerebral profunda (DBS) para tratarlos síntomas de temblores y rigidez (Eusebio et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, 82, 569-573: *Deep brain stimulation can suppress pathological synchronization in parkinsonian patients*). El tratamiento de los síntomas de la EP mediante DBS está aprobado por la FDA desde 2002 (de temblor hereditario desde 1997). La estimulación eléctrica normalmente se lleva a cabo en los núcleos basales, en el NST y en los GPi. Como se ha mencionado anteriormente, las oscilaciones beta corticales también están implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, por lo que la estimulación transcraneal (tal como estimulación magnética transcraneal - TMS) de la corteza también podría usarse para tratar los síntomas de la enfermedad de Parkinson (Cantello et al., *Brain Research Reviews*, 2002, 38, 309-327: *Transcranial magnetic stimulation and Parkinson's disease*).

Distonía

La distonía es un trastorno neurológico caracterizado por movimientos de torsión y giro involuntarios anormales que reflejan una función deteriorada del sistema motor. Existen varias formas de distonía, dependiendo de la parte del cuerpo afectada por los síntomas, de su origen genético, del tipo de neurotransmisor implicado, etc. El sistema nervioso central (SNC) distónico muestra una inhibición deficiente, que provoca la pérdida de inhibición medular recíproca entre músculos opuestos. En el caso de la distonía superior, por ejemplo, una sincronización anormal de las neuronas/nervios que proporcionan la señal aferente a los músculos antagonistas del antebrazo produce la contracción conjunta de estos músculos antagonistas (síntoma distónico) (Farmer et al., *Brain*, 1998, 121, 801-814: *Abnormal motor unit synchronization of antagonist muscles underlies pathological co-contraction in upper limb dystonia*).

El punto diana de la DBS que muestra un interesante efecto contra la distonía es el globo pálido interno (GPi-DBS). La GPi-DBS fue aprobada por la FDA en 2003 para pacientes con distonía crónica no tratable farmacológicamente (Hu et al., *Translational Neurodegeneration*, 2014, 3(2), 1-5: *Deep brain stimulation for dystonia*). La estimulación del núcleo intermedio ventral (VIM) del tálamo (VIM-DBS) produce efectos mucho menos robustos. La estimulación usando el núcleo subtalámico (STN-DBS) ha sido experimental. La GPi-DBS proporciona alivio de los principales síntomas de la distonía, pero los efectos terapéuticos pueden tardar de semanas a meses en desarrollarse completamente (Dressier et al., *J Neural Transm*, 2015, DOI 10. 1007/500702-015-1453-x: *Strategies for treatment of dystonia*).

Epilepsia

La epilepsia es un trastorno cerebral, que afecta a aproximadamente 50 millones de personas en todo el mundo y que se caracteriza principalmente por interrupciones recurrentes e impredecibles de la función cerebral normal, denominadas crisis epilépticas. La epilepsia no es una entidad patológica singular, sino una variedad de trastornos que reflejan una disfunción cerebral subyacente que puede ser el resultado de diferentes causas (mutación genética, tumores cerebrales, traumatismo craneal, accidentes cerebrovasculares, alcoholismo, inflamación del cerebro, infecciones, tales como meningitis, VIH o encefalitis vírica, etc.) (Fisher et al., *Neurology*, 2015, 28(2), 130-135: Redefining epilepsy).

Una crisis epiléptica se define como una aparición transitoria de signos y/o síntomas debidos a una excesiva actividad sincrónica en el cerebro (Fisher et al., *Epilepsia*, 2005, 46(4), 470-472: *Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)*). La corteza cerebral es el principal elemento en la generación de crisis epilépticas: a muchas personas se les diagnostica crisis del lóbulo frontal focal o del lóbulo temporal medial (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke*: http://www.ninds.nih.gov/disorders/epilepsy/detail_epilepsy.htm#3109_7). La identificación de áreas con elevada sincronía local o "hipersincronía", en la corteza cerebral, sugiere que la hipersincronía local puede ser un marcador de áreas que generan crisis (Schevon et al., *Neuroimage*, 2007, 35(1), 140-148: *Cortical abnormalities in epilepsy revealed by local EEG synchrony*).

La neuroestimulación para el tratamiento de la epilepsia puede ser en forma de estimulación de nervios periféricos, tal como estimulación del nervio vago (VNS); estimulación de la médula espinal; estimulación cerebral transcraneal (TES o TMS); o estimulación cerebral profunda (DBS). La neuroestimulación reactiva es otra estrategia, donde se proporciona estimulación solo cuando se detecta la aparición de una crisis. La VNS y la neuroestimulación reactiva han sido aprobadas por la FDA para el tratamiento de ciertos tipos de epilepsia en los EE. UU. La DBS del núcleo anterior del tálamo (ANT) ha sido aprobada en países de la Unión Europea (Fisher et al., *Nature Reviews Neurology*, 2014, 10, 261-270: *Electrical brain stimulation for epilepsy*).

Ejemplos de trastornos psiquiátricos (afectación del estado de ánimo/social)

Trastornos obsesivo-compulsivos (TOC)

El trastorno obsesivo-compulsivo (TOC) es un trastorno psiquiátrico común que normalmente es crónico, grave y extremadamente debilitante. Normalmente también es refractario a los tratamientos, con una proporción sustancial de pacientes que no responde o que obtiene únicamente un alivio parcial.

Los estudios de neurodiagnóstico por imagen han demostrado disfunción en la corteza orbitofrontal, los núcleos basales y el cuerpo estriado.

Un estudio ha demostrado que los síntomas del TOC agudo pueden estar relacionados con una elevada actividad oscilante anormal en el núcleo subtalámico (NST), particularmente en el hemisferio izquierdo y en el intervalo de frecuencia delta-alfa (1-12 Hz) (Bastin et al., *Cortex*, 2014, 60, 145-150: *Changes of oscillatory activity in the subthalamic nucleus during obsessive-compulsive disorder symptoms: two case reports*). Además, algunas neuronas subtalámicas aumentan específicamente su velocidad de descarga cuando se producen dudas durante una tarea de verificación (Burbaud et al., *Brain*, 2013, 136(1), 304-317: *Neuronal activity correlated with checking behavior in the subthalamic nucleus of patients with obsessive-compulsive disorder*).

La DBS del brazo anterior ventral de la cápsula interna (VC) y el cuerpo estriado ventral adyacente (VS) fue aprobada en la UE para el tratamiento del TOC grave y altamente resistente al tratamiento (VC/VS-DBS).

Trastornos del espectro autista

El autismo es un síndrome del desarrollo neurológico que se define por déficits en la reciprocidad social y la comunicación y por comportamientos restringidos y repetitivos inusuales. El autismo es un trastorno que normalmente comienza durante la infancia, como muy tarde, en los tres primeros años de vida. El autismo es una afección heterogénea (no hay dos niños o adultos con autismo que tengan un perfil similar), que ha dado lugar al concepto de "trastorno del espectro autista", que clasifica varios niveles de la enfermedad según el grado de déficit del lenguaje o del retraso cognitivo general y según la gravedad de los síntomas sociales o conductuales (Lord et al., *Neuron*, 2000, 28, 355-363: *Autism spectrum disorders*). En un extremo de este espectro, los individuos con autismo son altamente funcionales, lo que les permite vivir de manera independiente y mantener un empleo. Los individuos caracterizados con baja funcionalidad muestran síntomas más graves: dificultades de lenguaje (o incluso lenguaje no verbal), escasa comunicación social, comportamiento autolesivo (SIB), rabietas y agresión que pueden ser potencialmente mortales. Una importante tendencia en los estudios estructurales y funcionales del cerebro en el autismo es la implicación de la red de procesamiento socioemocional: el sistema límbico, el sistema de procesamiento facial y la red de neuronas especulares. Se ha demostrado que un déficit en la sincronización de las oscilaciones de la banda gamma está

implicado en la aparición de síntomas (Sinha et al., *Neurosurgery Focus*, 2015, 38(6), E3: *Deep brain stimulation for severe autism: from pathophysiology to procedure*).

Dos de los principales dominios de síntomas que pueden requerir tratamiento en el autismo grave son los déficits sociales, que incluyen ser no verbal y no reactivo al habla y SIB, que pueden ser potencialmente mortales. El complejo amigdalino parece desempeñar un papel importante en la fisiopatología de estas anomalías. El control excitador o inhibidor alterado está implicado en la anomalía de la fisiopatología del autismo. La neuromodulación de dianas del complejo amigdalino mediante DBS puede representar una intervención terapéutica para pacientes con autismo grave. Se han comunicado en la bibliografía tres casos de tratamiento con DBS. El objetivo de los tratamientos era principalmente aliviar los trastornos motores, tales como las estereotipias (patrón de movimiento repetido) y los comportamientos autolesivos (SIB) asociados con la enfermedad (Sinha et al., *Neurosurgery Focus*, 2015, 38(6), E3: *Deep brain stimulation for severe autism: from pathophysiology to procedure*; Stocco et al., *Parkinsonism and related disorders*, 2014, 20, 1035-1036: *Deep brain stimulation for severe secondary stereotypies*). En uno de los tres casos, se comunicó que la DBS en el núcleo basolateral dio como resultado una mejora significativa en los síntomas relacionados con el autismo, tales como el contacto social, la modulación del afecto y el sueño nocturno (Sturm et al., *Frontiers in Human Neuroscience*, 2013, 6, 341, 1-10).

Esquizofrenia

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica crónica caracterizada, entre otros, por los siguientes síntomas: síntomas positivos, que reflejan una actividad mental aberrante (alucinaciones y delirios); síntomas negativos, que corresponden a la deficiencia de una función mental que está normalmente presente (trastorno del pensamiento, embotamiento del afecto, alergia). Con respecto a las causas de discapacidad en la vida, la esquizofrenia se sitúa entre las diez primeras.

Una prominente hipertrofia ventricular y el aumento de líquido cefalorraquídeo en la superficie cerebral sugieren que el cerebro se ha atrofiado. Esta pérdida de materia gris y los números reducidos de estructuras sinápticas en las neuronas sugieren que la esquizofrenia es un trastorno del desarrollo neurológico, lo que significa que las anomalías cerebrales ya están presentes en los pacientes con un primer brote (a diferencia del trastorno neurodegenerativo). En los pacientes con esquizofrenia, se ha demostrado que los circuitos neurales deteriorados observados se deben a la incapacidad de sincronización de la banda gamma (Spencer et al., *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23(19), 7407-7411: *Abnormal neural synchrony in schizophrenia*; Gallinat et al., *Clinical Neurophysiology*, 2004, 115, 1863-1874: *Reduced oscillatory gamma-band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing*).

La terapia electroconvulsiva (ECT), es decir, tratamiento radical mediante inducción de convulsiones, ha demostrado ser uno de los tratamientos no farmacológicos con más éxito para la esquizofrenia (Payne et al., *J. Psychiatr. Pract.*, 2009, 15(5), 346-368: *Electroconvulsive therapy part I: a perspective on the evolution and current practice of ECT*). Este implica la aplicación sucesiva de corriente eléctrica al cerebro, lo que provoca convulsiones comparables con las epilépticas.

La estimulación eléctrica para el tratamiento sintomático de la esquizofrenia también es posible mediante DBS. Por ejemplo, la DBS del núcleo accumbens (NACC) en la depresión provoca la remisión de la anhedonia, es decir, la recuperación del placer hedonista (Schlaepfer et al., *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33, 368-377: *Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression*).

Ejemplo de trastorno cognitivo

Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo y provoca la pérdida progresiva de capacidad mental, conductual, deterioro funcional y capacidad para aprender. A fecha de 2013, se estima que 5,2 millones de estadounidenses tienen EA, con aproximadamente 200.000 personas menores de 65 años y 5 millones de más de 65 años (Alzheimers Dement. 2013, 9(2), 208-245: 2013 *Alzheimer's disease facts and figures*).

Indicios recientes indican que los déficits cognitivos observados en la enfermedad de Alzheimer se asocian con una desconexión funcional de las redes neurocognitivas. Los análisis de sincronización de EEG global revelan una amplia reducción en la sincronización de las bandas alfa, beta y gamma, concomitante con un aumento en la sincronización de la banda delta. En pacientes con enfermedad de Alzheimer leve, se ha demostrado que una pérdida de sincronización de la banda beta se correlaciona con el deterioro cognitivo (Schnitzler et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6, 285-296: *Normal and pathological oscillatory communication in the brain*). Se encuentran en desarrollo investigaciones clínicas para evaluar el potencial de la DBS para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

NANOPARTÍCULAS

En el presente documento se describe una nanopartícula o agregado de nanopartículas para su uso según la invención para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto sin exposición de la nanopartícula o agregado de nanopartículas a un campo eléctrico y sin exposición de dicha nanopartícula o agregado de nanopartículas a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, en donde el material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona de un material conductor que es un metal seleccionado de Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt y/o Au, un material semiconductor con una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV seleccionado de un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual a o superior a 200 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) que es un óxido metálico mixto seleccionado de BaTiO_3 , PbTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 y BaSrTiO_3 , y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) seleccionado de Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y diamante de carbono, y en donde la nanopartícula o el agregado de nanopartículas no se usa como portador de compuesto(s) terapéutico(s) o fármaco(s), en donde, cuando el material es un conductor, proporcionando el recubrimiento biocompatible una carga superficial negativa que se elige de un agente que proporciona un fosfato, un citrato, un ácido dicarboxílico o un sulfato, y en donde, cuando el recubrimiento biocompatible es un polímero, dicho recubrimiento se selecciona de poli(acrilamida), polycarbamida, un biopolímero, un polisacárido, colágeno, poliéster, poliéter, poli(óxido de etileno), polietilenglicol, poli(alcohol vinílico), polycaprolactona, polivinilpirrolidona y polipirrol.

Dimensión o tamaño de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas

En el espíritu de la invención, el término "nanopartícula" o la expresión "agregado de nanopartículas" se refiere a un producto, en particular un producto sintético, con un tamaño en el intervalo nanométrico, normalmente entre 1 nm y 1000 nm o entre 1 nm y 500 nm, por ejemplo, entre al menos 10 nm y aproximadamente 500 nm o aproximadamente 1000 nm, entre al menos 30 nm y aproximadamente 500 nm o aproximadamente 1000 nm, entre al menos 40 nm y aproximadamente 500 nm o aproximadamente 1000 nm, entre al menos 45 nm y aproximadamente 500 nm o aproximadamente 1000 nm, preferentemente inferior a 500 nm.

La expresión "agregado de nanopartículas" se refiere a un conjunto de nanopartículas fuertemente unidas entre sí, normalmente de manera covalente.

La microscopía electrónica, tal como microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) o TEM criogénica, puede usarse para medir el tamaño de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas y más particularmente el tamaño del núcleo de las nanopartículas o del agregado de nanopartículas, es decir, la nanopartícula o el agregado de nanopartículas sin su recubrimiento biocompatible. De hecho, el recubrimiento biocompatible normalmente está formado por compuestos que consisten principalmente en elementos ligeros (compuestos poliméricos u orgánicos), cuyas interacciones elásticas con los electrones energéticos son relativamente débiles, dando como resultado un contraste de imagen escaso. La TEM mide las imágenes proyectadas de las partículas depositadas sobre un sustrato transparente a electrones. Para la evaluación del tamaño, normalmente deben medirse los registros de más de aproximadamente 50, preferentemente más de aproximadamente 100, 150 o 200 nanopartículas o agregados de nanopartículas por muestra. Por lo tanto, el registro de más de aproximadamente 50 o preferentemente más de aproximadamente 100, 150 o 200 nanopartículas o agregados de nanopartículas permite establecer la mediana del mayor tamaño del núcleo de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas de la población, así como el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que representa el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y agregados de nanopartículas. Puede encontrarse un protocolo de ensayo típico en "NIST - NCL Joint Assay Protocol, PCC-7; Measuring the size of using transmission electron microscopy (TEM); versión 1.1 diciembre de 2009".

Asimismo, puede usarse dispersión de luz dinámica (DLS) para medir el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas (es decir, el diámetro de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas incluyendo tanto su núcleo como su recubrimiento biocompatible) en disolución. El diámetro hidrodinámico es el diámetro de una esfera dura equivalente que se difunde a la misma velocidad que el analito. Puede encontrarse un protocolo de ensayo típico en "NIST - NCL Joint Assay Protocol, PCC-1; Measuring the size of nanoparticles in aqueous media using batch-mode dynamic light scattering; versión 1.1 febrero de 2010". Los resultados del tamaño de partícula obtenidos de la medición por DLS pueden no coincidir con los obtenidos mediante otras técnicas (por ejemplo, microscopía electrónica). Esto se debe, en parte, a diferencias en la propiedad física que se mide realmente (por ejemplo, difusión hidrodinámica frente al área proyectada). Además, la DLS es sensible a la presencia de pequeñas cantidades de partículas grandes o de grupos de partículas más pequeñas, mientras que la microscopía electrónica normalmente refleja el tamaño de las partículas primarias (es decir, el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas) (véase NIST - NCL Joint Assay Protocol, PCC-1; Measuring the size of nanoparticles in aqueous media using batch-mode dynamic light scattering; versión 1.1 febrero de 2010).

Estos dos métodos, la DLS y la microscopía electrónica, pueden usarse además uno tras otro para comparar las mediciones del tamaño y confirmar dicho tamaño. Un método preferido para medir el tamaño de las nanopartículas y los agregados de nanopartículas es la DLS (*Ref. International Standard ISO22412 Particle Size Analysis-Dynamic Light Scattering, International Organisation for Standardisation (ISO) 2008*). El diámetro hidrodinámico medio de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas medido mediante DLS en disolución se presenta como distribución de tamaños por intensidad (la intensidad de dispersión de luz es proporcional al tamaño de partícula) y se mide a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C).

Normalmente, la dimensión o el tamaño mayor es el diámetro de una nanopartícula de forma redonda o esférica o la longitud más larga de una nanopartícula de forma ovoide u oval.

La dimensión mayor de una nanopartícula o agregado como se define en el presente documento es normalmente entre aproximadamente 2 nm y aproximadamente 250 nm o aproximadamente 500 nm, preferentemente entre aproximadamente 4 nm o 10 nm y aproximadamente 100 nm o aproximadamente 200 nm, o aún más preferentemente, entre aproximadamente (preferentemente al menos) 10 nm y aproximadamente 150 nm, entre aproximadamente (preferentemente al menos) 30 nm y aproximadamente 150 nm, entre aproximadamente (preferentemente al menos) 40 nm y aproximadamente 500 nm, entre aproximadamente (preferentemente al menos) 45 nm y aproximadamente 500 nm, preferentemente inferior a 500 nm.

Cuando se mide el diámetro hidrodinámico medio de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas en disolución, se usa normalmente la técnica de DLS. Usando DLS, el diámetro hidrodinámico medio de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas en disolución es normalmente de entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 500 nm, preferentemente entre aproximadamente 10 nm o aproximadamente 30 nm y aproximadamente 100 nm o aproximadamente 500 nm, aún más preferentemente, entre aproximadamente 10 nm o aproximadamente 30 nm y aproximadamente 100 nm, aproximadamente 150 nm, aproximadamente 200 nm, aproximadamente 250 nm, aproximadamente 300 nm, aproximadamente 350 nm, aproximadamente 400 nm, aproximadamente 450 nm o aproximadamente 500 nm.

Cuando se mide el núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas, normalmente se usa la técnica de microscopía electrónica. Usando microscopía electrónica, la mediana del tamaño mayor (también identificada en el presente documento como "mediana de la dimensión mayor") del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población es normalmente de entre aproximadamente 5 nm y aproximadamente 250 nm o aproximadamente 500 nm, preferentemente entre aproximadamente 5 nm, aproximadamente 6 nm, aproximadamente 7 nm, aproximadamente 8 nm, aproximadamente 9 nm, aproximadamente 10 nm, aproximadamente 11 nm, aproximadamente 12 nm, aproximadamente 13 nm, aproximadamente 14 nm, aproximadamente 15 nm, aproximadamente 16 nm, aproximadamente 17 nm, aproximadamente 18 nm, aproximadamente 19 nm, aproximadamente 20 nm, aproximadamente 21 nm, aproximadamente 22 nm, aproximadamente 23 nm, aproximadamente 24 nm, aproximadamente 25 nm, aproximadamente 26 nm, aproximadamente 27 nm, aproximadamente 28 nm, aproximadamente 29 nm, aproximadamente 30 nm, aproximadamente 31 nm, aproximadamente 32 nm, aproximadamente 33 nm, aproximadamente 34 nm, aproximadamente 35 nm, aproximadamente 36 nm, aproximadamente 37 nm, aproximadamente 38 nm, aproximadamente 39 nm, aproximadamente 40 nm, aproximadamente 41 nm, aproximadamente 42 nm, aproximadamente 43 nm, aproximadamente 44 nm o aproximadamente 45 nm y aproximadamente 75 nm, aproximadamente 76 nm, aproximadamente 77 nm, aproximadamente 78 nm, aproximadamente 79 nm, aproximadamente 80 nm, aproximadamente 81 nm, aproximadamente 82 nm, aproximadamente 83 nm, aproximadamente 84 nm, aproximadamente 85 nm, aproximadamente 86 nm, aproximadamente 87 nm, aproximadamente 88 nm, aproximadamente 89 nm, aproximadamente 90 nm, aproximadamente 91 nm, aproximadamente 92 nm, aproximadamente 93 nm, aproximadamente 94 nm, aproximadamente 95 nm, aproximadamente 96 nm, aproximadamente 97 nm, aproximadamente 98 nm, aproximadamente 99 nm, aproximadamente 100 nm, aproximadamente 101 nm, aproximadamente 102 nm, aproximadamente 103 nm, aproximadamente 104 nm, aproximadamente 105 nm, aproximadamente 106 nm, aproximadamente 107 nm, aproximadamente 108 nm, aproximadamente 109 nm, aproximadamente 110 nm, aproximadamente 111 nm, aproximadamente 112 nm, aproximadamente 113 nm, aproximadamente 114 nm, aproximadamente 115 nm, aproximadamente 116 nm, aproximadamente 117 nm, aproximadamente 118 nm, aproximadamente 119 nm, aproximadamente 120 nm, aproximadamente 121 nm, aproximadamente 122 nm, aproximadamente 123 nm, aproximadamente 124 nm, aproximadamente 125 nm, aproximadamente 130 nm, aproximadamente 140 nm, aproximadamente 150 nm, aproximadamente 200 nm, aproximadamente 250 nm, aproximadamente 300 nm, aproximadamente 350 nm, aproximadamente 400 nm, aproximadamente 450 nm o aproximadamente 500 nm. Normalmente, cuando se mide el tamaño del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas con herramientas de microscopía electrónica, el tamaño del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas que representa el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y de agregados de nanopartículas está comprendido entre aproximadamente 5 nm, aproximadamente 6 nm, aproximadamente 7 nm, aproximadamente 8 nm, aproximadamente 9 nm, aproximadamente 10 nm, aproximadamente 11 nm, aproximadamente 12 nm, aproximadamente 13 nm, aproximadamente 14 nm, aproximadamente 15 nm, aproximadamente 16 nm, aproximadamente 17 nm, aproximadamente 18 nm, aproximadamente 19 nm, aproximadamente 20 nm, aproximadamente 21 nm, aproximadamente 22 nm, aproximadamente 23 nm, aproximadamente 24 nm, aproximadamente 25 nm, aproximadamente 26 nm,

aproximadamente 27 nm, aproximadamente 28 nm, aproximadamente 29 nm, aproximadamente 30 nm,
aproximadamente 31 nm, aproximadamente 32 nm, aproximadamente 33 nm, aproximadamente 34 nm,
aproximadamente 35 nm, aproximadamente 36 nm, aproximadamente 37 nm, aproximadamente 38 nm,
aproximadamente 39 nm, aproximadamente 40 nm, aproximadamente 41 nm, aproximadamente 42 nm,
5 aproximadamente 43 nm, aproximadamente 44 nm o aproximadamente 45 nm y aproximadamente 75 nm,
aproximadamente 76 nm, aproximadamente 77 nm, aproximadamente 78 nm, aproximadamente 79 nm,
aproximadamente 80 nm, aproximadamente 81 nm, aproximadamente 82 nm, aproximadamente 83 nm,
aproximadamente 84 nm, aproximadamente 85 nm, aproximadamente 86 nm, aproximadamente 87 nm,
aproximadamente 88 nm, aproximadamente 89 nm, aproximadamente 90 nm, aproximadamente 91 nm,
10 aproximadamente 92 nm, aproximadamente 93 nm, aproximadamente 94 nm, aproximadamente 95 nm,
aproximadamente 96 nm, aproximadamente 97 nm, aproximadamente 98 nm, aproximadamente 99 nm,
aproximadamente 100 nm, aproximadamente 101 nm, aproximadamente 102 nm, aproximadamente 103 nm,
aproximadamente 104 nm, aproximadamente 105 nm, aproximadamente 106 nm, aproximadamente 107 nm,
aproximadamente 108 nm, aproximadamente 109 nm, aproximadamente 110 nm, aproximadamente 111 nm,
15 aproximadamente 112 nm, aproximadamente 113 nm, aproximadamente 114 nm, aproximadamente 115 nm,
aproximadamente 116 nm, aproximadamente 117 nm, aproximadamente 118 nm, aproximadamente 119 nm,
aproximadamente 120 nm, aproximadamente 121 nm, aproximadamente 122 nm, aproximadamente 123 nm,
aproximadamente 124 nm, aproximadamente 125 nm, aproximadamente 130 nm, aproximadamente 140 nm,
aproximadamente 150 nm, aproximadamente 200 nm, aproximadamente 250 nm, aproximadamente 300 nm,
20 aproximadamente 350 nm, aproximadamente 400 nm, aproximadamente 450 nm, aproximadamente 500 nm o
aproximadamente 520 nm. Según la invención, la mediana del mayor tamaño del núcleo de la nanopartícula o
agregado de nanopartículas de la población es de al menos 30 nm cuando el material es un material conductor, un
material semiconductor o un material aislante con $\varepsilon_{ijk} \geq 200$.

25 **Composición de las nanopartículas**

Nanopartícula preparada a partir de un material conductor

La nanopartícula preparada a partir de un material conductor metálico es una nanopartícula inorgánica.

La nanopartícula inorgánica preparada a partir de un material conductor se prepara con un elemento metálico que
tiene un valor del potencial de reducción estándar E^0 igual o superior a aproximadamente 0,01, normalmente cuando
se mide a 25 °C y a una presión de 1 atm con respecto al electrodo de hidrógeno estándar (véase la Tabla 2 "*reduction
reactions having E^0 values more positive than that of the standard hydrogen electrode*", 8-25, Handbook of chemistry
35 and physics; David R. Lide; 88.^a edición), más preferentemente igual o superior a aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4
o 0,5. Los elementos metálicos usados para preparar las nanopartículas se seleccionan de Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt, Au y
una mezcla de los mismos. Preferentemente, el elemento metálico usable como material conductor para preparar las
nanopartículas se selecciona de Ir, Pd, Pt, Au y una mezcla de los mismos, aún más preferentemente, se selecciona
de Au, Pt, Pd y cualquier mezcla de los mismos. Los materiales particularmente preferidos son Au y Pt.

Normalmente, las nanopartículas de oro han mostrado actividad catalítica cuando su tamaño se reduce a unos
pocos nm (véase M. Auffan et al., Nature Nanotechnology 2009, 4(10), 634-641: *Towards a definition of inorganic
nanoparticles from an environmental, health and safety perspective*). Para reducir la relación de superficie/volumen y
de este modo minimizar la contribución de la superficie de las nanopartículas inorgánicas a la actividad catalítica, se
45 prefiere una mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la
población de al menos 30 nm, normalmente de al menos 40 nm o al menos 45 nm. De manera interesante, los
inventores han descubierto que las nanopartículas de oro con una mediana de tamaño mayor del núcleo de la
nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población igual a 45 nm y/o un tamaño del núcleo de la
nanopartícula o del agregado de nanopartículas que representa el percentil del 30 %-70 % de la población de
50 nanopartículas y agregados de nanopartículas entre 42 nm y 49 nm, eran más eficientes para prevenir/rescatar de los
efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal que las partículas de oro con una mediana de tamaño
mayor del núcleo de la nanopartícula de la población igual a 15 nm y/o un tamaño del núcleo de la nanopartícula o del
agregado de nanopartículas que representa el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y agregados
de nanopartículas entre 14 nm y 16 nm, conteniendo las nanopartículas de oro ensayadas la misma concentración de
55 oro (véanse los Ejemplos 9 y 10).

En un aspecto particular, la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de
nanopartículas de la población es de al menos 30 nm o de al menos 40 nm y preferentemente inferior a 500 nm, como
se ha descrito anteriormente en el presente documento, por ejemplo, de 45 nm, cuando el material es un material
60 conductor como se ha descrito anteriormente en el presente documento, en particular, un material metálico,
normalmente un metal que tiene un potencial de reducción estándar E^0 superior a 0,2, preferentemente, un material
metálico como se ha descrito anteriormente en el presente documento, en particular, uno cualquiera de Au, Pt, Pd y
cualquier mezcla de los mismos.

65 ***Nanopartícula preparada a partir de un material semiconductor***

La nanopartícula preparada a partir de un material semiconductor es como se define en las reivindicaciones. Una nanopartícula preparada a partir de un material semiconductor es una nanopartícula inorgánica, preparada normalmente con un material semiconductor que presenta una brecha energética (E_g) relativamente pequeña entre sus bandas de valencia y de conducción. Normalmente, el material semiconductor tiene una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV, normalmente cuando se mide a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) (véase, por ejemplo, la tabla 12-77, Tabla 3; Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88.^a edición). En un aspecto particular, el material es un material semiconductor intrínseco o un material semiconductor extrínseco, como se describe con más detalle más adelante en el presente documento.

Los materiales semiconductores intrínsecos consisten normalmente en un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, tal como silicio (Si) o germanio (Ge), en una composición mixta de elementos de los grupos III y V de la tabla periódica de Mendeléyev, tal como AlSb, AlN, GaP, GaN, InP, InN, etc.

Los materiales semiconductores extrínsecos normalmente comprenden o consisten en un semiconductor intrínseco preparado con un alto grado de pureza química, en donde el material semiconductor intrínseco comprende un dopante. En un aspecto particular, cuando el material semiconductor extrínseco de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas consiste en un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, se dopa con un portador de carga seleccionado de Al, B, Ga, In y P. Dichos materiales semiconductores extrínsecos pueden ser o bien de tipo n en los que predominan los portadores de carga negativa o de tipo p, en los que predominan los portadores de carga positiva. El material semiconductor extrínseco de tipo p consiste en silicio (Si) o germanio (Ge) dopado con un portador de carga seleccionado de aluminio (Al), boro (B), galio (Ga) e indio (In); el material semiconductor extrínseco de tipo p consiste en silicio (Si) o germanio (Ge) normalmente dopado con fósforo (P).

Normalmente, se mostró que la brecha energética de las nanopartículas semiconductoras aumenta cuando se reduce el tamaño de las nanopartículas por debajo de 10 nm (véase M. Auffan et Nature Nanotechnology 2009, 4(10), 634-641: *Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective*). Para garantizar una baja relación de superficie/volumen y mantener una brecha energética en bruto de las nanopartículas o agregados de nanopartículas por debajo de 3,0 eV, se prefiere una mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población de al menos 30 nm, preferentemente de al menos 40 nm.

Por tanto, en un aspecto particular, la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población es de al menos 30 nm o de al menos 40 nm y preferentemente inferior a 500 nm, cuando el material es un material semiconductor como se ha descrito anteriormente en el presente documento, en particular, un material semiconductor con una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV, normalmente un material que consiste en un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, en particular, un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev dopado con un portador de carga seleccionado de Al, B, Ga, In y P.

Nanopartícula preparada a partir de un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativamente elevada (permitividad relativa), es decir, igual o superior a 200

Las nanopartículas preparadas a partir de un material aislante con una constante dieléctrica $\epsilon_{ijk} \geq 200$ son como se definen en las reivindicaciones. Las nanopartículas preparadas a partir de o que consisten en un material aislante que tiene una elevada constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} (también denominada permitividad relativa) se preparan con un material que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV, normalmente cuando se mide a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y una constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} igual o superior a 200, que se mide normalmente a entre 20 °C y 30 °C y a entre 10^2 Hz hasta la frecuencia infrarroja (véase, por ejemplo, la tabla 12-45 "Permittivity (dielectric constant) of inorganic solid"; Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88.^a edición; Compilation of the static dielectric constant of inorganic solid. K.F. Young y H.P.R. Frederikse. J. Phys. Chem. Ref. Data, Vol. 2, n.º 2, 1973).

Dichas nanopartículas se preparan normalmente con un material dieléctrico que es un óxido de metal mixto seleccionado de BaTiO₃, PbTiO₃, KTaNbO₃, KTaO₃, SrTiO₃, BaSrTiO₃, como se define en las reivindicaciones.

Normalmente, las nanopartículas de PbTiO₃ con estructura basada en perovskita han mostrado un cambio de su temperatura de transición de paraeléctrica a ferroeléctrica para tamaños de nanopartículas inferiores a 20 nm - 30 nm (véase M. Auffan et al., Nature Nanotechnology 2009, 4(10), 634-641: *Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective*). Para garantizar una baja relación de superficie/volumen y mantener las propiedades dieléctricas de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas, se prefiere una mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población de al menos 30 nm, normalmente de al menos 40 nm.

Por tanto, en un aspecto particular, la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población es de al menos 30 nm o de al menos 40 nm y preferentemente inferior a 500 nm, cuando el material es un material aislante como se describe anteriormente en el presente documento que tienen una elevada constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} igual o superior a 200, en particular, un material aislante con una brecha

energética E_g igual o superior a 3,0 eV, preferentemente un óxido de metal mixto seleccionado de BaTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 y BaSrTiO_3 .

Nanopartícula preparada a partir de un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativamente baja (permitividad relativa), es decir, igual o inferior a 100

Las nanopartículas preparadas a partir de un material aislante con una constante dieléctrica $\epsilon_{ijk} \leq 200$ son como se definen en las reivindicaciones. Las nanopartículas preparadas a partir de o que consisten en un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativamente baja se preparan con un material que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV, normalmente cuando se mide a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y una constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} igual o inferior a 100, preferentemente inferior a 50 o inferior a 20, que normalmente se mide a entre 20 °C y 30 °C y a entre 102 Hz hasta la frecuencia infrarroja, (véase, por ejemplo, la tabla 12-45 "Permittivity (dielectric constant) of inorganic solid", Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88.^a edición; Compilation of the static dielectric constant of inorganic solid. K.F. Young y H.P.R. Frederikse. J. Phys. Chem. Ref. Data, Vol. 2, n.º 2, 1973).

Dichas nanopartículas se preparan normalmente con un material dieléctrico que se selecciona de Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y diamante de carbono. Más preferentemente, el material dieléctrico es un óxido metálico seleccionado de ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y cualquier mezcla de los mismos. Se prefiere particularmente un material dieléctrico seleccionado de ZrO_2 y HfO_2 . En un aspecto particular preferido, el material dieléctrico o el óxido de metal no es CeO_2 (óxido de cerio), Fe_3O_4 (óxido de hierro), SiO_2 (sílice) o cualquier mezcla de los mismos.

El circonio (Zr) y el hafnio (Hf) son ambos elementos con un estado de oxidación 4+ y, los elementos Zr^{4+} y Hf^{4+} son prácticamente idénticos en tamaño y propiedades químicas; este es el motivo por el que estos dos iones se toman en consideración de manera conjunta cuando se establece su química acuosa (véase el capítulo 8, sección 8.2, Zr^{4+} y Hf^{4+} , p. 147 "The hydrolysis of cations", Baes C.F. y Mesmer R.E.; John Wiley and Sons, Inc. edición reimpressa 1986).

En un aspecto particular, la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas de la población es de al menos 10 nm y preferentemente inferior a 500 nm, como se ha descrito anteriormente en el presente documento, cuando el material se selecciona de ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 , preferentemente, de ZrO_2 y HfO_2 y cualquier mezcla de los mismos, como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

La forma de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas

Debido a que la forma de la partícula o agregado puede tener influencia en su "biocompatibilidad", se prefiere una partícula o agregado que tenga una forma bastante homogénea. Por motivos farmacocinéticos, se prefieren nanopartículas o agregados que tengan una forma esencialmente esférica, redonda u ovoide. Dicha forma también favorece la interacción de la nanopartícula o los agregados con células o la captación por células. Se prefiere particularmente una forma esférica o redonda.

La forma de la nanopartícula o el agregado de nanopartículas se evalúa normalmente usando microscopía electrónica, tal como microscopía electrónica de transmisión (TEM).

El recubrimiento biocompatible de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas

El recubrimiento de las nanopartículas es como se define en las reivindicaciones.

En una realización preferida, el núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas usado en el contexto de la presente invención para preparar una composición de interés puede recubrirse con un material biocompatible seleccionado de un agente que muestra propiedades de camuflaje. Un agente que muestra propiedades de camuflaje puede ser un agente que muestra un grupo estérico. Dicho grupo puede seleccionarse, por ejemplo, de poliacrilato; poliacrilamida (poli(N-isopropilacrilamida)); policarbamida; un biopolímero; un polisacárido, tal como dextrano o xilano; y colágeno. En otra realización preferida, el núcleo de las nanopartículas o agregados de nanopartículas puede recubrirse con un material biocompatible seleccionado de un agente que permite la interacción con una diana biológica. Dicho agente puede aportar normalmente una carga negativa a la superficie de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas. Un agente que forma una carga negativa en la superficie de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser, por ejemplo, un fosfato (por ejemplo, un polifosfato, un metafosfato, un pirofosfato, etc.), un carboxilato (por ejemplo, citrato o ácido dicarboxílico, en particular, ácido succínico) o un sulfato.

En una realización preferida, el núcleo de la partícula o el agregado de nanopartículas usado en el contexto de la presente invención presenta una carga superficial neutra hidrófila o está recubierto con un material biocompatible (es decir, un agente de recubrimiento) seleccionado de un agente hidrófilo que confiere una carga superficial neutra a la nanopartícula. De hecho, cuando se administran las nanopartículas de la presente invención a un sujeto, las nanopartículas que presentan una carga superficial neutra hidrófila o el núcleo de las nanopartículas recubierto con un agente biocompatible seleccionado de un agente hidrófilo que confiere una carga superficial neutra a las

nanopartículas son particularmente ventajosos para optimizar el uso de las nanopartículas descritas en el presente documento para tratar una enfermedad neurológica.

Un agente hidrófilo que confiere una carga superficial neutra al núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser un agente que muestra un grupo funcional seleccionado de un alcohol (R-OH), un aldehído (R-COH), una cetona (R-CO-R), un éster (R-COOR), un ácido (R-COOH), un tiol (R-SH), un sacárido (glucosa, fructosa, ribosa, por ejemplo), un anhídrido (RCOOOC-R) y un pirrol. El agente hidrófilo que confiere una carga superficial neutra al núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser un monómero, un dímero, un oligómero, un polímero o un copolímero. Cuando el agente es un oligómero, puede ser un oligosacárido, tal como una ciclodextrina. Cuando el agente es un polímero, puede ser un poliéster (tal como un poli(ácido láctico) o un ácido polihidroxialcanoico), un poliéter, un poli(óxido de etileno), un polietilenglicol, un poli(alcohol vinílico), una policaprolactona, una polivinilpirrolidona, un polisacárido, tal como una celulosa, un polipirrol, etc.

Además, un agente hidrófilo que confiere carga superficial neutra al núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser un agente que muestra grupos específicos (R-) capaces de interactuar con la superficie de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas. R se selecciona normalmente de un tiol, un silano, un carboxílico y un grupo fosfato.

Cuando el núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas es un conductor o un semiconductor y una nanopartícula metálica, R es preferentemente un tiol, un tioéter, un tioéster, un ditiolano o un grupo carboxílico. Preferentemente, el agente de recubrimiento neutro hidrófilo se selecciona entre una tioglucosa, un 2-mercaptoetanol, un 1-tioglicerol, un tioglicol y un ácido hidroxibutírico.

Cuando el núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas es un aislante y una nanopartícula de óxido o de óxido mixto, R es preferentemente un silano o un grupo fosfato. Preferentemente, el agente de recubrimiento hidrófilo neutro es un hidroximetiltrietoxisilano, una fructosa-6-fosfato o un compuesto de glucosa-6-fosfato.

Un agente hidrófilo que confiere una carga superficial neutra al núcleo de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser un compuesto de ion bipolar, tal como un aminoácido, un péptido, un polipéptido, una vitamina o un fosfolípido.

La carga superficial de una nanopartícula o un agregado de nanopartículas se determina normalmente, como bien saben los expertos en la materia, mediante mediciones del potencial zeta, normalmente en (una disolución de) agua que tiene una concentración de material de nanopartículas o de agregado de nanopartículas entre 0,01 y 10 g/l, un pH de entre 6 y 8 y normalmente, una concentración de electrolitos (en agua) de entre 0,001 y 0,2 M, por ejemplo, 0,01 M o 0,15 M. En las condiciones definidas anteriormente en el presente documento, la carga superficial de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas está comprendida normalmente entre -10 mV y +10 mV (correspondiente a una carga superficial neutra), entre -20 mV y +10 mV o entre -35 mV y +10 mV. Cuando es neutra, la carga superficial de las nanopartículas o del agregado de nanopartículas está normalmente comprendido entre -10 mV, -9 mV, -8 mV, -7 mV, -6 mV, -5 mV, -4 mV, -3 mV, -2 mV o -1 mV y 1 mV, 2 mV, 3 mV, 4 mV, 5 mV, 6 mV, 7 mV, 8 mV, 9 mV o 10 mV. Cuando es negativa, la carga superficial de las nanopartículas o del agregado de nanopartículas es normalmente inferior a -11 mV, -12 mV, -13 mV, -14 mV, -15 mV, -16 mV, -17 mV, -18 mV, -19 mV, -20 mV, -21 mV, -22 mV, -23 mV, -24 mV, -25 mV, -26 mV, -27 mV, -28 mV, -29 mV, -30 mV, -31 mV, -32 mV, -33 mV, -34 mV o -35 mV.

Un recubrimiento totalmente biocompatible de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas puede ser ventajoso en el contexto de la presente invención para evitar cualquier carga eléctrica en la superficie de la nanopartícula, cuando la nanopartícula presenta una carga superficial neutra hidrófila. El "recubrimiento completo" implica la presencia de una muy alta densidad/compacidad de moléculas biocompatibles capaces de crear al menos una monocapa completa sobre la superficie de la partícula.

El recubrimiento biocompatible permite en particular la estabilidad de la nanopartícula en un líquido, tal como un líquido fisiológico (sangre, plasma, suero, etc.) o cualquier medio isotónico o medio fisiológico requerido para una administración farmacéutica.

La estabilidad puede confirmarse mediante cuantificación de extracto seco usando una estufa de secado y medirse en una suspensión de nanopartículas antes y después de la filtración, normalmente en un filtro de 0,45 µm.

Ventajosamente, el recubrimiento conserva la integridad de la partícula *in vivo*, asegura o mejora la biocompatibilidad de la misma y facilita una funcionalización opcional de la misma (por ejemplo, con moléculas espaciadoras, polímeros biocompatibles, agentes de direccionamiento, proteínas, etc.).

La nanopartícula o el agregado de nanopartículas biocompatible de la invención no debe disolverse ni liberar especies tóxicas después de la administración *in vivo* (es decir, a pH fisiológico) ni presentar un comportamiento redox, normalmente para que dicha nanopartícula o agregado de nanopartículas se considere biocompatible, es decir, para que se use con seguridad en un sujeto, en particular, en un mamífero, preferentemente en un ser humano.

Otro objeto particular descrito en el presente documento se refiere a una composición, en particular una composición farmacéutica, que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas como se ha definido anteriormente en el presente documento, preferentemente junto con un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto sin exposición de la nanopartícula o agregado de nanopartículas a un campo eléctrico y sin exposición de la misma a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos, en donde la composición comprende, o consiste en, nanopartículas y/o agregados de nanopartículas y un soporte farmacéuticamente aceptable, y en donde el material de nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona de un material conductor que es un metal seleccionado de Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt y/o Au, un material semiconductor con una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV seleccionado de un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual a o superior a 200 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) que es un óxido metálico mixto seleccionado de BaTiO_3 , PbTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 y BaSrTiO_3 , y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) seleccionado de Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y diamante de carbono como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y en donde la nanopartícula o el agregado de nanopartículas no se usa como portador de compuesto(s) terapéutico(s) o fármaco(s), en donde, cuando el material es un conductor, proporcionando el recubrimiento biocompatible una carga superficial negativa que se elige de un agente que proporciona un fosfato, un citrato, un ácido dicarboxílico o un sulfato, y en donde, cuando el recubrimiento biocompatible es un polímero, dicho recubrimiento se selecciona de poli(acrilamida), policarbamida, un biopolímero, un polisacárido, colágeno, poliéster, poliéter, poli(óxido de etileno), polietilenglicol, poli(alcohol vinílico), polycaprolactona, polivinilpirrolidona y polipirrol.

En un aspecto preferido, la composición comprende o consiste en al menos dos nanopartículas y/o agregados de nanopartículas distintos descritos anteriormente.

Según la invención, la(s) nanopartícula(s) o agregado(s) de nanopartículas descritos anteriormente no se usan como portador(es) de compuesto(s) o fármaco(s) terapéutico(s) (activos).

En un aspecto particular, la composición puede comprender las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la invención, junto con un agente terapéutico. En el contexto de la presente invención, dicho agente terapéutico normalmente no es una nanopartícula ni un agregado de nanopartículas. El agente terapéutico puede seleccionarse de cualquier fármaco usado en un tratamiento para trastornos neurológicos. El agente terapéutico se selecciona normalmente de antipsicóticos, antidopaminérgicos, dopaminérgicos, anticolinérgicos, colinérgicos, antiglutamatérgicos, glutamatérgicos, inhibidores de acetilcolinesterasa, antagonistas del receptor de N-metil D-aspartato (NMDA), agonistas de ácido gamma-aminobutírico (GABA), toxina botulínica, fármacos antidistónicos, fármacos antiepilépticos, anticonvulsivos, estabilizantes del estado de ánimo, antidepresivos y sedantes.

La composición puede estar en forma de un sólido, líquido (partículas en suspensión), aerosol, gel, pasta y similares. Las composiciones preferidas están en forma de líquido o gel. Las composiciones particularmente preferidas están en forma líquida.

El soporte o portador farmacéuticamente aceptable que se emplea puede ser cualquier soporte clásico para la persona experta, tal como, por ejemplo, una solución salina isotónica estéril tamponada, una disolución de vehículo no acuoso y similares.

La composición también puede comprender estabilizantes, edulcorantes, tensioactivos, polímeros y similares.

Por ejemplo, puede formularse como una ampolla, aerosol, frasco, comprimido, cápsula, usando técnicas de formulación farmacéutica conocidas por el experto.

Las nanopartículas o agregados de nanopartículas de la invención pueden administrarse al sujeto usando diferentes vías posibles, tales como intracraneal, intravenosa (IV), vías respiratorias (inhalación), intratecal, intraocular u oral (por vía oral), intracerebroventricular (ICV), preferentemente usando la intracraneal o intratecal. Pueden efectuarse inyecciones o administraciones repetidas de nanopartículas, cuando sea adecuado. Preferentemente, las nanopartículas o agregados de nanopartículas se administrarán una vez.

Las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, una vez que se han administrado, normalmente interactúan con las neuronas del sujeto. En un aspecto preferido, esta interacción es una interacción prolongada, es decir, una interacción de varias horas, días, semanas o meses. En un aspecto particular, las nanopartículas o agregados de nanopartículas permanecen en el sujeto.

Las nanopartículas o agregados de nanopartículas descritos en el presente documento y las composiciones que comprenden dichas nanopartículas o agregados de nanopartículas son para su uso en un sujeto, normalmente para su uso en un animal, preferentemente en un mamífero, aún más preferentemente, en un ser humano, normalmente un paciente humano, de cualquier edad o sexo.

La(s) cantidad(es) típica(s) de nanopartículas o agregados de nanopartículas que se van a administrar en la corteza cerebral, el hipocampo y/o el complejo amigdalino del sujeto es (son) de entre 10^5 y 10^{17} , entre 10^5 y 10^{16} o entre 10^5 y 10^{15} , preferentemente, entre 10^7 y 10^{14} , más preferentemente, entre 10^9 y 10^{12} . Asimismo, la(s) cantidad(es) típica(s) de nanopartículas o agregados de nanopartículas que se van a administrar en la corteza cerebral, el hipocampo y/o el complejo amigdalino del sujeto es (son) de entre 10^2 y 10^{12} nanopartículas o agregados de nanopartículas por cm^3 .

La(s) cantidad(es) típica(s) de nanopartículas o agregados de nanopartículas que se van a administrar en el cerebro profundo del sujeto es (son) de entre 10^4 y 10^{17} , entre 10^4 y 10^{16} , entre 10^4 y 10^{15} o entre 10^4 y 10^{14} , preferentemente, entre 10^6 y 10^{12} , más preferentemente, entre 10^8 y 10^{11} . Asimismo, la(s) cantidad(es) típica(s) de nanopartículas o agregados de nanopartículas que se van a administrar en el cerebro profundo del sujeto es (son) de entre 10^1 y 10^{11} nanopartículas o agregados de nanopartículas por cm^3 .

Asimismo, en el presente documento se describe (pero no es parte de la invención reivindicada) un método para prevenir o tratar una enfermedad neurológica o al menos un síntoma de la misma en un sujeto, en donde el método comprende una etapa de administrar una cualquiera de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas descritos en el presente documento al sujeto. Este método normalmente no incluye ninguna etapa de exponer al sujeto y más precisamente, a las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que se han administrado a dicho sujeto, a un campo eléctrico y preferentemente tampoco incluye ninguna etapa de exponer al sujeto y más precisamente, a las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que se han administrado a dicho sujeto, a cualquier otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos.

Un objeto adicional descrito en el presente documento (pero no es parte de la invención reivindicada) se refiere a un kit que comprende o consiste en al menos dos nanopartículas distintas y/o al menos dos agregados de nanopartículas distintos como se describen en el presente documento, consistiendo cada nanopartícula o agregado de nanopartículas en un material distinto seleccionado normalmente de un material conductor, un material semiconductor, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200 y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 como se describen en el presente documento.

En una descripción particular en el presente documento, el kit comprende, en distintos recipientes, distintas nanopartículas y/o agregados de nanopartículas como se describen en el presente documento (que están pensados para ponerse en contacto, normalmente mezclarse, ya sea *in situ*, es decir, en el sitio diana o *in vitro* o *ex vivo* antes de la deposición de la mezcla en el sitio diana). Un objeto adicional se refiere a un kit que comprende además al menos un agente terapéutico adicional, distinto de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas como se describen en el presente documento, tal como un antipsicótico, antidopaminérgico, dopaminérgico, anticolinérgico, colinérgico, antiglutamatérgico, glutamatérgico, inhibidor de acetilcolinesterasa, antagonista del receptor de N-metil D-aspartato (NMDA), agonista de ácido gamma-aminobutírico (GABA), toxina botulínica, fármaco antidistónico, fármaco antiepiléptico, anticonvulsivos, estabilizante del estado de ánimo, antidepresivo y sedante, que el experto en la materia será capaz de seleccionar dependiendo de la naturaleza de la enfermedad diana. Como se ha explicado anteriormente en el presente documento, dicho agente terapéutico adicional normalmente no es una nanopartícula ni un agregado de nanopartículas.

Asimismo, en el presente documento se describe (pero no es parte de la invención reivindicada) el uso, *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*, de dicho kit en un método para prevenir o tratar una enfermedad neurológica como se describe en el presente documento o al menos un síntoma de la misma en un sujeto, sin exposición de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas administrados al sujeto a un campo eléctrico y preferentemente, sin exponerlos a ninguna otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos. Asimismo, en el presente documento se divulga un kit como se describe en el presente documento para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica o de al menos un síntoma de la misma en un sujeto, sin exposición de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas administrados al sujeto a un campo eléctrico y preferentemente, sin exponerlos a ninguna otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos.

A nivel neuronal, se ha descrito que las nanopartículas potencian o inhiben la excitabilidad eléctrica de las neuronas. Por ejemplo, se observó que las nanopartículas de óxido de cinc, nanotubos de carbono y de oro potencian la excitabilidad eléctrica de las neuronas, mientras que se observó que el óxido de cobre, la plata, el negro de humo, el óxido de hierro y el óxido de titanio inhiben la excitabilidad eléctrica de las neuronas (Polak P y Shefi O. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 11 (2015) 1467-1479, *Nanometric agents in the service of neuroscience: Manipulation of neuronal growth and activity using nanoparticles*).

Los estudios de influencia sistémica en los sistemas neuronales de nanopartículas de plata recubiertas (cAgNP) - usando polímero anfífilo de polietilenglicol - [cAgNP con un diámetro hidrodinámico de $13 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ (técnica de

dispersión de luz dinámica) y potencial zeta de -69 mV (Zetasizer Nano) en agua pura]) demostraron que las nanopartículas indujeron cambios en el mecanismo que afecta a la excitabilidad. Además, la estimulación de la red neuronal demostró que los cambios inducidos por cAgNP a nivel local dan como resultado cambios en la actividad de red en la red completa, lo que indica que la aplicación local de cAgNP puede influenciar la actividad por toda la red (Busse M. et al. International Journal of Nanomedicine 2013:8 3559-3572, *Estimating the modulatory effects of nanoparticles on neuronal circuits using computational upscaling*).

Asimismo, se ha descrito que el aumento de la excitabilidad de las neuronas asociadas con nanopartículas de oro intracelulares tiene potenciales efectos perjudiciales en las neuronas en condiciones patológicas, tales como crisis epilépticas (Jung S, et al. PLOS ONE 2014, 9(3) e91360, *Intracellular gold nanoparticles increase neuronal excitability and aggravate seizure activity in the mouse brain*).

Las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la presente invención son para su uso para prevenir o tratar/para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo, normalizando la sincronización de las oscilaciones dentro de y/o entre redes neuronales dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro, sin exposición de dichas nanopartículas o agregados de nanopartículas a un campo eléctrico y sin exposición de los mismos a ninguna otra fuente de activación externa, tal como una fuente de luz, un campo magnético o una fuente de ultrasonidos. Como se ilustra en las Figuras 2 y 3, la comunicación dentro de y/o entre distintas regiones del cerebro se ve afectada en la enfermedad neurológica. Según el trastorno neurológico y los síntomas asociados, la exposición de áreas específicas del cerebro a las nanopartículas de la presente invención mejorará la comunicación mediante la normalización de la sincronización de oscilaciones dentro de y/o entre redes neuronales dentro y/o entre distintas regiones del cerebro (es decir, normalización de la coherencia) (Figuras 4 y 5).

Los ejemplos que siguen y sus figuras correspondientes ilustran la invención.

Figuras

Figura 1. Representación esquemática del cerebro (plano sagital).

Figura 2. Hipersincronía y sincronía alterada entre dos redes neuronales.

Figura 3. Áreas cerebrales implicadas en diversas enfermedades neurológicas.

Figura 4. Efecto de las nanopartículas (NP) en la normalización de la hipersincronía (trastornos motores).

Figura 5. Efecto de las nanopartículas (NP) en la normalización de la sincronía deteriorada (trastornos psiquiátricos y cognitivos).

Figura 6. Esquema experimental de la inducción de enfermedad de Parkinson con tratamiento con MPP⁺ y registro de la actividad eléctrica.

Se prepararon los cocultivos de mesencéfalo/corteza ventral de ratón a partir de ratones E14.5 NMRI y se cultivaron en MEA de 48 pocillos durante 3 semanas (periodo total de cultivo). Los cultivos se trataron después de 7 días en cultivo (día 7) con las suspensiones de nanopartículas (grupos de "nanopartículas"), GDNF (20 ng/ml) (grupo de "referencia") o agua (grupo de "Control" y grupo de "MPP⁺") y en el día 8 con MPP⁺ (20 μM) (grupos de "nanopartículas", grupo de "referencia" y grupo de "MPP⁺") o agua (grupo de "Control"). La actividad espontánea se registró en el día 21.

Figura 7. Esquema de dos ráfagas simplificadas que indican algunos de los parámetros que pueden extraerse del registro de actividad eléctrica. Se indican los parámetros que describen la actividad general (pico, ráfaga, intervalo entre ráfagas (IBI) y periodo de la ráfaga) y estructura de la ráfaga (duración de la ráfaga, estabilización de la ráfaga, amplitud de la ráfaga, intervalo entre picos de la ráfaga (ISI) y área de la ráfaga). Las desviaciones estándar (DE) de estos parámetros son medidas de la regularidad de la actividad general y de la estructura de la ráfaga, respectivamente. El coeficiente de variación en el tiempo (CVtiempo) refleja la regularidad temporal del patrón de actividad de cada unidad. CVtiempo se calcula mediante la relación de la desviación estándar y la media del parámetro. El coeficiente de variación entre la red (CVred) refleja la sincronización entre neuronas dentro de la red. CVred se calcula mediante la relación de la desviación estándar del parámetro entre la media a lo largo de la red. Los valores de CVred elevados implican un amplio intervalo de variación en la actividad a través de la red, lo que significa menos sincronización.

Figura 8. Efectos funcionales observados en los grupos de "Nanopartículas" (nanopartículas de los Ejemplos 1 y 2) y el grupo de "Referencia", en comparación con el grupo de "Control" y el grupo de "MPP⁺" en la

actividad de red en el mesencéfalo/corteza. Los datos muestran efectos funcionales inducidos por MPP⁺ y demuestran la eficacia de prevención/rescate permitida por las nanopartículas de la invención o por GDNF (es decir, la capacidad para prevenir/rescatar los efectos funcionales hasta un nivel similar al de un grupo de "Control").

Figura 9. Efectos funcionales observados en los grupos de "Nanopartículas" (nanopartículas de los Ejemplos 5 y 6) en comparación con el grupo de "Control" y el grupo de "MPP⁺" en la actividad de red en el mesencéfalo/corteza. Los datos muestran efectos funcionales inducidos por MPP⁺ y demuestran la eficacia de prevención/rescate permitida por las nanopartículas de la invención (es decir, la capacidad para prevenir/rescatar los efectos funcionales hasta un nivel similar al de un grupo de "Control").

Figura 10. Análisis de la puntuación de efecto para los grupos de "Nanopartículas", el grupo de "Referencia", el grupo de "Control" y el grupo de "MPP⁺".

Figura 11. Esquema experimental de la inducción de enfermedad de Alzheimer con amiloide beta 1-42 (Abeta 1-42), tratamiento y registros de la actividad eléctrica. Después de 4 semanas en cultivos (periodo de cultivo), se añadieron Abeta 1-42 (100 nM) (grupo de "Nanopartículas", grupo de "Referencia" y grupo de "Abeta") o agua (grupo de "Control") (T0) a la red neuronal. Cuatro (4) horas después, se añadieron las suspensiones de nanopartículas (grupos de "Nanopartículas"), donepezil (300 nM) (grupo de "Referencia") o agua (grupo de "Control" y grupo de "Abeta"). La actividad espontánea se registró del siguiente modo:

- en T0 (antes de la adición de Abeta 1-42)
- en T0 + 1 h, +2h, +3h, +4h (antes de la adición de nanopartículas, donepezil o agua), +5h y +6h.

Figura 12. Efectos funcionales observados en los grupos de "Nanopartículas" y el grupo de "Referencia", en comparación con el grupo de "Control" y el grupo de "Abeta 1-42" en la actividad de red de la corteza. Los datos muestran los efectos funcionales de Abeta 1-42 y demuestran la eficacia de rescate permitida por las nanopartículas de la invención o por donepezil (es decir, la capacidad para rescatar los efectos funcionales hasta un nivel similar al del grupo de "Control").

Figura 13. Análisis de la puntuación de efecto para los grupos de "Nanopartículas", el grupo de "Referencia", el grupo de "Control" (puntuación de efecto = 0) y el grupo de "Abeta" (puntuación de efecto = 1).

Figura 14. Imágenes de TEM representativas de nanopartículas de oro del Ejemplo 9, la mediana del tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas de la población es igual a 108 nm (ORO-110), 83 nm (ORO-80), 45 nm (ORO-45), 34 nm (ORO-30) y 15 nm (ORO-15), respectivamente.

Figura 15. Análisis de la puntuación de efecto para los grupos de "Nanopartículas" (nanopartículas ORO-45 y ORO-15 del Ejemplo 9), el grupo de "Control" (puntuación de efecto = 0) y el grupo de "MPP⁺" (puntuación de efecto = 1).

EJEMPLOS

Estudios in vitro de neuronas

A nivel neuronal, la técnica de pinzamiento zonal es muy útil para detectar potenciales de acción, ya que permite la medición directa simultánea y el control del potencial de membrana de una neurona.

Esta técnica se usa para evaluar los efectos de las nanopartículas en una sola neurona.

Estudios in vitro de una red de neuronas

Los cultivos de neuronas disociadas acoplados a matrices de múltiples electrodos (MEA) se usan ampliamente para entender mejor la complejidad de las redes neuronales. Además, el uso de conjuntos neuronales disociados permite la manipulación y el control de la conectividad de la red. El sistema de MEA permite los registros no invasivos simultáneos de larga duración de múltiples sitios en la red neuronal en tiempo real, aumentando la resolución espacial y de este modo, proporcionando una medida robusta de la actividad de la red. La recogida simultánea de los datos de potencial de acción y de potencial de campo a lo largo de largos periodos de tiempo permite la monitorización de las funciones de red que surgen de la interacción de todos los mecanismos celulares responsables de la generación de patrones espaciotemporales (Johnstone A. F. M. et al., *Neurotoxicology*, 2010, 31, 331-350: *Microelectrode arrays: a physiologically based neurotoxicity testing platform for the 21st century*). En comparación con el pinzamiento zonal y otras técnicas de registro de un solo electrodo, la MEA mide las respuestas de una red completa, integrando la información global con la interacción de todos los receptores, las sinapsis y los tipos neuronales que están representados en la red (Novellino A. et al., *Frontiers in Neuroengineering*, 2011, 4(4), 1-14: *Development of micro-*

electrode array based tests for neurotoxicity: assessment of interlaboratory reproducibility with neuroactive chemicals). Como tales, se han empleado registros de MEA para comprender la comunicación neuronal, la codificación, la propagación y el procesamiento de información en cultivos neuronales (Taketani, M., y Baudry, M. (2006). *Advances in Network Electrophysiology*. Nueva York, NY: Springer; Obien et al., *Frontiers in Neurosciences*, 2015, 8(423): *Revealing neuronal functions through microelectrode array recordings*). La tecnología de MEA es un sofisticado método de detección sistemática fenotípica de alto contenido para caracterizar cambios funcionales en la actividad de red en cultivos de células eléctricamente activas y es muy sensible a la neurogénesis, así como a aspectos neuroregenerativos y neurodegenerativos. Además, se sabe que las redes neuronales cultivadas en MEA son capaces de responder a compuestos neuroactivos o neurotóxicos aproximadamente a los mismos intervalos de concentración que alteran las funciones de un sistema nervioso de mamífero intacto (Xia et al., *Alcohol*, 2003, 30, 167-174: *Histiotypic electrophysiological responses of cultured neuronal networks to ethanol*; Gramowski et al., *European Journal of Neuroscience*, 2006, 24, 455-465: *Functional screening of traditional antidepressants with primary cortical neuronal networks grown on multielectrode neurochips*; Gramowski et al., *Frontiers in Neurology*, 2015, 6(158): *Enhancement of cortical network activity in vitro and promotion of GABAergic neurogenesis by stimulation with an electromagnetic field with 150MHz carrier wave pulsed with an alternating 10 and 16 Hz modulation*).

Esta técnica se usa para evaluar el efecto de las nanopartículas en red(es) neuronal(es).

Estudios *in vivo* de una red de neuronas

Se toma en consideración un modelo animal adecuado para evaluar el efecto de las nanopartículas de la invención en redes neuronales de animales.

Por ejemplo, se usan modelos de ratón de enfermedad de Parkinson para evaluar los efectos de las nanopartículas en el alivio del deterioro del comportamiento (trastornos motores). Asimismo, se usan modelos de rata o ratón de enfermedad de Alzheimer para evaluar los efectos de las nanopartículas en el aprendizaje espacial y la disfunción de memoria (trastornos cognitivos) de los animales.

EJEMPLO 1. Nanopartículas preparadas con un material conductor: síntesis de nanopartículas de oro recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial neutra.

Se sintetizaron nanopartículas de oro reduciendo una sal de cloruro de oro (HAuCl_4) con un agente de rematado (citrato de sodio) (el protocolo se adaptó de G. Frens *Nature Physical Science* 241 (1973) 21). En un experimento típico, se calentó una disolución de HAuCl_4 hasta ebullición. Posteriormente, se añadió la disolución de citrato de sodio. La disolución resultante se mantuvo en ebullición durante un periodo adicional de 5 minutos.

Se llevó a cabo una filtración a través de un filtro de $0,22\ \mu\text{m}$ (membrana de filtro: poli(éter sulfona) (PES)) de la suspensión de las nanopartículas y se determinó la concentración de oro en suspensión mediante un ensayo de espectroscopía de UV visible a 530 nm.

Se llevó a cabo un recubrimiento de la superficie usando α -metoxi- ω -mercaptopolietilenglicol de 20 kDa ("tiol-PEG20kDa"). Se añadió una cantidad suficiente de "tiol-PEG 20kDa" a la suspensión de nanopartículas hasta alcanzar al menos la cobertura de media monocapa ($2,5\ \text{moléculas/nm}^2$) en la superficie de la nanopartícula de oro. El pH se ajustó a entre 7 y 7,2 y la suspensión de nanopartículas se agitó durante una noche.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente $25\ ^\circ\text{C}$), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final: $[\text{Au}] = 0,1\ \text{g/l}$). Se observó que el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas de oro biocompatibles en suspensión obtenidas de este modo era igual a 118 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,13.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: $[\text{Au}] = 0,1\ \text{g/l}$). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era igual a -1 mV.

EJEMPLO 2. Nanopartículas preparadas con un material conductor: síntesis de nanopartículas de oro recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial negativa.

Se prepararon nanopartículas de oro como se ha descrito en el Ejemplo 1 (mismo núcleo inorgánico de oro).

Se llevó a cabo una filtración a través de un filtro de membrana de PES de $0,22\ \mu\text{m}$ y se determinó la concentración de oro en suspensión mediante un ensayo de espectroscopía de UV visible a 530 nm.

Se llevó a cabo un recubrimiento de superficie biocompatible usando ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico (DMSA). Se añadió una cantidad suficiente de DMSA a la suspensión de nanopartículas hasta alcanzar al menos la cobertura

de media monocapa (2,5 moléculas/nm²) en la superficie. El pH se ajustó a entre 7 y 7,2 y la suspensión de nanopartículas se agitó durante una noche.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final: [Au] = 0,1 g/l). El diámetro hidrodinámico de las nanopartículas en suspensión obtenidas de este modo era igual a 76 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,46.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: [Au] = 0,1 g/l). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era igual a -23 mV.

EJEMPLO 3. Nanopartículas preparadas con un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativa baja igual o inferior a 100: síntesis de nanopartículas de óxido de circonio recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial neutra.

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de circonio (ZrO₂) mediante precipitación de cloruro de circonio (ZrCl₄) con hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) a un pH básico. La suspensión resultante se transfirió a un autoclave y se calentó a una temperatura superior a 110 °C. Después de enfriarse, se lavó la suspensión con agua desionizada y se acidificó.

Se evaluó la mediana del tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la población y el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que representan el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y agregados de nanopartículas usando microscopía electrónica de transmisión y se observó que era igual a 10 nm y 8 nm - 12 nm, respectivamente. Se contaron 446 nanopartículas y se midió su dimensión mayor.

Se llevó a cabo una filtración a través de un filtro de membrana de PES de 0,22 µm y se determinó la concentración de nanopartículas (de ZrO₂) secando la disolución acuosa hasta obtener un polvo y pesando la masa obtenida. Se preparó un recubrimiento biocompatible usando silano-poli(etilén)glicol de 2kDa ("Si-PEG 2kDa"). Se añadió una cantidad suficiente de "Si-PEG 2kDa" a la suspensión de nanopartículas hasta alcanzar al menos la cobertura de media monocapa (2,5 moléculas/nm²) en la superficie. La suspensión de nanopartículas se agitó durante una noche y posteriormente el pH se ajustó a 7.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final del ZrO₂ que constituye el núcleo de las nanopartículas: [ZrO₂] = 0,1 g/l). Se observó que el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas era igual a 55 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,1.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: [ZrO₂] = 0,1 g/l). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era igual a -1 mV.

EJEMPLO 4. Nanopartículas preparadas con un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativa baja igual o inferior a 100: síntesis de nanopartículas de óxido de circonio recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial negativa.

Se prepararon nanopartículas de óxido de circonio como se ha descrito en el Ejemplo 3 (mismo núcleo inorgánico).

Se llevó a cabo una filtración a través de un filtro de membrana de PES de 0,22 µm y se determinó la concentración de nanopartículas (de ZrO₂) secando la suspensión acuosa hasta obtener un polvo y pesando la masa obtenida.

Se llevó a cabo la funcionalización superficial usando hexametáfosfato de sodio. Se añadió una masa suficiente de hexametáfosfato de sodio a la suspensión de nanopartículas hasta alcanzar al menos la cobertura de media monocapa (2,5 moléculas/nm²) en la superficie. La suspensión de nanopartículas se agitó durante una noche y posteriormente el pH se ajustó a 7.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final del ZrO₂ que constituye el núcleo de las nanopartículas: [ZrO₂] = 0,1 g/l). Se observó que el

diámetro hidrodinámico de las nanopartículas era igual a 70 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,11.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: $[\text{ZrO}_2] = 0,1 \text{ g/l}$). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era igual a -33 mV.

EJEMPLO 5. Nanopartículas preparadas con un material semiconductor: nanopartículas de silicio (Si) recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial negativa.

Se obtuvieron nanopartículas de silicio (Si) (en polvo) de US Research Nanomaterials Inc. Se recubrieron con PVP (1 % en peso), representando menos de 0,1 moléculas/nm² en la superficie.

Se dispersaron en agua a 30 g/l con sonicación (con una sonda).

Se llevó a cabo una filtración a través de un filtro de membrana de PES de 0,22 µm y se determinó la concentración de nanopartículas (de Si) secando la suspensión hasta obtener un polvo y pesando la masa obtenida.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final del Si que constituye el núcleo de las nanopartículas: $[\text{Si}] = 0,1 \text{ g/l}$). Se observó que el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas era igual a 164 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,16.

Se evaluó la mediana del tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la población y el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que representan el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y agregados de nanopartículas usando microscopía electrónica de transmisión y se observó que era igual a 53 nm y 45 - 61 nm, respectivamente. Se contaron setenta y una (71) nanopartículas y se midió su dimensión mayor.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: $[\text{Si}] = 0,1 \text{ g/l}$). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era igual a -19 mV.

EJEMPLO 6. Nanopartículas preparadas con un material aislante que tiene una elevada constante dieléctrica relativa igual o superior a 200: nanopartículas de titanato de bario recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial negativa.

Se obtuvo una suspensión de nanopartículas de titanato de bario (BaTiO_3) (20 % en peso en agua) de US Research Materials Inc. (U83835).

La funcionalización de la superficie se llevó a cabo usando silano-poli(etilen)glicol de 10 kDa ("Si-PEG 10kDa"). En resumen, en primer lugar, se disolvió "Si-PEG 10kDa" en una disolución de etanol/agua (1/3 v/v) y se añadió a la suspensión de BaTiO_3 (20 % en peso en agua) hasta lograr una cobertura de monocapa completa en la superficie de las nanopartículas. La suspensión se sonicó y posteriormente se agitó durante una noche. Después de una filtración a través de un filtro de 0,22 µm (membrana de filtro: poli(éter sulfona)), se llevó a cabo una etapa de lavado para eliminar los polímeros de "Si-PEG 10kDa" que no habían reaccionado.

El diámetro hidrodinámico (medida de intensidad) se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), con un dispositivo Nano-Zetasizer (Malvern) a un ángulo de dispersión de 173° con un láser que emite a 633 nm, diluyendo la suspensión de nanopartículas en agua (concentración final del BaTiO_3 que constituye el núcleo de las nanopartículas: $[\text{BaTiO}_3] = 0,1 \text{ g/l}$). Se observó que el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas era igual a 164 nm, con un índice de polidispersidad (dispersión del tamaño de la población de nanopartículas) de 0,16.

El potencial zeta se determinó midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM a pH 7 (concentración final: $[\text{BaTiO}_3] = 0,1 \text{ g/l}$). Se observó que el potencial zeta a pH 7 era de -11 mV.

Se evaluó la mediana del tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la población y el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que representan el percentil del 30 %-70 % de la población de nanopartículas y agregados de nanopartículas usando microscopía electrónica de transmisión y se observó que era igual a 67 nm y 60 - 77 nm, respectivamente. Se contaron cincuenta y una (51) nanopartículas y se midió su dimensión mayor.

EJEMPLO 7. Evaluación de la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de los Ejemplos 1, 2, 5 y 6, en las redes neuronales inducidas con MPP⁺ usando la tecnología de detección sistemática fenotípica de MEA.

Se evaluó la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención en cocultivos de mesencéfalo/corteza ventral de ratones tratados con MPP⁺, cultivados en un MEA de 48 pocillos durante 3 semanas. Este modelo representa un modelo de Parkinson *in vitro* para la detección sistemática de compuestos, basado en el rescate funcional de neuronas dopaminérgicas usando cultivos de mesencéfalo/corteza expuestos cultivados sobre MEA. El mesencéfalo es una región del cerebro que incluye la sustancia negra, que forma parte de los núcleos basales y que contiene la mayoría de las neuronas dopaminérgicas. La evaluación del efecto de prevención/rescate de las nanopartículas se llevó a cabo midiendo la actividad eléctrica extracelular del cocultivo de neuronas sembradas en placas de matriz de microelectrodos (MEA).

Se llevó a cabo la inducción de un fenotipo de enfermedad de Parkinson en neuronas de ratón *in vitro* con yoduro de 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺). Hay claros indicios de que el deterioro mitocondrial desempeña un papel en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson (EP). Se ha observado que MPP⁺ es un veneno mitocondrial que inhibe la respiración celular mediante el bloqueo del complejo enzimático de transporte de electrones I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa). Varios laboratorios han comunicado que hay un defecto selectivo en el complejo I de la cadena de transporte de electrones mitocondrial en la sustancia negra del tejido cadavérico de pacientes con EP y también hay una reducción de la actividad del complejo I en plaquetas de pacientes con EP temprana. Fármacos, tales como el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), actúan como agentes neuroprotectores para prevenir/rescatar el efecto de MPP⁺ con buenos resultados preclínicos. GDNF se usa con frecuencia como referencia en protocolos experimentales preclínicos (Peng J. et al., *Journal of Biomolecular screening*, 2013, 18(5), 522-533: *Using human pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons to evaluate candidate Parkinson's disease therapeutic agents in MPP⁺ and rotenone models*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de células primarias, condiciones de tratamiento

Se extrajo tejido del mesencéfalo y de la corteza frontal de ratones embrionarios chr:NMRI de 14,5 días (Charles River). Se sacrificó a los ratones mediante dislocación cervical. El tejido se disoció mediante digestión enzimática (133,3 unidades de Kunitz/ml de DNase; 10 unidades/ml de papaína) y trituración mecánica, se contaron, se controló su vitalidad y se sembraron en una gota de 20 µl de DMEM que contenía laminina (10 µg/ml), suero fetal bovino al 10 % y suero de caballo al 10 % sobre MEA. Los cultivos sobre MEA se incubaron a 37 °C en una atmósfera con un 10 % de CO₂ hasta que estuvieron listos para su uso. Se repusieron los medios de cultivo dos veces a la semana con DMEM que contenía suero de caballo al 10 %.

En los grupos de "Nanopartículas", los pocillos se trataron en el día 7 con suspensión de nanopartículas de los ejemplos 1 ([Au] = 800 µM), 2 ([Au] = 800 µM), 5 ([Si] = 800 µM) y con suspensión de nanopartículas del Ejemplo 6 ([BaTiO₃] = 2000 µM), seguido de 20 µM de MPP⁺ en el día 8. En el grupo de "Control", se añadió agua a los pocillos en el día 7, seguido de adición de agua en el día 8. En el grupo de "MPP⁺", se añadió agua a los pocillos en el día 7, seguido de 20 µM de MPP⁺ en el día 8. En el grupo de "Referencia", se añadió GDNF (20 ng/ml) a los pocillos en el día 7, seguido de 20 µM de MPP⁺ en el día 8.

Veinticuatro (24) horas después de la adición de MPP⁺ (o agua para el grupo de "Control"), se cambió el medio para lograr la eliminación del MPP⁺. Posteriormente se cambió el medio dos veces a la semana y se añadió GDNF solo para el grupo de "referencia", en cada cambio de medio.

En el día 21, se registraron 120 minutos de actividad neuronal y se analizaron 30 minutos de actividad estable (Figura 6).

Neurochips de matrices de microelectrodos

Los neurochips de matrices de microelectrodos de 48 pocillos se adquirieron de Axion Biosystems Inc. Estos chips tienen 16 electrodos pasivos por pocillo. La superficie se recubrió durante 1 hora con polietilenimina (PEI, 50 % en tampón borato), se lavó y se secó al aire.

Registro multicanal y análisis multiparamétrico de datos

Para el registro, se usó el sistema de registro multicanal MAESTRO de Axion Biosystems (EE. UU.). Para el registro extracelular, se colocaron MEA de 48 pocillos en la estación de registro MAESTRO y se mantuvieron a 37 °C. Los registros se realizaron en DMEM/suero de caballo al 10 % inactivado por calor. El pH se mantuvo a 7,4 con una corriente continua de aire filtrado y humidificado con un 10 % de CO₂.

Cada unidad representa la actividad procedente de una neurona registrada en un electrodo. Las unidades se separan al comienzo del registro. Para cada unidad, los potenciales de acción (es decir, picos), se registraron como cadenas

de picos, que se agrupan en las denominadas "ráfagas". Las ráfagas se describieron cuantitativamente mediante el análisis directo de la cadena de picos usando los programas Spike Wrangler y NPWaveX (ambos de NeuroProof GmbH, Rostock, Alemania). Las ráfagas se definieron como el comienzo y el fin de eventos de picos breves (Figura 7). Con un análisis multiparamétrico de alto contenido de los patrones de actividad de la red, se extrajeron 204 parámetros descriptivos de la actividad de la cadena de picos. Estos parámetros permiten obtener una descripción precisa de los cambios de actividad en las cuatro categorías a continuación: actividad general, estructura de la ráfaga, comportamiento oscilante y sincronización.

- Los cambios en "parámetros de actividad general" describen los efectos en la velocidad de descarga de potenciales de acción (velocidad de los picos), la velocidad de las ráfagas y el periodo de las ráfagas como el tiempo entre ráfagas.
- Los "parámetros de la estructura de la ráfaga" definen no solo la estructura interna de los picos en una fase de emisión de picos ("ráfaga") de alta frecuencia, por ejemplo, la frecuencia de picos en las ráfagas, la velocidad de picos en las ráfagas y la densidad de picos en la ráfaga, pero también la estructura general de la ráfaga, tal como la duración, el área y la estabilización.
- Los "parámetros oscilatorios" cuantifican la regularidad de aparición o la estructura de las ráfagas, que se calcula por los coeficientes de variación de los parámetros de actividad primaria que describen la variabilidad de los parámetros (actividad general, estructura de la ráfaga) entre episodios experimentales (Gramowski A. et al., Eur. J. Neurosci., 2004, 19, 2815-2825: *Substance identification by quantitative characterization of oscillator activity in murine spinal cord networks on microelectrode arrays*). Los valores más elevados indican una estructura de la ráfaga menos regular o una actividad general menos regular (por ejemplo, emisión de picos, emisión de ráfagas).
- Como medida de la sincronización en las cadenas de picos, los "parámetros de CVred" reflejan la "sincronización" entre neuronas en la red (Gramowski A. et al., Eur. J. Neurosci., 2004, 19, 2815-2825: *Substance identification by quantitative characterization of oscillator activity in murine spinal cord networks on microelectrode arrays*). El CVred es el coeficiente de variación por la red. Los valores de CVred elevados implican un amplio intervalo de variación en la actividad a través de la red, lo que significa menos sincronización. (Gramowski A. et al., Frontiers in Neurology, 2015, 6(158): *Enhancement of cortical network activity in vitro and promotion of GABAergic neurogenesis by stimulation with an electromagnetic field with 150MHz carrier wave pulsed with an alternating 10 and 16 Hz modulation*).

Se evaluaron los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal y en la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención por medio de los parámetros anteriormente descritos (también resumidos para algunos de estos en la Tabla 2 a continuación).

Tabla 2: Parámetros que describen la actividad del análisis multiparamétrico de datos en las tres categorías a continuación: actividad general, comportamiento oscilante y sincronización.

Actividad general	Velocidad de picos	Número de picos por segundo, promediados entre todas las cadenas de picos registradas
Comportamiento oscilante	DE de la velocidad de las ráfagas (regularidad de la emisión de ráfagas)	Desviación estándar del número de ráfagas por minuto, que indica la variabilidad de emisión de ráfagas de las unidades entre episodios experimentales
	DE del área de la ráfaga (regularidad de la estructura de la ráfaga)	Desviación estándar del área bajo la curva después de integrar las ráfagas, definida por la duración de la ráfaga, el número de picos en las ráfagas, la frecuencia de picos en las ráfagas. El parámetro describe la variabilidad del área de la ráfaga entre episodios experimentales. Los valores mayores indican una estructura de la ráfaga menos regular
	DE del número de picos de la ráfaga (regularidad de la estructura de emisión de ráfagas)	La desviación estándar del número de picos en las ráfagas describe la variación del número de picos de una sola unidad en las ráfagas entre episodios experimentales. Los valores menores son una medida que indica un menor grado de variación en el número de picos de la ráfaga, por lo tanto, una estructura más regular.

Actividad general	Velocidad de picos	Número de picos por segundo, promediados entre todas las cadenas de picos registradas
Sincronicidad	Simple (complejidad de emisión de picos)	Para el cálculo simple de picos, se dividen las cadenas de picos en grupos de tamaño de marcos de tiempo de 1 ms. En estos grupos, las diferentes unidades en la red generan picos. Todas las unidades que muestran un pico se definen como simples. El resultado de la cantidad de todas las simples es el simple de pico. Es una medida de la conectividad y complejidad en la red neuronal. Los valores mayores reflejan una mayor sincronización entre neuronas.

Los valores relacionados con la actividad nativa espontánea en el día 21 se obtuvieron de grupos de datos de 60 segundos tomados de un intervalo de 30 minutos después de una estabilización de la actividad de 30 minutos. Los resultados (valores paramétricos) se expresaron como media $\pm$ EEM de redes independientes. Para cada grupo de "Nanopartículas", se incluyeron en el análisis al menos 8 pocillos activos, para el grupo de "Control", al menos 30 pocillos activos y para el grupo de "MPP+", al menos 26 pocillos activos ("activo" significa pocillos con un número suficiente de electrodos que miden actividad eléctrica). Se evaluó la normalidad y la significación estadística de las distribuciones absolutas de parámetros entre grupos mediante ANOVA unifactorial.

Las Figuras 8 y 9 presentan algunos parámetros representativos de las siguientes categorías: actividad general, comportamiento oscilante y sincronización. Estos parámetros caracterizan los efectos funcionales inducidos por MPP+ y la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención o de GDNF (es decir, la capacidad para prevenir/rescatar los efectos funcionales hasta un nivel similar al del grupo de "Control").

Para evaluar los efectos del compuesto, los resultados multiparamétricos de una selección de 204 parámetros se proyectaron en un solo parámetro denominado la "puntuación de efecto". Es una combinación lineal de características seleccionadas, que transforma los conjuntos de datos en un vector con grupo de "Control" con un valor medio de "0" y un grupo de "MPP+" con un valor medio de "1". El cálculo del factor Z de la puntuación de efecto se llevó a cabo mediante selección de características de 18 de los 204 parámetros medidos, optimizados para hallar la mejor discriminación entre el grupo de "Control" y el grupo de "MPP+" (Kümmel A, et al., J Biomol Screen., 2010, 15(1), 95-101: *Integration of multiple readouts into the z'factor for assay quality assessment*).

El análisis de la puntuación de efecto se muestra en la Figura 10.

En la Tabla 3 se muestra la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención.

Tabla 3: Resumen de la puntuación de efecto y de la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención (de los Ejemplos 1, 2, 5 y 6) o de GDNF, en los efectos inducidos por MPP+ en la red neuronal.

Grupo	Puntuación de efecto	Eficacia de prevención/rescate
Grupo de "Control"	0	Referencia (establecido como 100 %)
Grupo de "MPP+"	1	0 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro biocompatibles del Ejemplo 1	0	100 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro biocompatibles del Ejemplo 2	0,22	78 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de Si biocompatibles del Ejemplo 5	0,49	51 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de BaTiO ₃ biocompatibles del Ejemplo 6	0,39	61 %
Grupo de "Referencia": GDNF	0,44	56 %

Las Figuras 8, 9 y 10 y la Tabla 3 muestran que el pretratamiento de la red neuronal con nanopartículas de la invención previene/rescata de los efectos funcionales inducidos por MPP+ en la red neuronal. De manera interesante, se observa eficacia de prevención/rescate para parámetros en las categorías relacionadas con el comportamiento oscilante y la sincronización y puede alcanzar un nivel hasta el que se observa en el grupo de "Control". Estos parámetros de comportamiento oscilante y de sincronización se monitorizan normalmente como una medida del desarrollo alterado de la red. Estos parámetros pueden rescatarse ventajosamente en presencia de las nanopartículas de la invención.

Estos resultados destacan la capacidad de las nanopartículas descritas en la presente solicitud para prevenir/rescatar los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal.

EJEMPLO 8: Evaluación de los efectos de las nanopartículas de los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en los efectos funcionales inducidos por beta-amiloide 1-42 en redes neuronales primarias de ratón usando la tecnología de detección sistemática fenotípica de MEA.

Se evaluó la eficacia de rescate de las nanopartículas de la invención *in vitro* mediante MEA en un modelo de enfermedad de Alzheimer inducido con beta-amiloide 1-42 (Abeta 1-42) en cultivos de neuronas de ratón de corteza frontal. Se sabe que el péptido 1-42 de β -amiloide, el principal constituyente de las placas neuróticas observado en los pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA), provoca una cantidad excesiva de glutamato en el surco sináptico inhibiendo el transportador de glutamato de la astrogliá y que aumenta el nivel intracelular de Ca²⁺ potenciando la actividad del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA). Otros mecanismos que provocan excitotoxicidad pueden incluir la inducción de estrés oxidativo y el impacto directo de abeta en el receptor de NMDA glutamatérgico. Independientemente del proceso patogénico subyacente preciso, la sobreestimulación de la célula nerviosa por glutamato y la acumulación de calcio intracelular acabará provocando la apoptosis neuronal, alterará la plasticidad sináptica y como resultado de dicha desregulación, deteriorará gravemente la función de aprendizaje y memoria (Nyakas C. et al., Behavioural Brain Research, 2011, 221, 594-603: *The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia. Rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid- β 42 with memantine*). En la actualidad, los fármacos contra la EA aprobados por la FDA se limitan a inhibidores de acetilcolinesterasa (AChE) y a antagonistas del receptor de NMDA. Los inhibidores de AChE tradicionales incluyen donepezil, que actúan principalmente en el sitio central de acción de AChE.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de células primarias

Se extrajo tejido de la corteza frontal de ratones embrionarios chr:NMRI de 15/16 días (Charles River). Se sacrificó a los ratones mediante dislocación cervical. El tejido se disoció mediante digestión enzimática (133,3 unidades de Kunitz/ml de DNasa; 10 unidades/ml de papaína) y trituración mecánica, se contaron, se controló su vitalidad y se sembraron en una gota de 20 μ l de DMEM que contenía laminina (10 μ g/ml), suero fetal bovino al 10 % y suero de caballo al 10 % sobre MEA. Los cultivos sobre MEA se incubaron a 37 °C en una atmósfera con un 10 % de CO₂ hasta que estuvieron listos para su uso. Se repusieron los medios de cultivo dos veces a la semana con DMEM que contenía suero de caballo al 10 %. Los cocultivos en desarrollo se trataron con los inhibidores de la mitosis, 5-fluoro-2'-desoxiuridina (25 μ M) y uridina (63 μ M) en el día 5 después de la siembra para impedir la proliferación glial adicional.

Para inducir un fenotipo funcional relacionado con el Alzheimer, se usaron péptidos de Abeta 1-42 sintéticos tratados con HFIP (hexafluoroisopropanol) (el tratamiento con HFIP produce monómeros de beta-amiloide) a una dosis subtóxica (100 nM).

En los grupos de "Nanopartículas", en primer lugar, se trataron los pocillos con Abeta 1-42 (péptidos de beta-amiloide 1-42 sintéticos tratados con HFIP) en T0 (siendo T0 al final del periodo de cultivo in vitro de 28 días). Después, se trataron los pocillos en T0 + 4 horas con la suspensión de nanopartículas de los Ejemplos 1 ([Au] = 800 μ M), 2 ([Au] = 800 μ M), 3 ([ZrO₂] = 800 μ M), 4 ([ZrO₂] = 800 μ M), 5 ([Si] = 800 μ M) y del Ejemplo 6 ([BaTiO₃] = 2000 μ M), en experimentos independientes y paralelos. En el grupo de "Control", se añadió agua a los pocillos en T0 y después en T0 + 4 horas. En el grupo de "Abeta", se añadió Abeta 1-42 a los pocillos en T0 y después, se añadió agua a los pocillos en T0 + 4 horas. En el grupo de "Referencia", se añadió Abeta 1-42 a los pocillos en T0 y se añadió donepezil (300 nM) a los pocillos en T0 + 4 horas. La actividad neuronal se registró del siguiente modo (véase la Figura 11):

- En T0, antes de la adición de Abeta 1-42 (o agua en el grupo de "Control")
- En T0 + 1h, T0 + 2h, T0 + 3h, T0 + 4h (antes de la adición de las nanopartículas en el grupo de "Nanopartículas" o de donepezil en el grupo de "Referencia" o de "agua" en el grupo de Control), T0 + 5h y T0 + 6h.

Los valores se obtuvieron de grupos de datos de 60 segundos tomados de un intervalo de 30 minutos después de una estabilización de la actividad de 30 minutos.

Neurochips de matrices de microelectrodos

Los neurochips de matrices de microelectrodos de 48 pocillos se adquirieron de Axion Biosystems Inc. Estos chips tienen 16 electrodos pasivos por pocillo. La superficie se recubrió durante 1 hora con polietilenimina (PEI, 50 % en tampón borato), se lavó y se secó al aire.

Registro multicanal y análisis multiparamétrico de datos

Para el registro, se usó el sistema de registro multicanal MAESTRO de Axion Biosystems (EE. UU.). Para el registro extracelular, se colocaron MEA de 48 pocillos en la estación de registro MAESTRO y se mantuvieron a 37 °C. Los registros se realizaron en DMEM/suero de caballo al 10 % inactivado por calor. El pH se mantuvo a 7,4 con una corriente continua de aire filtrado y humidificado con un 10 % de CO₂. Los potenciales de acción o "picos" se registraron en cadenas de picos y se agruparon en las denominadas "ráfagas". Las ráfagas se describieron cuantitativamente mediante el análisis directo de la cadena de picos usando los programas Spike Wrangler y NPWaveX (ambos de NeuroProof GmbH, Rostock, Alemania). Las ráfagas se definieron como el comienzo y el fin de eventos de picos breves.

Con un análisis multiparamétrico de alto contenido de los patrones de actividad de la red, se extrajeron 204 parámetros descriptivos de la actividad de la cadena de picos. Estos parámetros permiten obtener una descripción precisa de los cambios de actividad en las cuatro categorías a continuación: actividad general, estructura de la ráfaga, comportamiento oscilante y sincronización.

Se evaluaron los efectos funcionales del beta-amiloide 1-42 en la red neuronal y rescatan la eficacia de los efectos funcionales de la red neuronal por las nanopartículas de la invención mediante los parámetros anteriormente descritos (también resumidos para algunos de estos en la Tabla 4 a continuación).

Tabla 4: Parámetros que describen la actividad del análisis multiparamétrico de datos en las cuatro categorías a continuación: actividad general, estructura de la ráfaga, comportamiento oscilante y sincronización

Actividad general	Contraste de picos	Describe la aparición o ausencia de picos en segmentos de acción tiempo próximos de la cadena de picos, reflejando la variabilidad de emisión de ráfagas de las unidades entre episodios experimentales
Estructura de la ráfaga	Área de la ráfaga	Área bajo la curva integrando las ráfagas, definida por la duración de la ráfaga, el número de picos en las ráfagas, la frecuencia de picos en las ráfagas
Comportamiento oscilante	CVtiempo de la forma de la ráfaga recuento3	Cada ráfaga se separa en tres intervalos de usando sus centros de gravedad. El recuento es la relación de picos de cada uno de estos intervalos al número total de picos en cada ráfaga. Este parámetro describe el coeficiente de variación frente al tiempo de la distribución de picos entre ráfagas
Sincronización	CVred de la forma de la ráfaga rápida	Coeficiente de variación a lo largo de la red de la fracción de ráfagas caracterizadas por una rápida aparición de la acción. Los valores mayores indican una menor sincronización de la forma de la ráfaga dentro del episodio experimental

Los valores relacionados con la actividad nativa espontánea se obtuvieron de grupos de datos de 60 segundos tomados de un intervalo de 30 minutos después de una estabilización de la actividad de 30 min. Los resultados (valores paramétricos) se expresaron como media $\pm$ EEM de redes independientes. Para cada grupo de "Nanopartículas", se incluyeron en el análisis al menos 9 pocillos activos, para el grupo de "Control", al menos 18 pocillos activos y para el grupo de "Abeta", al menos 18 pocillos activos ("activo" significa pocillos con un número suficiente de electrodos que miden actividad eléctrica). Se evaluó la normalidad y la significación estadística de las distribuciones absolutas de parámetros entre grupos mediante ANOVA unifactorial.

La Figura 12 muestra algunos parámetros representativos de las siguientes categorías: actividad general, estructura de la ráfaga, comportamiento oscilante y sincronización, caracterizando los efectos funcionales de Abeta 1-42 y la eficacia de rescate permitida por las nanopartículas de la invención o por donepezil (es decir, la capacidad para rescatar los efectos funcionales hasta un nivel similar al del grupo de "Control").

Para evaluar los efectos del compuesto, los resultados multiparamétricos de una selección de 204 parámetros se proyectaron en un solo parámetro denominado la "puntuación de efecto". Es una combinación lineal de características seleccionadas, que transforma los conjuntos de datos en un vector con grupo de "Control" con un valor medio de "0" y un grupo de "Abeta" con un valor medio de "1". El cálculo del factor Z de la puntuación de efecto se llevó a cabo mediante selección de características de 15 de los 204 parámetros medidos, optimizados para hallar la mejor discriminación entre el grupo de "Control" y el grupo de "Abeta" (Kümmel A, et al., J Biomol Screen., 2010, 15(1), 95-101: *Integration of multiple readouts into the z'factor for assay quality assessment*).

El análisis de la puntuación de efecto se muestra en la Figura 13.

En la Tabla 5 se muestra la eficacia de rescate de las nanopartículas de la invención.

Tabla 5: Resumen de la puntuación de efecto y la eficacia de rescate de las nanopartículas de la invención o de donepezil, en los efectos inducidos por Abeta 1-42 en la red neuronal.

Grupo	Puntuación de efecto	Eficacia de rescate
Grupo de "Control"	0	Referencia (establecido como 100 %)
Grupo de "Abeta"	1	0 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro biocompatibles del Ejemplo 1	0,24	76 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro biocompatibles del Ejemplo 2	0,61	39 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de óxido de circonio biocompatibles del Ejemplo 3	0,40	60 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de óxido de circonio biocompatibles del Ejemplo 4	0,49	51 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de silicio biocompatibles del Ejemplo 5	0,46	54 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de BaTiO ₃ biocompatibles del Ejemplo 5	0,36	64 %
Donepezil	0,46	54 %

Las Figuras 12 y 13 y la Tabla 5 muestran que el tratamiento de la red neuronal con las nanopartículas de la invención rescata los efectos funcionales inducidos por Abeta 1-42 en la red neuronal. Se observa la eficacia de rescate para parámetros en las categorías relacionadas con el comportamiento oscilante y la sincronización y puede ventajosamente alcanzar un nivel hasta el que se observa en el grupo de "Control". Estos parámetros de comportamiento oscilante y de sincronización se evalúan normalmente para detectar un desarrollo de red alterado. El comportamiento oscilante y la sincronización pueden rescatarse en presencia de las nanopartículas de la invención.

Estos resultados destacan el rendimiento ventajoso de las nanopartículas descritas en la presente solicitud en el rescate de los efectos funcionales inducidos por Abeta 1-42 en la red neuronal.

EJEMPLO 9: Síntesis y caracterización fisicoquímica de nanopartículas de oro con diferentes tamaños que tienen una carga superficial neutra.

Se obtienen nanopartículas de oro mediante reducción de cloruro de oro con citrato de sodio en disolución acuosa. El protocolo se adaptó de G. Frens Nature Physical Science 241 (1973) 21.

En un experimento típico, se calienta una disolución de HAuCl₄ hasta ebullición. Posteriormente, se añade disolución de citrato de sodio. La suspensión resultante se mantiene en ebullición durante un periodo adicional de 5 minutos. En tamaño de nanopartículas se ajusta a de aproximadamente 15 nm hasta aproximadamente 110 nm modificando cuidadosamente la relación entre citrato y precursor de oro (véase la Tabla 6).

La suspensión de nanopartículas de oro tal y como se preparó se concentra posteriormente usando un dispositivo de ultrafiltración (Amicon de celda agitada, modelo 8400 de Millipore) con una membrana de celulosa que tiene un corte de peso molecular (MWCO) adecuado y se filtra a través de un filtro de membrana con un paso de 0,22 µm (membrana de PES de Millipore) en una campana laminar.

Se lleva a cabo un recubrimiento de la superficie usando α-metoxi-ω-mercaptopoli(etilenglicol) de 20 kDa ("tiol-PEG20kDa"). Se añade una cantidad suficiente de "tiol-PEG 20kDa" a la suspensión de nanopartículas para obtener una cobertura de monocapa en la superficie de la nanopartícula de oro. El pH se ajusta a entre 6,8 y 7,4 y se agita la suspensión de nanopartículas durante una noche. Se retira el exceso de tiol-PEG 20kDa usando un filtro de ultrafiltración por centrifugación (Vivaspin de Satorius o Amicon Ultra de Merck Millipore) con una membrana de MWCO adecuado bajo una campana laminar y la suspensión final se almacena a 4 °C. El tamaño de partícula se determina usando microscopía electrónica de transmisión contando al menos 200 nanopartículas, tomando para la medición de tamaño la dimensión mayor de la nanopartícula. La mediana del tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas de la población y el tamaño del núcleo de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que representan el percentil del 30 % - 70 % de la población de nanopartículas y agregados de nanopartículas se resumen en la Tabla 6 junto con la concentración de oro ([Au]) medida mediante espectroscopía de emisión óptica acoplada por inducción (ICP-OES) y el potencial zeta determinado midiendo la movilidad electroforética de las nanopartículas (Nano-Zetasizer, Malvern) diluyendo la suspensión de nanopartículas en una disolución de NaCl a 1 mM, a una concentración de oro ([Au]) de entre 0,01 y 0,05 g/l y a un pH de aproximadamente 7.

Tabla 6:

Muestras	Síntesis Relación citrato/Au (mol/mol)	Mediana del mayor tamaño del núcleo de la nanopartícula (nm)	Percentil del 30 %-70 % (nm)	Potencial zeta (mV)	[Au] mg/ml (por ICP- OES)
ORO-15	3,5	15	14-16	-3	3,6
ORO-30	1,96	34	30-37	-3	3,9
ORO-45 Mismo núcleo de las nanopartículas que las nanopartículas de los Ejemplos 1 y 2	1,26	45	42-49	-4	3,6
ORO-80	0,8	83	77-93	-2	3,4
ORO-110	0,7	108	91-123	-2	2,9

La Figura 14 muestra imágenes representativas de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de las nanopartículas de oro descritas en la Tabla 6.

EJEMPLO 10. Evaluación de la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas ORO-15 y ORO-45 del Ejemplo 9, en las redes neuronales inducidas con MPP⁺ usando la tecnología de detección sistemática fenotípica de MEA.

Se evaluó la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención en cocultivos de mesencéfalo/corteza ventral de ratones tratados con MPP⁺, cultivados en un MEA de 48 pocillos durante 3 semanas. La evaluación del efecto de prevención/rescate de las nanopartículas se llevó a cabo midiendo la actividad eléctrica extracelular del cocultivo de neuronas sembradas en placas de matriz de microelectrodos (MEA).

Se llevó a cabo la inducción de un fenotipo de enfermedad de Parkinson en neuronas de ratón *in vitro* con yoduro de 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo de células primarias, condiciones de tratamiento

Se extrajo tejido del mesencéfalo y de la corteza frontal de ratones embrionarios chr:NMRI de 14,5 días (Charles River). Se sacrificó a los ratones mediante dislocación cervical. El tejido se disoció mediante digestión enzimática (133,3 unidades de Kunitz/ml de DNasa; 10 unidades/ml de papaína) y trituración mecánica, se contaron, se controló su vitalidad y se sembraron en una gota de 20 µl de DMEM que contenía laminina (10 µg/ml), suero fetal bovino al 10 % y suero de caballo al 10 % sobre MEA. Los cultivos sobre MEA se incubaron a 37 °C en una atmósfera con un 10 % de CO₂ hasta que estuvieron listos para su uso. Se repusieron los medios de cultivo dos veces a la semana con DMEM que contenía suero de caballo al 10 %.

En los grupos de "Nanopartículas", se trataron los pocillos en el día 7 con suspensión de nanopartículas ([Au] = 310 ± 40 µM) del ejemplo 9 (ORO-15 y ORO-45), seguido de 20 µM de MPP⁺ en el día 8. En el grupo de "Control", se añadió agua a los pocillos en el día 7, seguido de adición de agua en el día 8. En el grupo de "MPP⁺", se añadió agua a los pocillos en el día 7, seguido de 20 µM de MPP⁺ en el día 8.

Veinticuatro (24) horas después de la adición de MPP⁺ (o agua para el grupo de "Control"), se cambió el medio para lograr la eliminación del MPP⁺. Posteriormente se cambió el medio dos veces a la semana.

En el día 21, se registraron 120 minutos de actividad neuronal y se analizaron 30 minutos de actividad estable.

Neurochips de matrices de microelectrodos

Los neurochips de matrices de microelectrodos de 48 pocillos se adquirieron de Axion Biosystems Inc. Estos chips tienen 16 electrodos pasivos por pocillo. La superficie se recubrió durante 1 hora con polietilenimina (PEI, 50 % en tampón borato), se lavó y se secó al aire.

Registro multicanal y análisis multiparamétrico de datos

Para el registro, se usó el sistema de registro multicanal de Axion Biosystems (EE. UU.). Para el registro extracelular, se colocaron MEA de 48 pocillos en la estación de registro MAESTRO y se mantuvieron a 37 °C. Los registros se

realizaron en DMEM/suero de caballo al 10 % inactivado por calor. El pH se mantuvo a 7,4 con una corriente continua de aire filtrado y humidificado con un 10 % de CO₂.

Cada unidad representa la actividad procedente de una neurona registrada en un electrodo. Las unidades se separan al comienzo del registro. Para cada unidad, los potenciales de acción (es decir, picos), se registraron como cadenas de picos, que se agrupan en las denominadas "ráfagas". Las ráfagas se describieron cuantitativamente mediante el análisis directo de la cadena de picos usando los programas Spike Wrangler y NPWaveX (ambos de NeuroProof GmbH, Rostock, Alemania). Las ráfagas se definieron como el comienzo y el fin de eventos de picos breves.

Con un análisis multiparamétrico de alto contenido de los patrones de actividad de la red, se extrajeron 204 parámetros descriptivos de la actividad de la cadena de picos. Estos parámetros permiten obtener una descripción precisa de los cambios de actividad en las cuatro categorías a continuación: actividad general, estructura de la ráfaga, comportamiento oscilante y sincronización.

Se evaluaron los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal y en la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención por medio de los parámetros anteriormente descritos.

Los valores relacionados con la actividad nativa espontánea en el día 21 se obtuvieron de grupos de datos de 60 segundos tomados de un intervalo de 30 minutos después de una estabilización de la actividad de 30 minutos. Los resultados (valores paramétricos) se expresaron como media $\pm$ EEM de redes independientes. Para cada grupo de "Nanopartículas", el grupo de "Control" y el grupo de "MPP⁺" se incluyeron al menos 19 pocillos activos ("activo" significa pocillos con un número suficiente de electrodos que miden la actividad eléctrica). Se evaluó la normalidad y la significación estadística de las distribuciones absolutas de parámetros entre grupos mediante ANOVA unifactorial.

Para evaluar los efectos del compuesto, los resultados multiparamétricos de una selección de 204 parámetros se proyectaron en un solo parámetro denominado la "puntuación de efecto". Es una combinación lineal de características seleccionadas, que transforma los conjuntos de datos en un vector con grupo de "Control" con un valor medio de "0" y un grupo de "MPP⁺" con un valor medio de "1". El cálculo del factor Z de la puntuación de efecto se llevó a cabo mediante selección de características de 20 de los 204 parámetros medidos, optimizados para hallar la mejor discriminación entre el grupo de "Control" y el grupo de "MPP⁺" (Kümmel A, et al., J Biomol Screen., 2010, 15(1), 95-101: *Integration of multiple readouts into the z'factor for assay quality assessment*).

El análisis de la puntuación de efecto se muestra en la Figura 15.

En la Tabla 7 se muestra la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención.

Tabla 7: Resumen de la puntuación de efecto y de la eficacia de prevención/rescate de las nanopartículas de la invención (ORO-15 y ORO-45 del Ejemplo 9), efectos inducidos por MPP⁺ en la red neuronal.

Grupo	Puntuación de efecto	Eficacia de prevención/rescate de
Grupo de "Control"	0	Referencia (establecido como 100 %)
Grupo de "MPP ⁺ "	1	0 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro ORO-45 biocompatibles del Ejemplo 9	0,14	86 %
Grupo de "Nanopartículas": nanopartículas de oro ORO-15 biocompatibles del Ejemplo 9	0,46	54 %

Las Figuras 15 y la Tabla 7 muestran que el pretratamiento de la red neuronal con nanopartículas de la invención previene/rescata de los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal. De manera interesante, las nanopartículas de oro con la mediana de tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas de la población igual a 15 nm son menos eficientes para prevenir/rescatar los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal que las nanopartículas de oro que tienen una mediana de tamaño mayor del núcleo de las nanopartículas de la población igual a 45 nm.

Estos resultados destacan la capacidad de ambas nanopartículas para prevenir/rescatar los efectos funcionales inducidos por MPP⁺ en la red neuronal, siendo las nanopartículas de oro con una mediana de tamaño mayor de 45 nm más eficientes que las nanopartículas de oro con una mediana de tamaño mayor de 15 nm.

EJEMPLO 11. Síntesis de nanopartículas preparadas con un material aislante que tiene una constante dieléctrica relativa baja igual o inferior a 100: síntesis de nanopartículas de óxido de hafnio recubiertas con un recubrimiento biocompatible que tiene una carga superficial negativa.

5 Se sintetizaron nanopartículas de óxido de hafnio (HfO_2) mediante precipitación de cloruro de hafnio (HfCl_4) con hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) a un pH básico. La suspensión resultante se transfirió a un autoclave y se calentó a una temperatura superior a 110°C . Después de enfriarse, se lavó la suspensión con agua desionizada y se acidificó.

10 Se llevó a cabo la funcionalización superficial usando hexametafosfato de sodio. Se añadió una masa suficiente de hexametafosfato de sodio a la suspensión de nanopartículas hasta alcanzar al menos la cobertura de media monocapa ($2,5 \text{ moléculas/nm}^2$) en la superficie. La suspensión de nanopartículas se agitó durante una noche y posteriormente el pH se ajustó a 7.

REIVINDICACIONES

1. Una nanopartícula o agregado de nanopartículas para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto sin exposición de la nanopartícula o agregado de nanopartículas a un campo eléctrico ni a ninguna otra fuente de activación externa, en donde agregados de nanopartículas se refiere a un conjunto de nanopartículas unidas covalentemente entre sí, en donde el material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas se selecciona de un material conductor que es un metal seleccionado de Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt y/o Au, un material semiconductor con una brecha energética E_g inferior a 3,0 eV seleccionado de un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev, un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual a o superior a 200 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) que es un óxido metálico mixto seleccionado de BaTiO_3 , PbTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 y BaSrTiO_3 , y un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 y que tiene una brecha energética E_g igual o superior a 3,0 eV cuando se mide a temperatura ambiente (25 °C) seleccionado de Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ReO_2 , ZrO_2 , HfO_2 y diamante de carbono, siendo la constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} medida entre 20 °C y 30 °C y entre 10^2 Hz hasta la frecuencia infrarroja en donde i) la mediana del tamaño mayor del núcleo de la nanopartícula o agregado de nanopartículas de la población es de al menos 30 nm cuando el material es un material conductor, un material semiconductor o un material aislante con una constante dieléctrica ϵ_{ijk} igual o superior a 200, y en donde ii) el núcleo de la nanopartícula o agregado de nanopartículas está recubierto con un recubrimiento biocompatible que proporciona una carga superficial neutra o negativa cuando se mide en una disolución de agua que tiene una concentración de electrolitos entre 0,001 y 0,2 M, una concentración del material de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas entre 0,01 y 10 g/l y un pH entre 6 y 8, y en donde la nanopartícula o el agregado de nanopartículas no se usa como portador de compuesto(s) terapéutico(s) o fármaco(s), en donde, cuando el material es un conductor, proporcionando el recubrimiento biocompatible una carga superficial negativa que se elige de un agente que proporciona un fosfato, un citrato, un ácido dicarboxílico o un sulfato, y en donde, cuando el recubrimiento biocompatible es un polímero, dicho recubrimiento se selecciona de poli(acrilamida), policarbamida, un biopolímero, un polisacárido, colágeno, poliéster, poli(óxido de etileno), polietilenglicol, poli(alcohol vinílico), policaprolactona, polivinilpirrolidona y polipirrol.
2. La nanopartícula o el agregado de nanopartículas para el uso según la reivindicación 1, en donde el elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev es silicio (Si) o germanio (Ge).
3. La nanopartícula o el agregado de nanopartículas para el uso según la reivindicación 1, en donde el material de la nanopartícula o del agregado de nanopartículas consiste en un elemento del grupo IVA de la tabla periódica de Mendeléyev y está dopado con un portador de carga seleccionado de Al, B, Ga, In y P.
4. La nanopartícula o el agregado de nanopartículas para el uso según la reivindicación 1, en donde el material aislante con una constante dieléctrica relativa ϵ_{ijk} igual o inferior a 100 se selecciona de ReO_2 , ZrO_2 y HfO_2 .
5. La nanopartícula o el agregado de nanopartículas para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, epilepsia o enfermedad de Alzheimer.
6. Una composición que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde la composición es para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad neurológica seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno del espectro autista, trastorno por depresión, distonía, síndrome de Tourette, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, afasia, demencia, acúfenos, enfermedad de Huntington, temblor hereditario, trastorno bipolar, trastorno de ansiedad, trastorno por adicción y estado de consciencia vegetativo en un sujeto sin exposición de las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas a un campo eléctrico ni a ninguna otra fuente de activación externa.
7. Una composición para el uso de la reivindicación 6, en donde la enfermedad neurológica es enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, epilepsia o enfermedad de Alzheimer.
8. La composición para el uso de la reivindicación 6 o 7, en donde la composición comprende al menos dos nanopartículas y/o agregados de nanopartículas distintos, como se describen en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

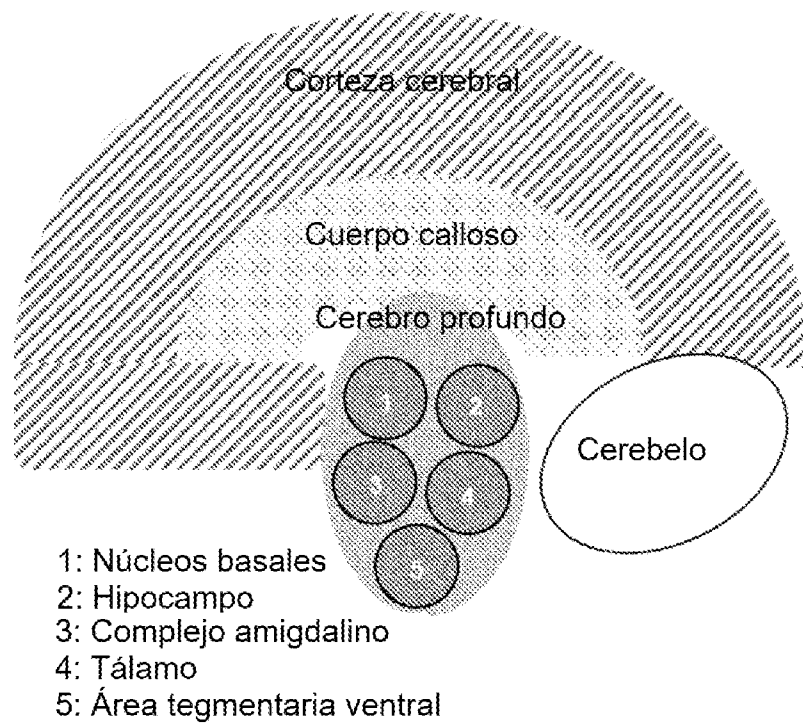


FIGURA 1

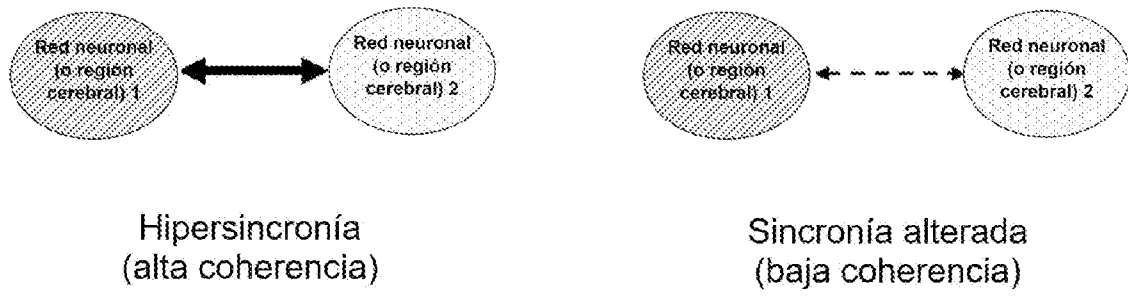


FIGURA 2

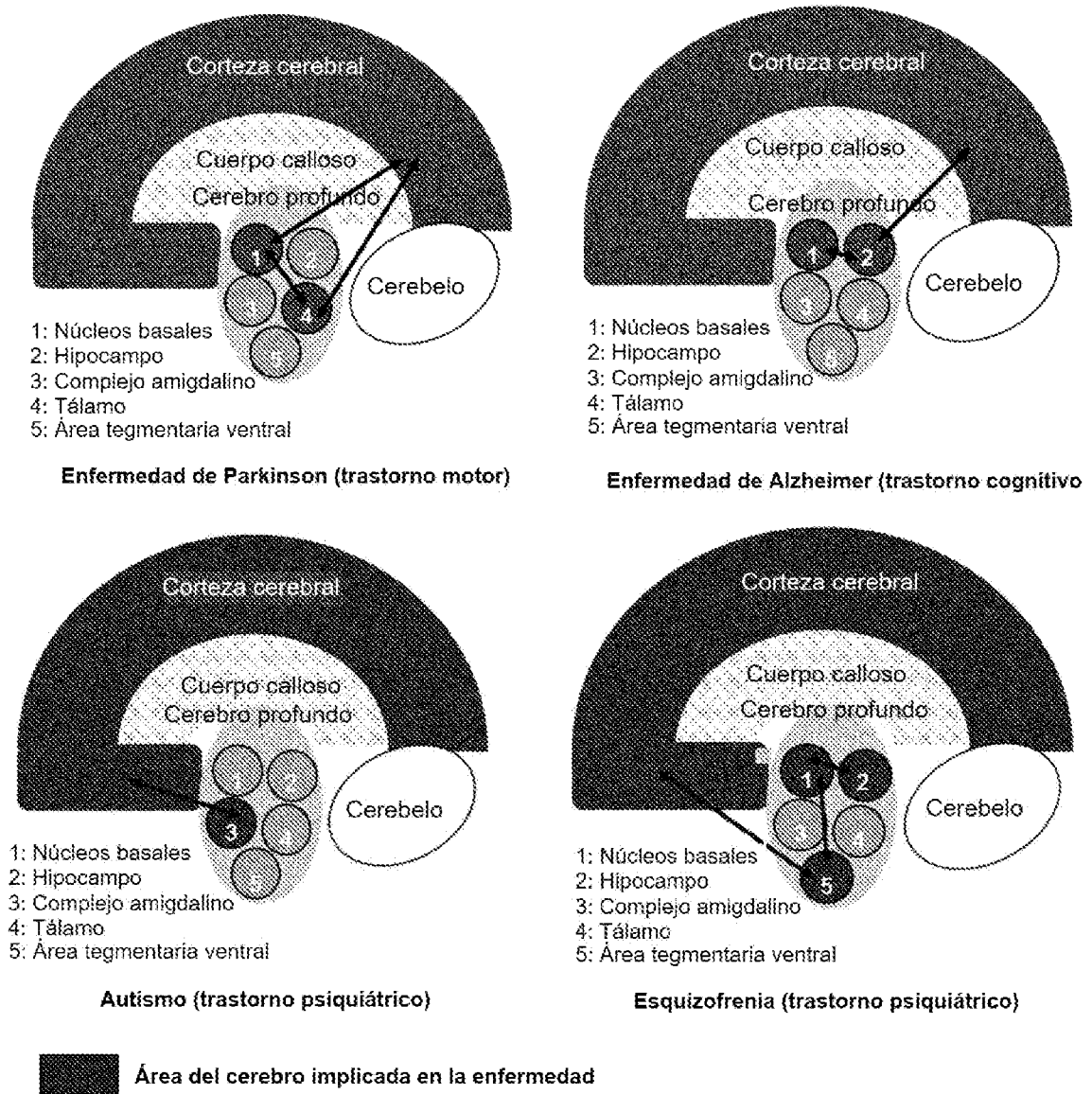


FIGURA 3

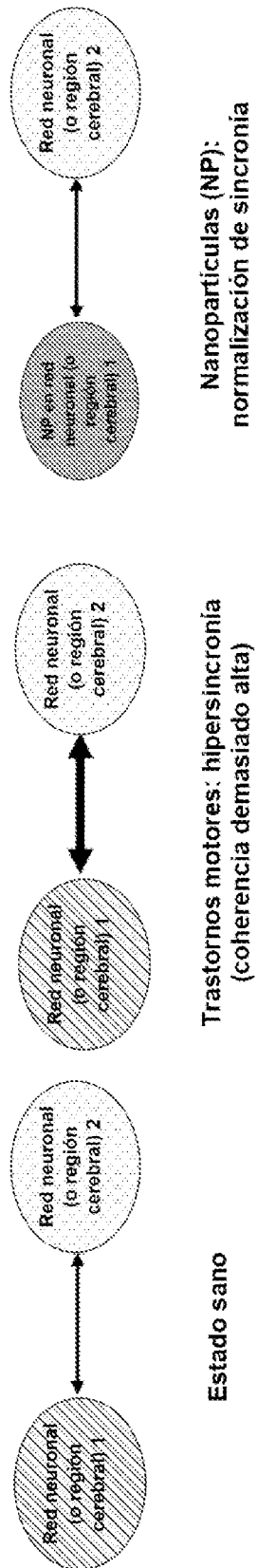


FIGURA 4

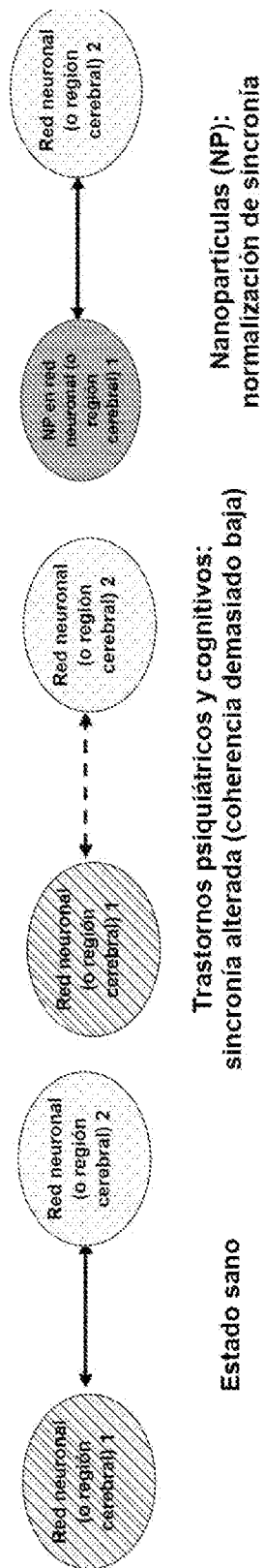


FIGURA 5

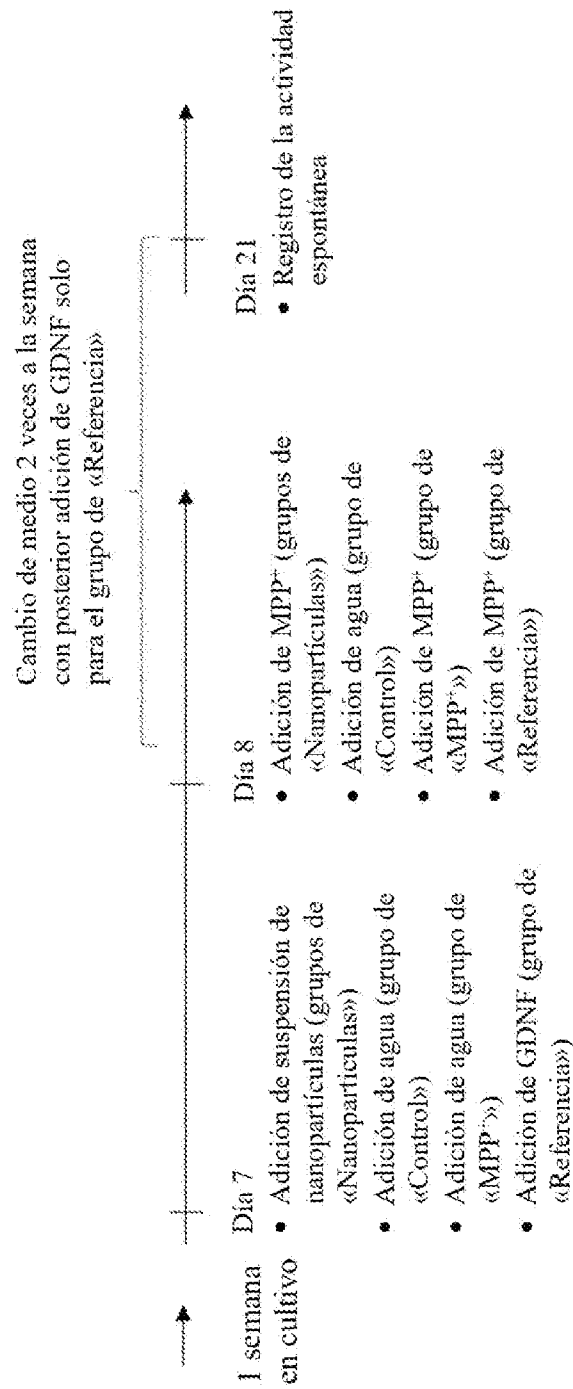


FIGURA 6

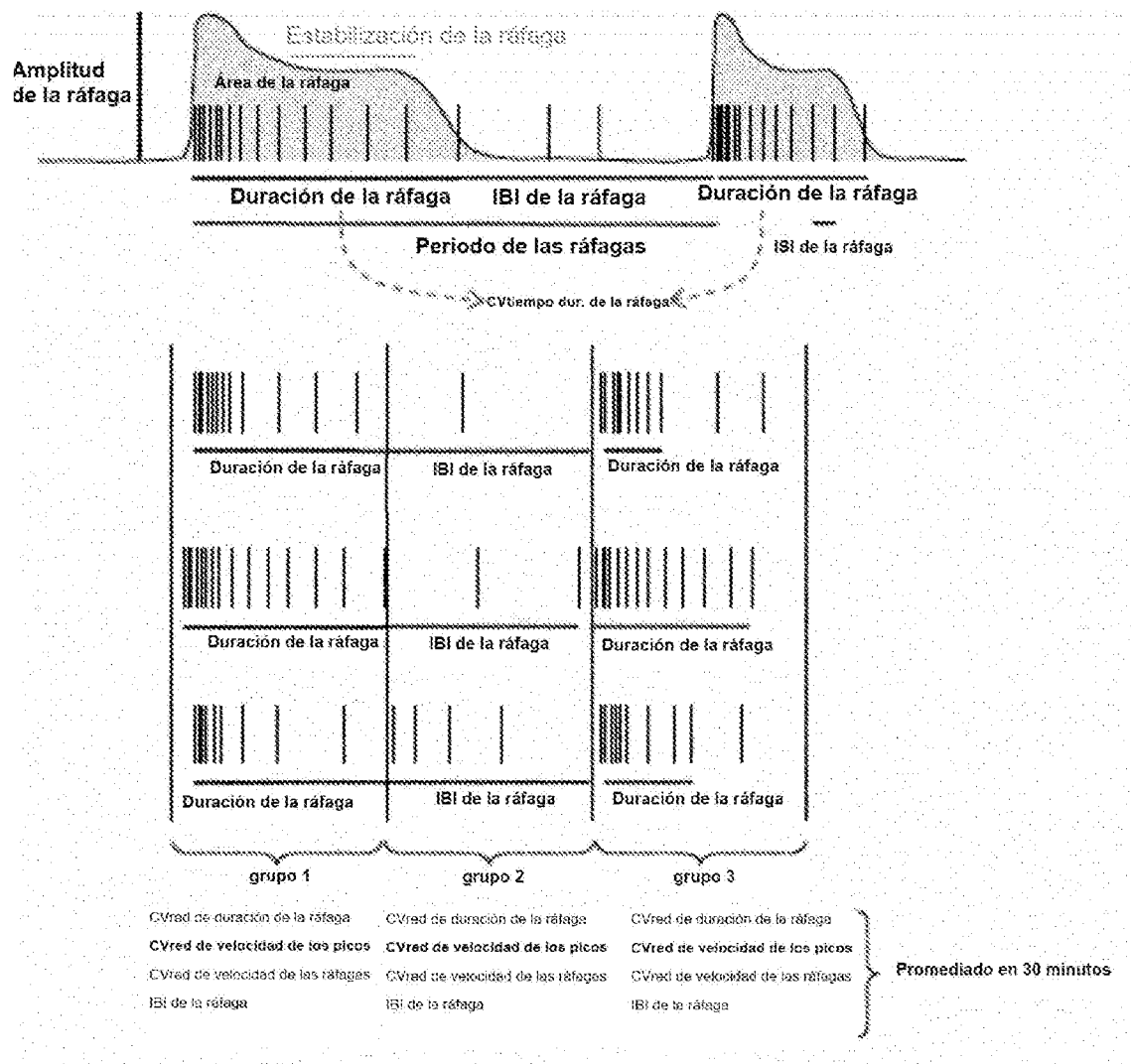


FIGURA 7

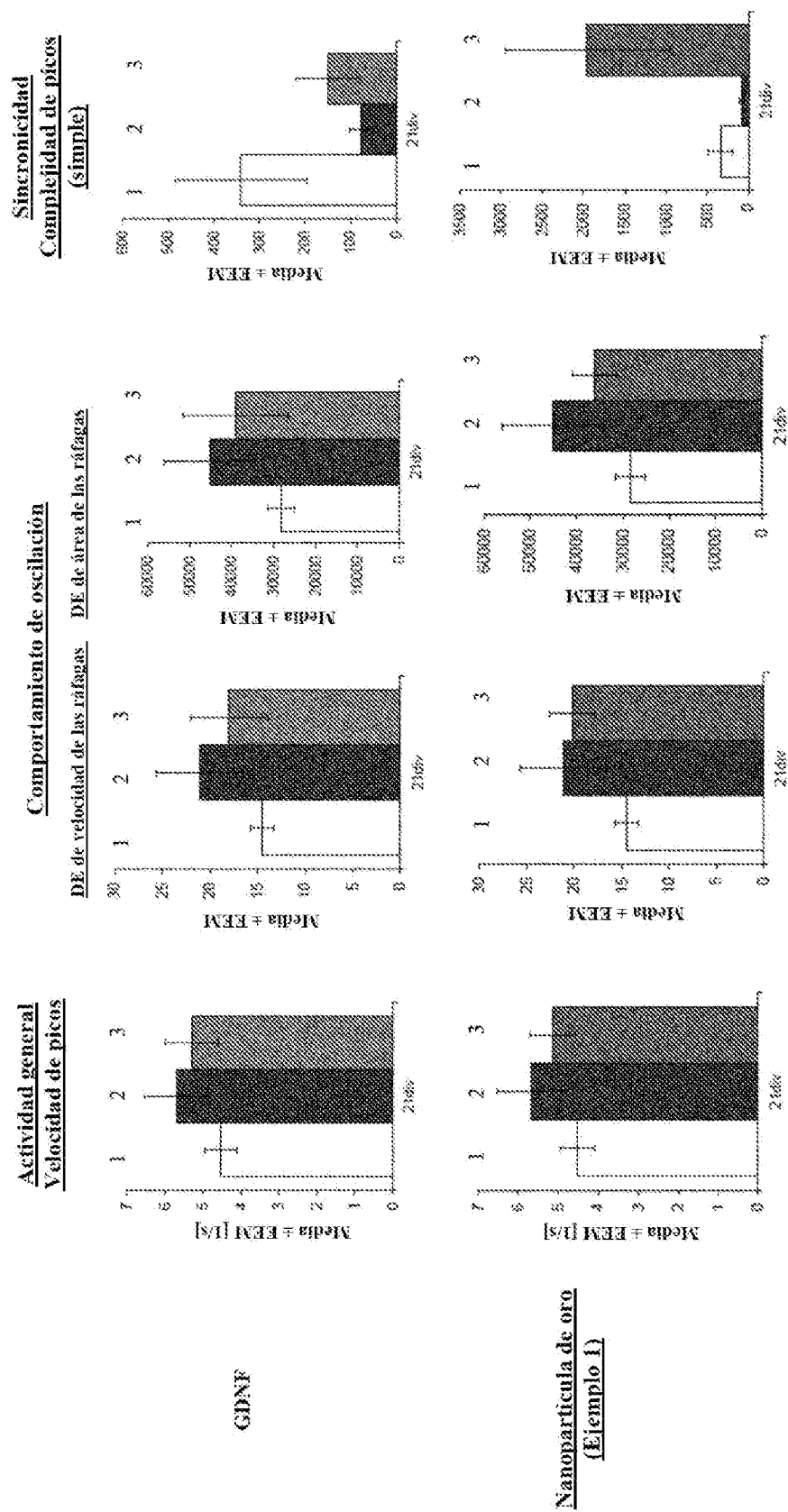


FIGURA 8

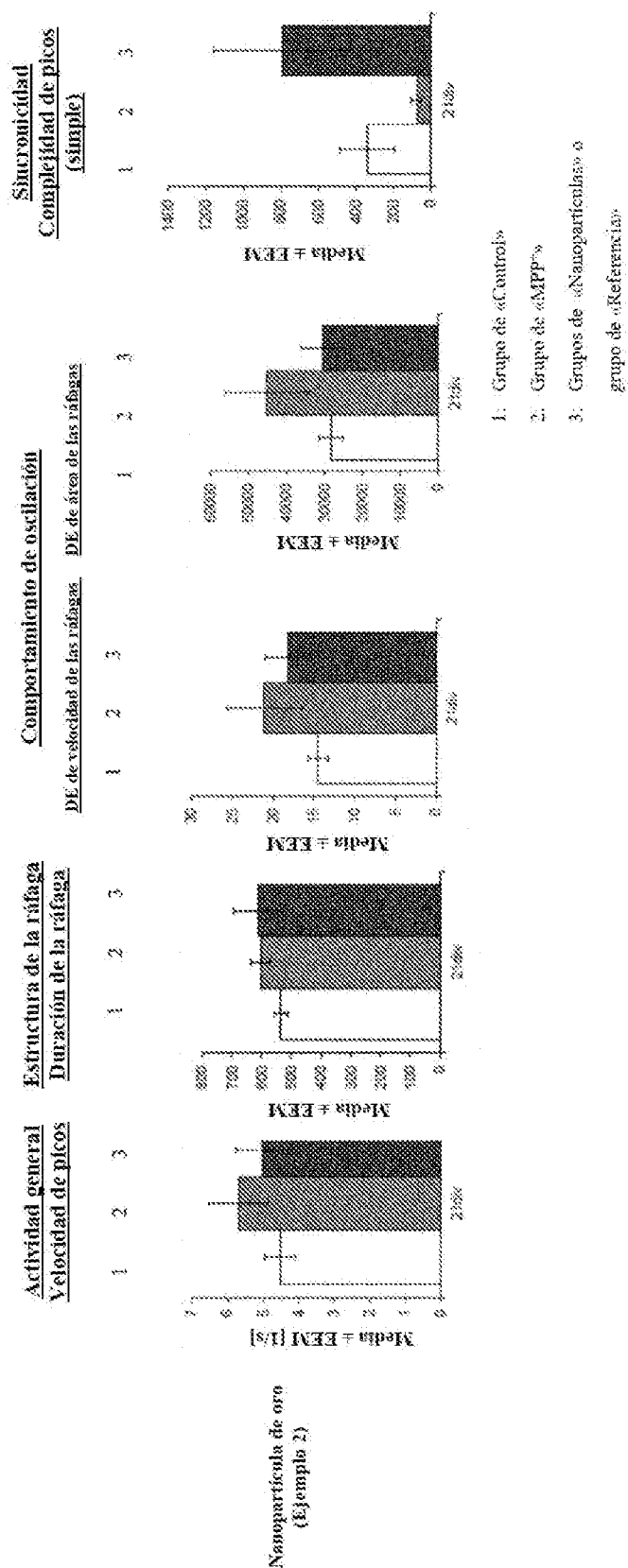


FIGURA 8 (continuación)

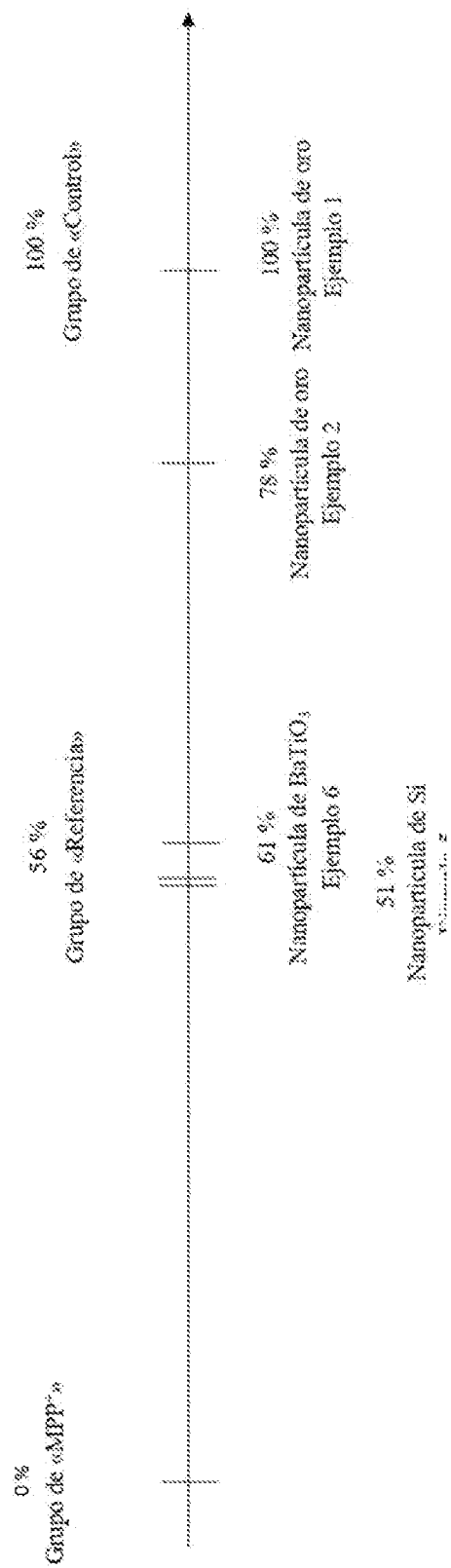


FIGURA 10

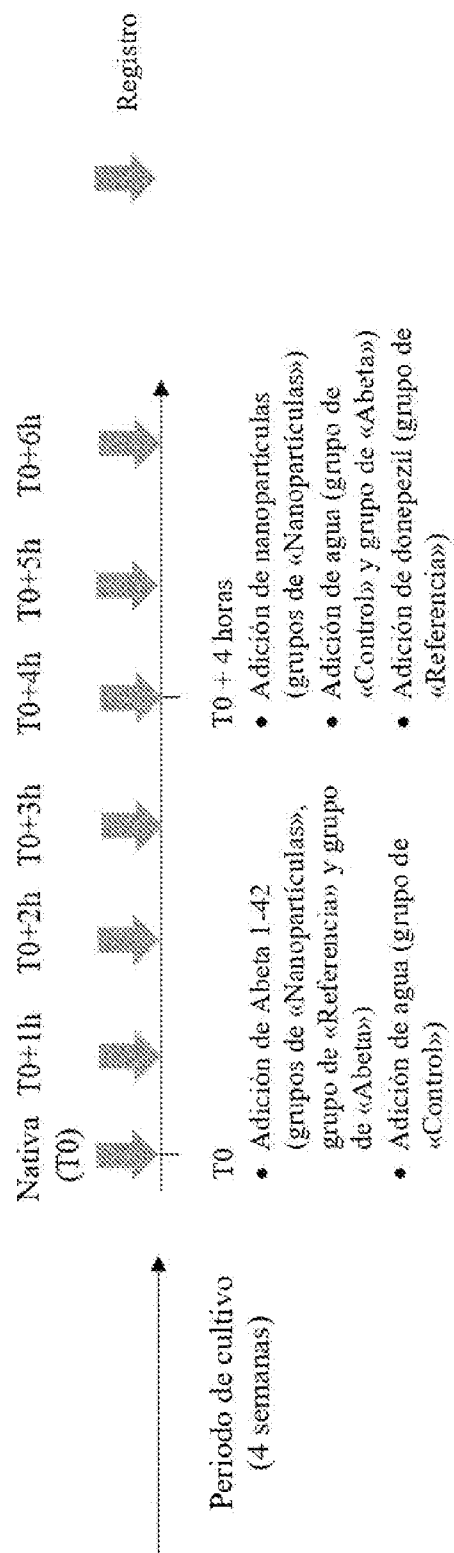


FIGURA 11

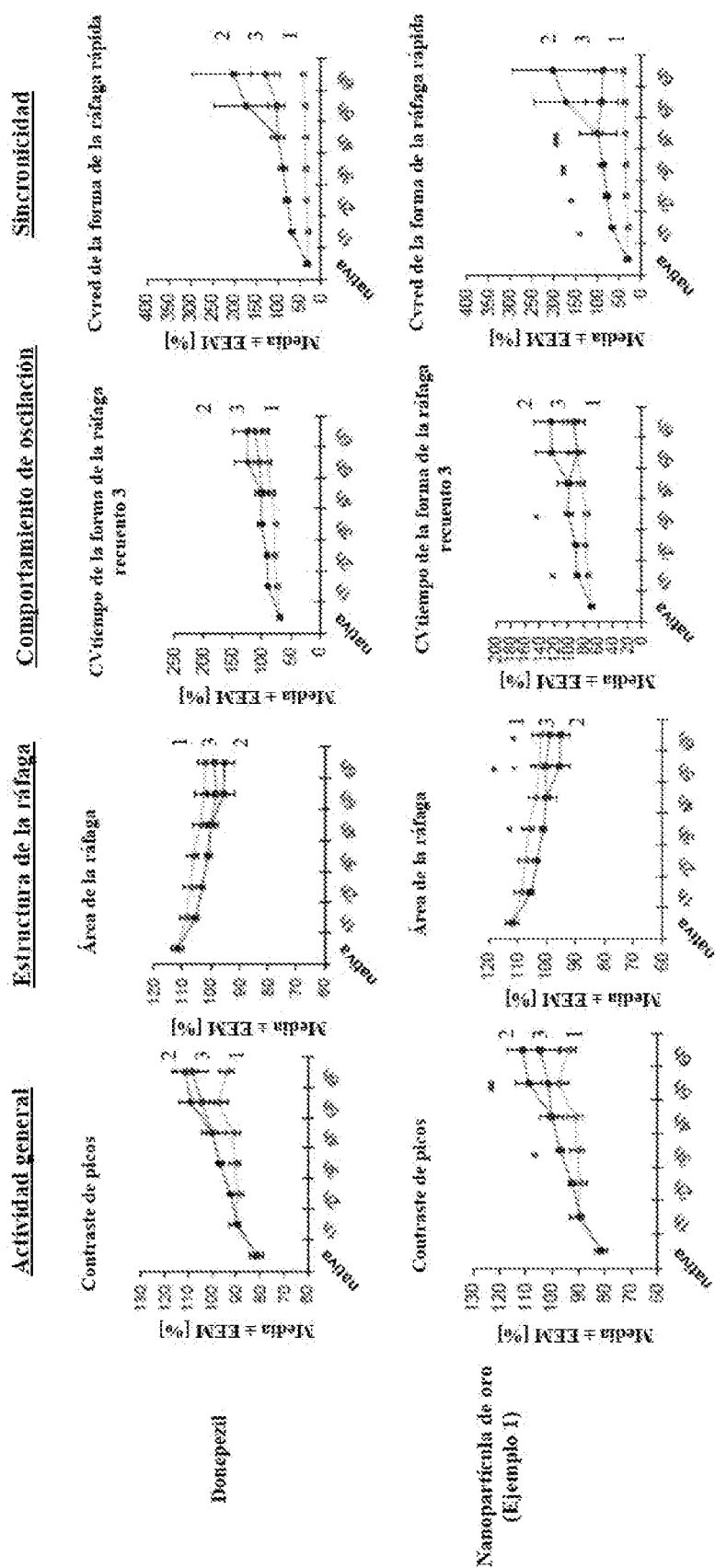


FIGURA 12

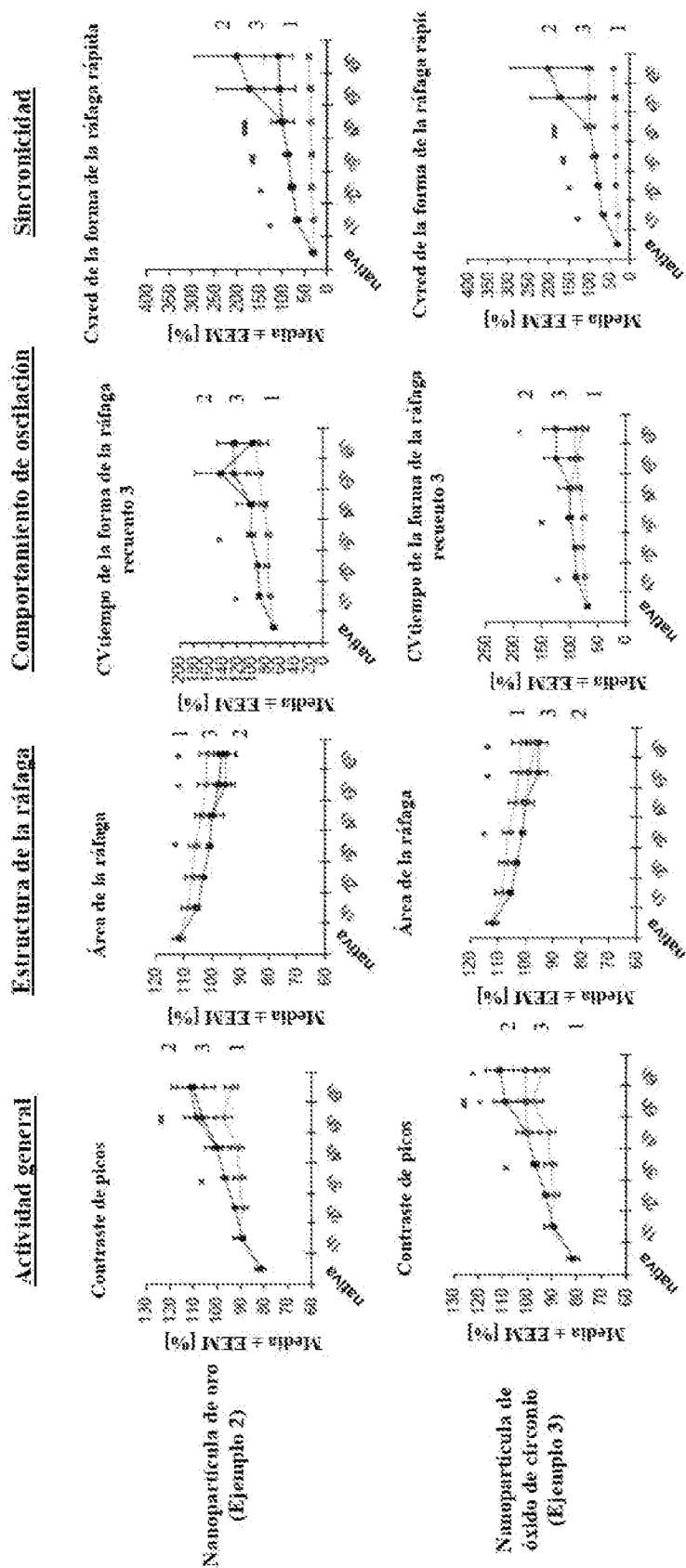


FIGURA 12 (continuación)

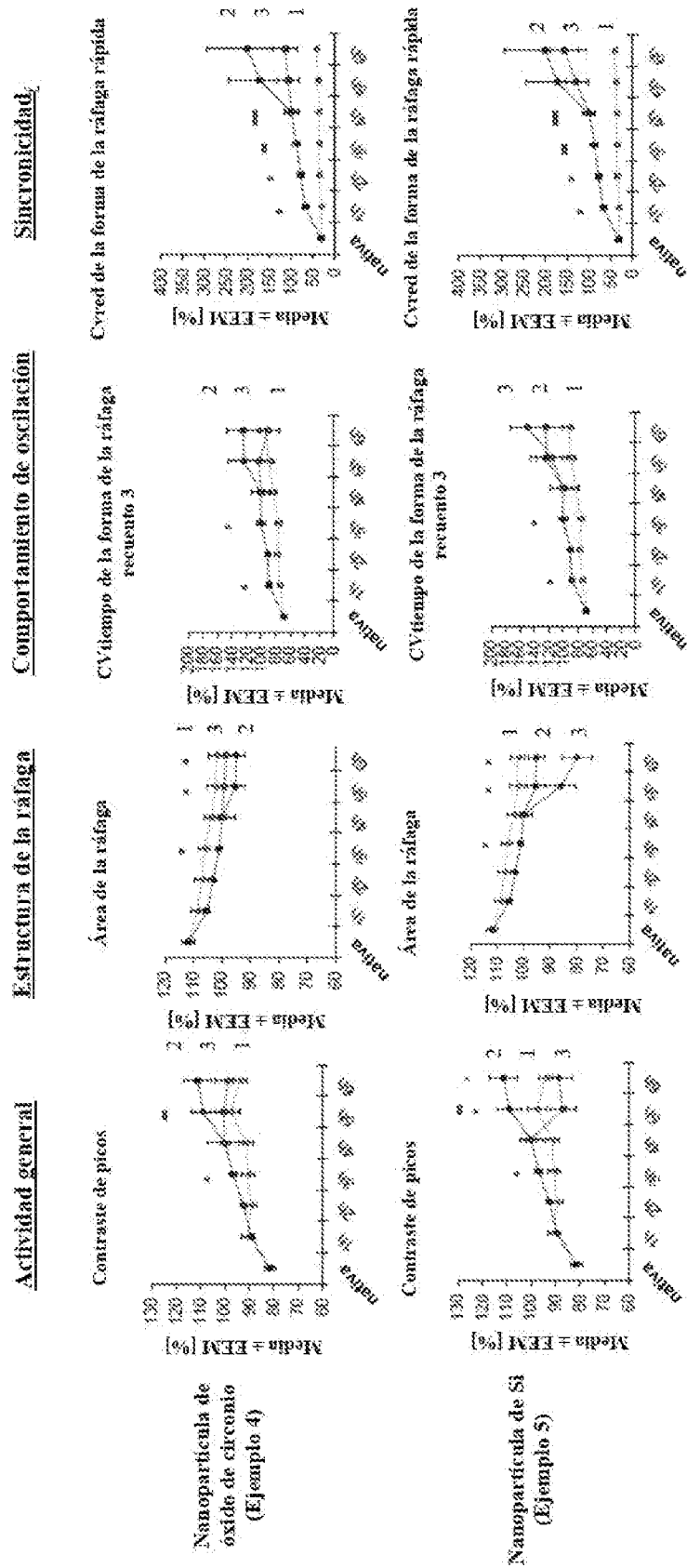


FIGURA 12 (continuación)

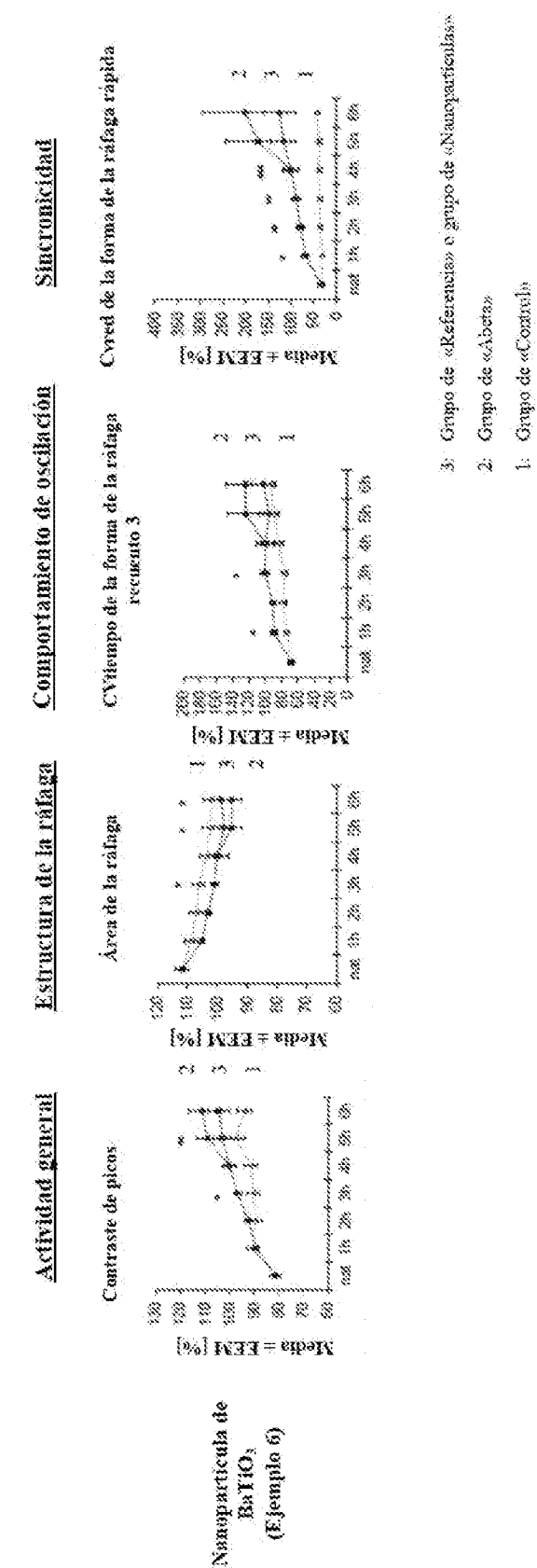


FIGURA 12 (continuación)

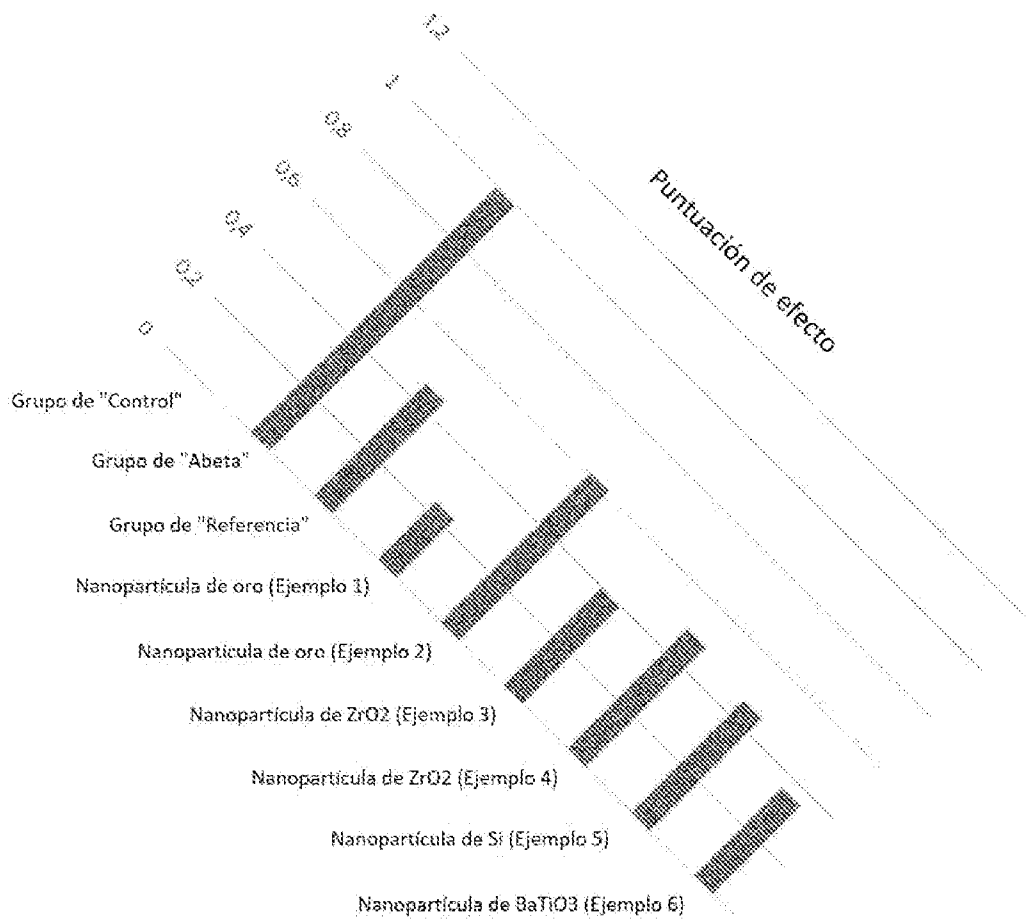


FIGURA 13

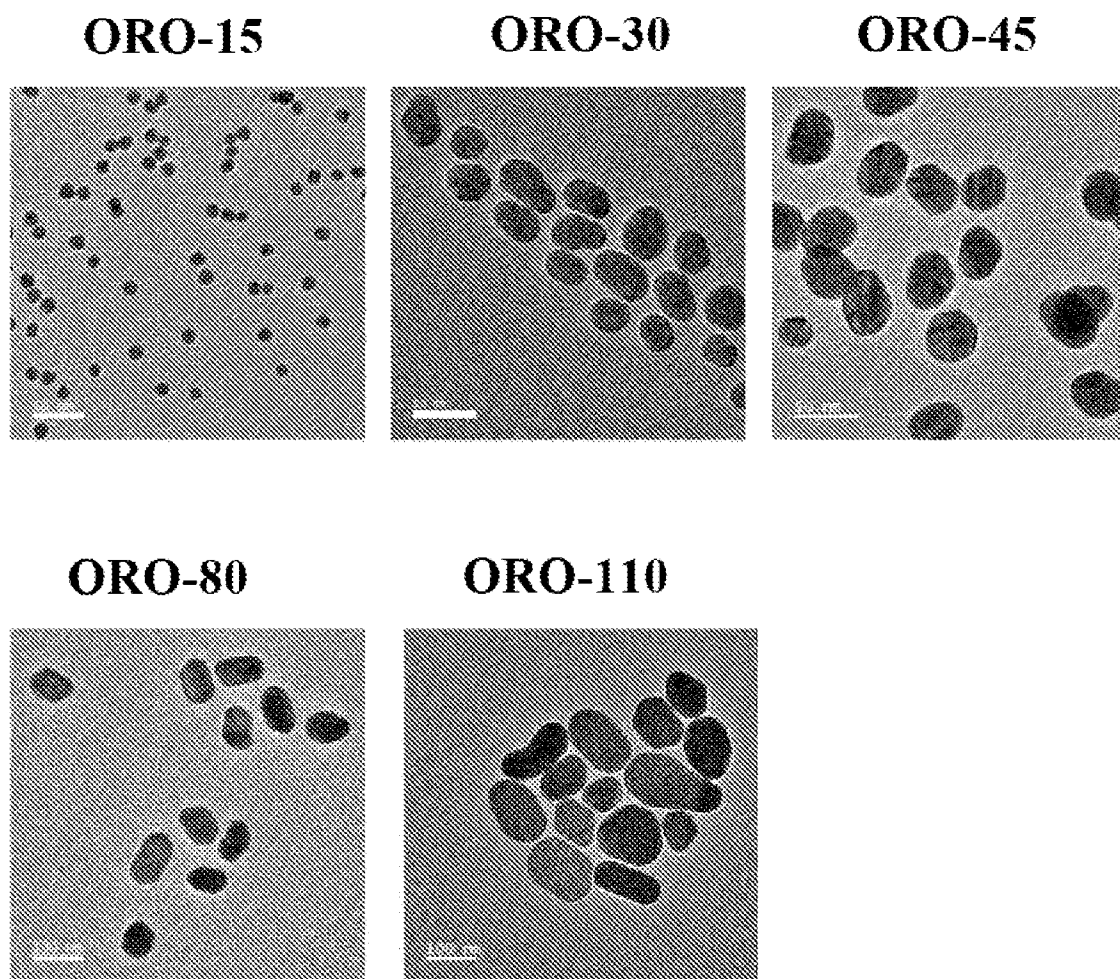


FIGURA 14

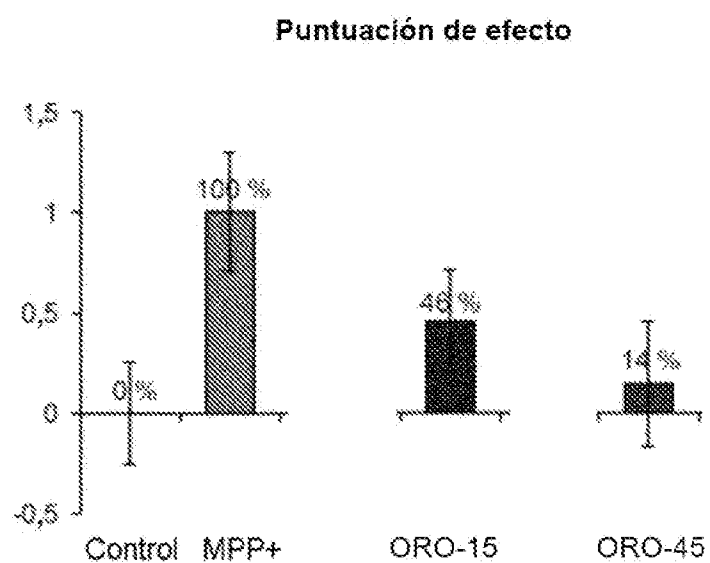


FIGURA 15