

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 022 536**

51 Int. Cl.:

A61K 33/244	(2009.01) A61P 35/00	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)	
A61K 9/10	(2006.01)	
A61K 9/14	(2006.01)	
A61K 47/02	(2006.01)	
A61K 47/10	(2007.01)	
A61K 47/18	(2007.01)	
A61K 47/38	(2006.01)	
A61P 27/00	(2006.01)	
A61P 27/06	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.04.2022** **PCT/EP2022/059891**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.10.2022** **WO22219050**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.04.2022** **E 22722530 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2025** **EP 4322968**

54 Título: **Composición tópica oftálmica con partículas de cerio para tratar enfermedades del segmento posterior del ojo**

30 Prioridad:

15.04.2021 EP 21382320

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.05.2025

73 Titular/es:

**FUNDACIÓ HOSPITAL UNIVERSITARI VALL
D'HEBRON - INSTITUT DE RECERCA (50.00%)
Pg. Vall d' Hebron, 119-129
08035 Barcelona, ES y
INSTITUCIÓ CATALANA DE RECERCA I ESTUDIS
AVANÇATS (50.00%)**

72 Inventor/es:

**FRANCO PUNTES, VÍCTOR;
CASALS MERCADAL, EUDALD;
ZAPATA VICTORI, MIGUEL ANGEL;
SALAS TORRAS, ANNA;
DUARRI PIQUÉ, ANNA;
BADIA PÉREZ, ANNA y
GARCÍA ARUMÍ, JOSEP**

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 3 022 536 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

Composición tópica oftálmica con partículas de cerio para tratar enfermedades del segmento posterior del ojo

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de los abordajes médicos para enfermedades oculares del segmento posterior del ojo. La invención también se refiere a composiciones oftálmicas.

10

Antecedentes de la invención

El ojo es un órgano muy complejo con diferentes células y tejidos especializados. Las enfermedades locales y sistémicas pueden afectar a las diferentes regiones del ojo, pero la anatomía del ojo y la compleja fisiología de la retina y el nervio óptico dificultan el desarrollo de fármacos eficaces.

15

El ojo se divide en dos compartimentos llamados el segmento anterior (parte delantera del ojo) y el segmento posterior (parte trasera del ojo). El segmento anterior del ojo se refiere a la córnea, la conjuntiva, la esclerótica anterior (parte de la esclerótica que pasa a convertirse anteriormente la córnea en el limbo), el iris, el cuerpo ciliar, el humor acuoso y el cristalino. El segmento posterior del ojo (también llamado segmento ocular posterior) incluye la membrana hialoidea anterior y las estructuras detrás de esta membrana, la esclerótica posterior (parte de la esclerótica que pasa a convertirse posteriormente en la lámina de la duramadre del nervio óptico), el cuerpo vítreo (que incluye el humor vítreo y la membrana), la retina, la mácula, la coroides y el nervio óptico. El segmento posterior representa los dos tercios del ojo. Las causas principales del deterioro de la visión y la ceguera irreversible son enfermedades relacionadas con el segmento posterior del ojo.

20

Las formulaciones tópicas (por ejemplo, colirios) son la vía menos invasiva para la administración de fármacos oculares. La administración local tópica es la principal modalidad de tratamiento para la enfermedad del segmento anterior. Sin embargo, barreras oculares para evitar que los patógenos accedan también impiden la administración de fármacos incluso al segmento anterior. Además, el parpadeo y la renovación de la película lagrimal, diseñados para lavar material extraño y mantener una superficie anterior clara y suave, también limita el tiempo de residencia de un fármaco. Además, el acceso al segmento posterior está impedido por un epitelio corneal muy compacto y estroma con lipofilia variable (véase Awwad et al., "Principles of Pharmacology in the Eye", British Journal of Pharmacology-2017, vol n.º 174 número 23, pp.:4205-4223). Además, la dirección del flujo acuoso en el ojo (ángulo de cuerpo ciliar a cámara anterior) es contraria a la dirección de administración de fármacos por una vía tópica.

30

Incluso en caso de que un fármaco pudiera llegar al segmento posterior del ojo, puede ser retirado de la cavidad vítrea a través de la difusión en la cámara anterior, o por la barrera hematorretiniana. Todo esto dificulta cualquier tratamiento para el ojo de una enfermedad del segmento posterior por administración por vía tópica sobre la superficie del ojo, y las únicas modalidades locales en el uso cotidiano para tratar enfermedades del segmento posterior del ojo son la inyección intravítrea (IVT), la fotocoagulación láser o las inyecciones perioculares. Esto es principalmente debido a que, en general, se supone que las administraciones tópicas no llegan al segmento posterior del ojo (es decir, el humor vítreo y la retina), como se declara en Urtti A et al., "Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery". Adv. Drug. Deliv. Rev. 2006, vol. 58, pp. 1131-1135. Las inyecciones IVT evitan todas las barreras y dan como resultado la mayor biodisponibilidad. Sin embargo, las inyecciones IVT implican varios efectos secundarios graves, tales como desprendimiento de retina. Además, este tipo de intervención no tiene ningún sentido en fases tempranas de muchas de las enfermedades del segmento posterior del ojo.

40

45

Los principales trastornos oftálmicos del segmento posterior incluyen neovascularización patológica y proliferación ectópica, atrofia y muerte de células nerviosas, inflamación e infección, y desprendimiento. Las enfermedades y afecciones comúnmente asociadas a estos síntomas incluyen degeneración macular (es decir, degeneración macular senil), retinopatía diabética, retinopatía de prematuridad, retinitis pigmentosa, edema macular, glaucoma, uveítis posterior, endoftalmitis, traumatismo ocular y manifestación ocular de enfermedad sistémica, tal como infección vírica, artritis y rosácea.

50

Muchas de estas enfermedades se desarrollan a través de diferentes estadios con diferentes síntomas y gravedad. En ciertas fases tempranas del desarrollo de la enfermedad, no se recomienda un tratamiento agresivo, y los

pacientes son simplemente controlados y/o reciben ciertas vitaminas y antioxidantes normalmente por vía oral (o sistémica o por cualquier otra vía en otras ocasiones) para ralentizar la progresión de la enfermedad, en parte provocada por el estrés oxidativo. Sin embargo, tratamientos más específicos concebidos para estas enfermedades en estas fases tempranas privarían al paciente de lesiones avanzadas.

5

Esto es el particular el caso de la degeneración macular senil (abreviada DMS). En esta enfermedad, la muerte de las células de la retina ocurre debido a un aumento del estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria. La DMS es un trastorno neurodegenerativo y complejo con etiología multifactorial que afecta a la retina y que da como resultado la pérdida progresiva e irreversible de visión central. La DMS es una de las principales causas de ceguera, junto con la

10 retinopatía diabética. La DMS es una enfermedad actualmente inevitable que representa una causa importante de ceguera en personas de más 50 años y afecta a millones de personas en todo el mundo. Además, es una enfermedad huérfana de tratamiento. En fases tempranas no se administra tratamiento específico, más que vitaminas y antioxidantes, como se indicó previamente. En fases avanzadas de la enfermedad, la DMS se clasifica en dos tipos: DMS húmeda y DMS seca. La forma húmeda de la degeneración macular está relacionada con el

15 crecimiento anormal de vasos sanguíneos en la retina que pueden dejar escapar sangre y pueden provocar daño a las células fotorreceptoras y desprendimiento de retina. Los fármacos autorizados para etapas avanzadas de la DMS húmeda incluyen ciertos anticuerpos, tales como inyecciones intravítreas de bevacizumab e ranibizumab, que tienen el objetivo de ralentizar la progresión de la enfermedad. En la DMS seca, caracterizada por una atrofia masiva de células de la retina en la mácula, no se ha descubierto tratamiento específico eficaz y finalmente autorizado.

20

Se puede observar precisamente una situación similar con la retinopatía diabética (abreviada RD), la complicación más común de la diabetes y que sigue siendo la principal causa de ceguera entre los individuos en edad para trabajar en países desarrollados. En fases tempranas de la RD, tiene lugar neurodegeneración, aunque se considera una enfermedad microcirculatoria (véase Simó et al. en nombre del Consorcio europeo para el tratamiento precoz de

25 la retinopatía diabética (EUROCONDOR). "Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications", Br. J. Ophthalmol. – 2012, vol. 96, pp. 1285-1290).

Este estado de "orfandad de tratamiento" para todas estas enfermedades del segmento posterior supone un reto. En primer lugar, debido a que la administración sistémica de antioxidantes tiene como inconveniente la dificultad de

30 llegar al objetivo (es decir, el segmento posterior) debido a la barrera hematorretiniana natural en el ojo. Por lo tanto, normalmente es difícil ralentizar la progresión de la enfermedad. Segundo, en etapas avanzadas cuando las inyecciones intravítreas ya se han administrado, suponen tratamientos caros, además de los peligrosos efectos secundarios asociados, y en muchas ocasiones (muy) poco cumplimiento del paciente (es decir, las personas dejan de acudir al médico e interrumpen el tratamiento debido a que detestan tener que ponerse inyecciones en sus ojos y

35 debido a que también se ralentiza un poco la degeneración mientras que aumenta el dolor y los riesgos).

Sobre posibles fármacos para tratar trastornos o enfermedades del segmento posterior, se han descrito nanopartículas de óxido de cerio (partículas de cerio o NP de cerio) para inyecciones intravítreas para tratar glaucoma, degeneración macular senil (formas seca y húmeda) y retinopatía diabética, entre otras enfermedades.

40 Así, en la patente de EE. UU. US7347987B2 se describe la administración de partículas de cerio para inhibir especies reactivas de oxígeno (ROS) y promover la longevidad de las neuronas de la retina. Los datos se realizan en ratas a las que se administró una inyección intravítrea de partículas de cerio de tamaño de diámetro y forma tridimensional desconocidos. Se mencionan partículas ultrafinas desde 1 hasta 10 nm, y también se menciona administración tópica, aunque no se proporcionan datos.

45

Otro documento que describe el uso de partículas de cerio para reducir, inhibir o invertir la tasa de neovascularización o degeneración de células de la retina en enfermedades del segmento posterior del ojo es la solicitud de patente de EE. UU. con número de publicación US2011111007. Se describe un ensayo in vivo (Ejemplo 2) con un modelo de ratón de DMS que administra partículas de cerio de tamaño desconocido por inyección

50 intravítrea. El documento de patente US2011111007 describe genéricamente partículas de cerio con tamaños desde 1 hasta 10 nm. Se menciona la administración tópica, aunque no se proporcionan datos.

Aunque los documentos proponen la administración tópica como modo de administración general, no se describen ejemplos con precisión debido a que no es la vía de administración habitual de fármacos al segmento posterior.

55

De hecho, según el reciente estado de la técnica, también se deberían lograr nuevos retos para traducir el uso de partículas de cerio en práctica clínica y mejorar el tratamiento de pacientes en el campo oftálmico: el desarrollo de

- partículas de cerio solubles en agua; y el desarrollo de partículas de cerio más permeables a la superficie ocular para administrarlas por una vía de administración menos invasiva, en vez de inyecciones intravítreas (véase Maccarone et al., 2019. Maccarone et al., 2019. Ophthalmic Applications of Cerium Oxide Nanoparticles. Nanoceria in ophthalmology). Para mejorar la solubilidad y la permeabilidad, se propone la funcionalización de partículas con
- 5 sacáridos. Para aumentar la permeación de la córnea, aunque el nanotamaño puede facilitarla, se proponen la PEGilación y el transporte de liposomas, para evitar la agregación de nanopartículas y el aumento espectacular de tamaño. Cabe destacar el hecho de que las partículas de cerio ultrafinas (1-10 nm) tienden a agregarse y a formar
- 10 grumos insolubles que provocan un efecto secundario grave, tal como reacciones inmunitarias. Por lo tanto, independientemente del hecho de que ni el documento de patente US7347987B2 ni US2011111007 muestre un tratamiento oftálmico tópico con partículas de cerio, siguiendo los trabajos del autor y el estado de la técnica, los
- 15 tamaños ultrafinos propuestos implicarían agregación y problemas de solubilidad que provocarían efectos adversos. Esto es además problemático con la mayoría de las partículas de cerio disponibles actuales, que están en forma de agregados discretos de algunas decenas de nanómetros en el mejor de los casos, y las más frecuentes con una carga superficial catiónica, puesto que el humor vítreo tiene una porosidad de aproximadamente 10 nanómetros
- 20 hecha de una malla aniónica, de tal forma que partículas catiónicas y mayores se absorben sobre ellas. Por lo tanto, tienen que ser forzadas a entrar dentro del ojo. Además, lo que puede suponer un efecto beneficioso en condiciones agudas no podría traducirse directamente para la inflamación crónica asociada a las etapas avanzadas de estas enfermedades del segmento posterior del ojo, tales como la DMS.
- 25 Badia et al. describieron el uso de nanopartículas de óxido de cerio en un modelo de DMS, en el que se ensayaron inyecciones intravítreas y la administración tópica (Badia et al., "First steps in the development of topical CeO₂NPs treatment to fight dry DMS progression using the DKOrd8 mouse model", IOVS-2018, vol. n.º 59(9), Resumen 58). Los autores llegaron a la conclusión de que el cerio se detectó en la retina 24 horas después de la inyección intravítrea o la administración tópica. Sin embargo, el tamaño de partículas no se desveló, y el documento no dice

Otros documentos del campo que describen ensayos con partículas de cerio son los siguientes.

- El documento de Tisi et al., "Nanoceria particles are an eligible candidate to prevent age-related macular
- 30 degeneration by inhibiting retinal pigment epithelium cell death and autophagy alterations", Cells-2020, vol. n.º 9, p. 1617, describe la inyección intravítrea de partículas de cerio en ratas; aunque el tamaño de partículas de las nanopartículas no está indicado, los autores llegan a la conclusión de que en vista de la localización de las nanopartículas en el EPR, puede ser concebido como un punto de partida interesante para continuar investigando para ver si finalmente se podría aplicar en el tratamiento de pacientes con DMS y para proteger el EPR.
- 35 El documento US2010221344 también describe el uso de una composición con nanocerio asociado a otros fármacos para trastornos del segmento posterior del ojo, en particular glaucoma. Los ejemplos se llevan a cabo con nanopartículas de 10-20 nm para inhibir en un tubo ensayo la enzima anhidrasa II carbónica (hCAII) humana, asociada a la progresión de glaucoma.
- 40 La solicitud de patente WO2008064357/WO2018064357 describe nanopartículas de óxido de cerio recubiertas con citrato de 3-5 nm para potenciar la supervivencia y la viabilidad de células. Se propone que las nanopartículas se administren por vía intraocular, pero no por vía tópica al ojo, y no dice nada sobre ninguna enfermedad del segmento posterior del ojo.
- 45 Otras partículas de cerio recubiertas se describen para otros usos diferentes del tratamiento de enfermedades del segmento posterior del ojo. Por ejemplo, la solicitud de patente WO2017174437 describe partículas de cerio recubiertas con albúmina o polivinilpirrolidona para su uso en el tratamiento de carcinoma hepatocelular.
- 50 Finalmente, la preparación de partículas de cerio recubiertas de citrato con un diámetro de aproximadamente 5 nm y su toxicidad en ratas se describe en Hancock et al., "The characterization of purified citrate-coated cerium oxide nanoparticles prepared via hydrothermal synthesis", Applied Surface Sciences-2020, 147681.

- Por lo tanto, todavía existe la necesidad en el campo de tratamientos eficaces para todas estas enfermedades del
- 55 segmento posterior ocular con bajos efectos secundarios y para hacer frente a las fases iniciales de algunas de las enfermedades cuando las inyecciones intravítreas no son concebibles.

Breve descripción de la invención

- Los inventores han descubierto que, ciertas nanopartículas de óxido de cerio (abreviadas NP de cerio) que no se agregan y que están en suspensión coloidal en un medio acuoso que comprende una sal de citrato, se pudieron
- 5 administrar por vía tópica en el ojo (es decir, en la córnea o el fondo de saco conjuntival o la esclerótica, es decir, administración oftálmica a la superficie del ojo) y llegaron al segmento posterior del ojo. Las NP de cerio se distribuyeron homogéneamente en las diferentes partes del ojo (segmento anterior, cristalino, retina). Esto se logró con las NP de cerio con citrato adsorbido en su superficie o con citrato como recubrimiento, sin la necesidad de funcionalización con sacáridos, PEG, PVP, EDTA u otros para evitar la agregación (es decir, evitar la precipitación
- 10 para promover la "solubilización" o "suspensión homogénea"). Además, se llevó a cabo la permeación a través de varias partes del segmento anterior sin modificación covalente de la superficie de nanopartículas por medio de moléculas hidrófobas o anfífilas (es decir, PEGilación), o sin la necesidad de encapsular NP de cerio en estructuras supramoleculares (es decir, liposomas) que contienen lípidos o compuestos poliméricos hidrófobos o anfífilos.
- 15 Por lo tanto, los inventores han descubierto sorprendentemente un modo para mantener las NP de cerio de bajo diámetro en suspensión coloidal que no se agregan. Por lo tanto, las nanopartículas fueron nanopartículas individuales agregadas en suspensión y monodispersas (es decir, >90 % de uniformidad en la distribución de tamaño). Estas suspensiones particulares podrían entrar en el segmento posterior del segmento anterior y no se observó agregación de partículas, evitándose así cualquier efecto secundario debido a la formación de precipitados.
- 20 Además, como se mostrará en los ejemplos más adelante, la cantidad de NP de cerio que llegaron al segmento posterior (retina y diferentes partes del polo posterior) fue aproximadamente del 30-50 % de la cantidad que se detectó finalmente en las diversas partes del ojo después de ser administradas por vía tópica. Estas cantidades detectadas lograron concentraciones eficaces para suprimir la evolución de las enfermedades. Ventajosamente, no
- 25 se observó toxicidad en tejidos donde se retuvieron las NP de cerio, y no se detectaron ni en hígado ni en cerebro. Además, como se ilustrará en los ejemplos que siguen, la concentración lograda en las diferentes partes con la administración tópica fue aproximadamente la mitad de la lograda con la inyección intravítrea. Estas fueron cantidades terapéuticamente eficaces y, por lo tanto, por primera vez, las NP de cerio se podrían usar como un sustituto real de las inyecciones intravítreas para el tratamiento de trastornos, afecciones o enfermedades del
- 30 segmento posterior ocular.
- Otra ventaja más de las NP de cerio propuestas y relacionada con la toxicidad es que, según resultados preliminares, las partículas no se acumulan en el ojo en caso de sobredosis y cualquier exceso es rápidamente eliminado/aclarado. Esto hace posible programas de administración repetida durante más de un día (es decir, 7 días
- 35 o más), puesto que después de siete días de administración de las NP de cerio en forma de un colirio, solo se observó un aumento cuádruple de la concentración con indicaciones de saturación.
- Por lo tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I):
- 40 NP-(C) (I), donde
- NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina (CeO_2) con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, y (C) es un recubrimiento de moléculas de citrato adsorbidas sobre las NP,
- 45 para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I).
- 50 Las nanopartículas de la fórmula (I) se refieren a lo largo de esta descripción como NP de cerio recubiertas, NP- CeO_2 recubiertas, NP- CeO_2 -(C), o simplemente NP-(C). En cualquier caso, y si no se indica lo contrario, se refieren a las nanopartículas del óxido monocristalino que comprende las moléculas de citrato asociadas a o adsorbidas o que recubren (usado de forma sinónima) dicho monocristal.
- 55 Para esta administración oftálmica tópica, las nanopartículas están particularmente en forma de una suspensión coloidal acuosa que comprende las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) (NP-(C)) de la fórmula (I)), y una sal de citrato farmacéuticamente aceptable.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a suspensiones coloidales acuosas que comprenden una sal de citrato farmacéuticamente aceptable y nanopartículas de la fórmula NP-(C) (I),

- 5 donde NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, y (C) es citrato adsorbido encima, recubriendo así, las NP; siendo estas suspensiones para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de la suspensión coloidal acuosa.
- 10 Estas suspensiones coloidales para el uso previsto son obtenibles mediante la preparación de nanopartículas de CeO₂ usando un complejo de citrato de cerio (III) como precursor y la precipitación a pH básico en presencia de un exceso de la sal de citrato farmacéuticamente aceptable, definiéndose este exceso como una cantidad superior a la necesaria para cubrir completamente la superficie disponible de la nanopartícula de CeO₂. Los inventores han determinado que para 1 mg/ml de nanopartículas de CeO₂, la cantidad superior a la sal de citrato
- 15 farmacéuticamente aceptable en la suspensión coloidal es desde 2 hasta 10 mM para que tenga un principio activo estable que se dispersa adicionalmente, por ejemplo, en una disolución de metilcelulosa u otros polímeros de celulosa (véanse los ejemplos que siguen, donde las NP de CeO₂ recubiertas de citrato de la fórmula (I) se dispersaron en una disolución que contenía 5 % de metilcelulosa para conseguir una concentración final de CeO₂ de 2 mg/ml de CeO₂).
- 20 Por lo tanto, también se describe en el presente documento una suspensión coloidal acuosa que comprende una sal de citrato farmacéuticamente aceptable y nanopartículas de la fórmula NP-(C) (I), obtenibles:
 - (i) mezclando en un medio acuoso una sal de cerio, en particular nitrato de cerio, con una cantidad de una sal de citrato farmacéuticamente aceptable, en particular una sal de citrato de un elemento alcalino o alcalinotérreo y estando dicha cantidad de sal de citrato en exceso en relación con la cantidad de la sal de cerio, y dejando la mezcla de reacción con agitación durante un tiempo adecuado, mientras que el medio se conduce a un básico pH, para conseguir complejos de cerio (III) con citrato que se van a oxidar a complejos de cerio (IV) antes de la mineralización, es decir, antes de la formación del óxido de cerio;
 - 30 (ii) dejando la mezcla de reacción a reflujo a una temperatura de al menos 100 °C durante un periodo de tiempo para obtener una suspensión con nanopartículas (NP) de CeO₂ dispersadas, que son nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, y que comprenden citrato (C) adsorbido encima, recubriendo así, las NP.
- 35 Obsérvese que en ausencia de la sal de citrato, tal como citrato de sodio (CS), el nitrato de cerio precipitará en forma de óxido de cerio a TA (temperatura ambiente) y pH básico, formando agregados. Sin embargo, la estabilidad del enlace cerio con la sal de citrato (por ejemplo, enlace Ce-CS) previene esto, y entonces se necesita una alta temperatura (T) durante un periodo de tiempo para romper los enlaces complejos y para obtener las NP de CeO₂
- 40 (mineral) recubiertas con la sal de citrato (es decir, NP de CeO₂ recubierta con CS).
- Las suspensiones coloidales de NP de cerio de la fórmula (I) incluyen estas nanopartículas como monocristales (es decir, no hay agregación de partículas sino que están aisladas) con un diámetro que permite la entrada en el segmento posterior ocular sin precipitación en la suspensión acuosa, en parte debido a la presencia de las
- 45 moléculas de citrato adsorbidas sobre el monocristal, o en otras palabras, haciendo un tipo de recubrimiento a su alrededor. Las moléculas de citrato están asociadas por fuerzas iónicas o de van der Waals con la superficie del óxido de cerio de las nanopartículas, que adquieren una carga negativa neta. Por lo tanto, las partículas coloidales están cargadas negativamente. A pesar del bajo tamaño de las partículas, cantidades terapéuticas entraron y llegaron sorprendentemente a la retina sin la ayuda de funcionalización de nanopartículas. Por lo tanto, en la
- 50 suspensión coloidal acuosa, la superficie de nanopartículas está libre de funcionalización por moléculas de naturaleza hidrófoba o anfífila (es decir, polietilenglicoles, sacáridos) y libre de vehículos de encapsulación (es decir, liposomas, exosomas, etc.). El evitar la funcionalización es de interés, puesto que cuanto más complejas sean las moléculas, más reactivas serán, en general, con el sistema inmunitario del hospedador.
- 55 Considerando el estado de la técnica, fue inesperado que nanopartículas tan simples (sin funcionalización) de un tamaño muy pequeño no se agregaran y llegaran a la retina y otras partes del segmento posterior del ojo una vez se administraron por vía tópica sobre la superficie del ojo.

Un tercer aspecto de la invención es una composición farmacéutica o veterinaria que comprende:

- 5 (a) nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I):

NP-(C) (I), donde

NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm,
10 medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X, y (C) son moléculas de citrato adsorbidas sobre, recubriendo así, las NP; y

(b) una sal de citrato farmacéutica o veterinariamente aceptable, junto con excipientes y/o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables.

15 Estas composiciones, cuando se formulan, en particular como suspensiones coloidales oculares tópicas farmacéuticas o veterinarias que comprenden las nanopartículas en suspensión coloidal y la sal de citrato farmacéutica o veterinaria aceptables, permiten elevados porcentajes de penetración del activo en el segmento posterior, y una distribución uniforme dentro de todas las estructuras en su interior, aunque se administren por vía
20 tópica (es decir, a través de la córnea, la esclerótica o la conjuntiva).

Breve descripción de las figuras

La FIG. 1 es un gráfico de barras con concentración de cerio (ng/mg de tejido), detectada por ICP-EM (eje Y) en las
25 diferentes partes de ojo (eje X), después de la administración intravítrea (barras negras) o tópica (barras estampadas). Polo ant. significa el polo anterior, que incluye la córnea y el iris. Polo post. significa el polo posterior o segmento del ojo que incluye el epitelio pigmentario de la retina, la esclerótica y la coroides.

La FIG. 2 también un gráfico de barras con concentración de cerio (ng/mg de tejido), detectada por ICP-EM (eje Y)
30 en las diferentes partes de ojo (eje X). La columna izquierda en cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 24 h después de la administración tópica (8.6 µg). La columna en el centro de cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 7 días (7d) después de una administración tópica diaria (60.2 µg en una semana; 8.6 µg/día). La barra derecha de cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 24 h después de la administración intravítrea (2 µg). Polo ant. significa el polo anterior, que incluye la córnea y el iris. Polo post. significa el polo posterior o
35 segmento del ojo que incluye el epitelio pigmentario de la retina, la esclerótica y la coroides.

Las FIGS. 3(A) a 3(C) son gráficas que muestran para 8-OHdG la intensidad de fluorescencia en unidades arbitrarias (u.a.) detectada en un ensayo con vehículo (medio de cultivo celular recién preparado) y la suspensión coloidal
40 acuosa que comprende NP de CeO₂ recubiertas con citrato (es decir, NP-(C)) (FIG. 3(A)). Las FIG. 3(B) y FIG. 3(C) muestran niveles relativos de ARNm, expresión de SOD2 y Nrf2, respectivamente.

La FIG. 4 ilustra la angiogénesis (longitud de microvasos (L) en micrómetros) probada para diferentes concentraciones de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) desde 0.05 hasta 500 µM de CeO₂ durante 7 días en un
45 ensayo de brote de coroides. Se cambió el medio cada 48 h. Se tomaron imágenes usando un microscopio Olympus. Se cuantificó la longitud de microvasos usando el software ImageJ. VEGF es el control positivo.

La FIG. 5 es un gráfico que muestra la actividad de antiangiogénica de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) en un modelo de ratón in vivo de neovascularización coroidea inducida por láser. El área es el área de lesión.

50 La FIG. 6 muestra el porcentaje de concentración de NP de CeO₂ distribuidas a lo largo de un humor vítreo sintético. NP de CeO₂-TMAOH corresponde a una suspensión acuosa que comprende las nanopartículas del estado de la técnica preparadas con hidróxido de tetrametilamonio y que no contienen moléculas de citrato. NP de CeO₂-(C) corresponde a una suspensión acuosa de partículas de cerio según la invención preparada en presencia de citrato de sodio. Cada barra ilustra la concentración de cerio medida en los diferentes niveles (superior S, medio M o inferior
55 I) del humor vítreo simulado (es decir, sintético).

La FIG. 7 muestra el análisis de dispersión dinámica de luz (DLS) de las nanopartículas para su uso en la invención. Muestra los picos de la distribución de tamaño (tamaño en nm) por intensidad (% de I). DLS mostró un pico bien definido por intensidad de aproximadamente 5 nm que corresponde a NP de CeO₂ dispersas individuales. Algunas veces se observaron otros picos menos intensos a centenas de nm. Estos grandes picos aparecieron incluso después de filtrar la muestra con un filtro de celulosa de 300 kDa (10 nm), por lo tanto, los inventores consideran que son artefactos debido a la baja dispersión de estas nanopartículas ultrapequeñas. Corroboración adicional de esto es el hecho de que después de filtrar la disolución con un filtro de poro de 10 nm, se preservó la mayor parte de la absorbancia de las partículas. Este pico desaparece cuando los datos se visualizan por número en vez de intensidad. La imagen ilustra tres registros con nanopartículas obtenidas con Ce 10 mM y citrato de sodio 20 mM con TMAOH a 25 mM y filtrado.

Descripción detallada de la invención

La invención se define en las reivindicaciones. Todos los términos que se usan en el presente documento en la presente solicitud, a menos que se establezca lo contrario, se deben entender en su significado habitual como se conoce en la técnica. Otras definiciones más específicas para ciertos términos como se usa en la presente solicitud son como se exponen a continuación y está previsto que se apliquen uniformemente en toda la memoria descriptiva y las reivindicaciones, a menos que una definición establecida expresamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

Como se usa en el presente documento, los artículos indefinidos "un" y "una" son sinónimos con "al menos uno" o "uno o más". A menos que se indique lo contrario, los artículos definidos usados en el presente documento, tales como "el" y "la", también incluyen el plural del nombre.

Por "nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina" se debe entender que dicha nanopartícula no está agregada (por interacción física débil o fuerte) con otras nanopartículas. Por lo tanto, está aislada como una nanopartícula o monodispersada. También se llaman "unidades cristalinas individuales de óxido de cerio". Por ejemplo, unidades cristalinas individuales de 3-5 nm de óxido de cerio. Todas estas estructuras se pueden observar por TEM. Con la tecnología de TEM se puede observar la alta densidad electrónica de los átomos de cerio acoplados al oxígeno. Con la tecnología de rayos X se detectan dominios de cristal (grupos de átomos en columnas y filas en la misma estructura cristalina). Según esta descripción, cristal individual o monocristal significa que únicamente existe un cristal de óxido de cerio que configura la nanopartícula, que tiene un diámetro de cristal. Siendo dichas nanopartículas nanopartículas individuales y monocristal, el dominio de cristal detectado por difracción de rayos X es altamente similar al diámetro detectado por TEM, que es la prueba de que las nanopartículas no están agregadas, como corroboran las mediciones de DLS (FIG. 7).

El término "nanopartícula", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a una partícula con al menos dos dimensiones en escala nanométrica, particularmente con las tres dimensiones en la escala nanométrica (1-100 nm). En esta descripción, las nanopartículas están en el intervalo 3 nm a 5 nm, que incluye 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 y 5. Más particularmente, en el intervalo desde 3.0 hasta 3.5 nm. En lo que respecta a la forma de las nanopartículas descritas en el presente documento, están incluidas esferas y poliedros. En una realización particular, la nanopartícula es esférica.

Como se usa en el presente documento, el término "tamaño" se refiere a una dimensión física característica. Por ejemplo, en el caso de una nanopartícula que es sustancialmente esférica, el tamaño de la nanopartícula corresponde al diámetro de la nanopartícula. Cuando se refiere a que un conjunto de nanopartículas es de un tamaño particular, se contempla que el conjunto de nanopartículas puede tener una distribución de tamaños alrededor del tamaño especificado. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, un tamaño de un conjunto de nanopartículas puede referirse a un modo de una distribución de tamaños, tal como un tamaño de pico de la distribución de tamaños. Además, cuando no es perfectamente esférico, el diámetro es el diámetro equivalente del cuerpo esférico que incluye el objeto.

El término "óxido de cerio" o "cerio" se refiere a especies de óxido de cerio (III) (Ce³⁺) y óxido de cerio (IV) (Ce⁴⁺) que están ambas presentes cuando se constituyen las nanopartículas. Aunque muchos de los átomos de cerio en las nanopartículas de óxido de cerio están normalmente en el estado de oxidación (Ce⁴⁺), las nanopartículas de óxido de cerio pequeñas también contienen átomos de cerio en el estado de oxidación (Ce³⁺). Las nanopartículas de óxido de cerio (abreviadas también como NP de cerio, NP-CeO₂ o simplemente NPC) se usan en una variedad

de aplicaciones, principalmente debido a su elevada área superficial y la capacidad del óxido de cerio para cambiar entre estados de oxidación (III y IV). En una realización particular, las nanopartículas de óxido de cerio están en el estado de oxidación (Ce⁴⁺).

- 5 Cuando en esta descripción se menciona el diámetro de la nanopartícula, se refiere al tamaño del diámetro del cristal (cristal individual). Como se ha indicado previamente, el tamaño del cristal se mide normalmente a partir de patrones de difracción de rayos X, mientras que el tamaño de partículas se mide por TEM. En el caso de nanopartículas de monocristal, coinciden los tamaños por XRD, TEM y DLS. Diámetros de tamaño de cristal típicos de las nanopartículas usadas en la presente invención varían desde 3 hasta 5 nm, cuando se miden por TEM, más
10 particularmente el diámetro del tamaño del cristal de las nanopartículas es 5 nm.

- El "diámetro hidrodinámico" determinado por técnicas de dispersión dinámica de luz (DLS) basadas en la ecuación de Stoke-Einstein se usa en el presente documento para referirse a la nanopartícula de monocristal con agua adsorbida y otras moléculas en la suspensión coloidal. Se puede medir por iluminación de las partículas con un láser
15 y analizando las fluctuaciones de intensidad en la luz dispersada. La dispersión dinámica de luz mide el movimiento browniano y lo relaciona con el tamaño de las partículas para el que la intensidad de luz es proporcional al cuadrado del volumen de la partícula. Por lo tanto, el tamaño hidrodinámico es siempre mayor que el tamaño observado por microscopía electrónica de transmisión, este último el de las nanopartículas de monocristal. Diámetros hidrodinámicos típicos de las nanopartículas de óxido de cerio monocristalinas para su uso en la presente invención
20 (nanopartículas altamente monodispersas) dieron un pico de aproximadamente 5 nm, que fue muy parecido a TEM y XRD.

- En química, un coloide es una mezcla en la que una sustancia de partículas insolubles microscópicamente dispersadas se suspende en otra sustancia. Algunas veces, la sustancia dispersada sola se denomina el coloide; el
25 término suspensión coloidal se refiere inequívocamente a la mezcla global. A diferencia de una disolución, cuyo soluto y disolvente solo constituyen una fase, un coloide tiene una fase dispersa (las partículas suspendidas) y una fase continua (el medio de suspensión) que surgen por separación de fases. Para calificarlo como un coloide, la mezcla debe ser una que no sedimente o necesite mucho tiempo para sedimentar apreciablemente. En caso de la presente invención, la fase dispersa son los monocristales de NP de cerio individuales (3-5 nm) con las de moléculas
30 de citrato (C) asociadas (recubrimiento de citrato) sobre su superficie, y la fase continua donde partículas se suspenden es un disolvente, preferentemente un disolvente polar (es decir, agua, opcionalmente tamponada) que comprende también las sales de citrato farmacéuticamente aceptables (en exceso).

- La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad
35 de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar de algún modo, uno o más de los síntomas de la enfermedad que se trata. La dosis de compuesto particular administrada según la presente invención será determinada, por supuesto, por las circunstancias particulares que rodean el caso, que incluyen el compuesto administrado, la vía de administración, la afección particular que está tratándose y consideraciones similares.

- 40 El término "farmacéutica o veterinariamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que están dentro del alcance del criterio médico y criterio veterinario, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, humano o cualquier otro animal) sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación significativo, proporcional a
45 una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, excipiente, etc., debe también ser "aceptable", en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica. También debe ser adecuado para su uso en contacto con el tejido u órgano de los seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable. Los vehículos adecuados, excipientes, etc., se pueden encontrar en textos farmacéuticos estándar, e
50 incluyen, a modo de ejemplo, conservantes, aglutinantes, humectantes, emolientes, agentes de tonicidad para ajustar la osmolalidad, quelantes y antioxidantes.

- Como se ha expuesto anteriormente, los inventores proponen un nuevo enfoque terapéutico para trastornos, afecciones o enfermedades del segmento posterior del ojo.

- 55 Según el primer aspecto, se proponen nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I):

NP-(C) (I), donde

NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, y (C) es un recubrimiento de moléculas de citrato adsorbidas sobre las NP, para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de suspensión coloidal acuosa.

En una realización particular del primer aspecto, las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas tienen un diámetro de cristal desde 3 hasta 3.5 nm medido por TEM. Esto significa que las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas tienen un diámetro de cristal seleccionado de 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 nm, como la media del diámetro de cristal de la distribución de tamaños.

El segundo aspecto de la invención se refiere a suspensiones coloidales acuosas que comprenden una sal de citrato farmacéuticamente aceptable y nanopartículas de la fórmula NP-(C) (I),

donde NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, y (C) es citrato adsorbido encima, recubriendo así, las NP; siendo estas suspensiones para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de suspensión coloidal acuosa.

En una realización particular de estas suspensiones coloidales acuosas para el uso según este segundo aspecto, las nanopartículas de óxido de cerio monocristalinas individuales tienen un diámetro de cristal desde 3 hasta 3.5 nm medido por TEM. Esto significa que las nanopartículas de óxido de cerio monocristalinas tienen un diámetro de cristal seleccionado de 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 nm, como la media del diámetro de cristal de la distribución de tamaños.

En otra realización particular de las suspensiones coloidales acuosas, para su uso como se indica, opcionalmente en combinación con cualquiera de las realizaciones anteriores o posteriores, la sal de citrato farmacéuticamente aceptable en la suspensión coloidal se selecciona de una sal de metal alcalino y metal alcalinotérreo, o combinaciones de las mismas. Por lo tanto, en una realización más particular se selecciona de un citrato de litio, citrato de sodio, citrato de potasio, citrato de berilio, citrato de magnesio, citrato de calcio, citrato de estroncio, citrato de bario y citrato de radio farmacéuticamente aceptable. En una realización más particular, es citrato de sodio.

Suspensiones coloidales acuosas para el uso según el segundo aspecto comprenden, en una realización particular, la sal de citrato farmacéuticamente aceptable en una concentración final desde 1.0 hasta 20 mM. Más en particular, desde 2.0 hasta 10 mM.

Los inventores probaron varias concentraciones de las nanopartículas de la fórmula (I) en la suspensión coloidal acuosa en un modelo in vivo. Se podrían ajustar dosis de la vía oftálmica tópica desde 1.0 hasta 250 microgramos de CeO₂ en forma de las nanopartículas de la fórmula (I) por día (microgramos/ojo/día). Estas dosis incluyen dosis muy bajas, pero eficaces. Esto supone la ventaja de efectos secundarios nulos, mientras se mantiene la efectividad, precisamente debido al "comportamiento catalítico" del cerio. Además, la composición farmacéutica final se puede proporcionar a un coste apropiado al consumidor.

Las dosis y concentraciones de las nanopartículas de la fórmula (I) en esta descripción se indican usando la cantidad administrada en microgramos/ojo/día de óxido de cerio (que está en forma de las partículas recubiertas citradas), o la concentración de este óxido de cerio en la composición administrada (en mg/ml o en la molaridad equivalente según el peso molecular de óxido de cerio; 172.11 g/ml). Para la cuantificación del óxido de cerio en cualquiera de sus estados de oxidación existen técnicas espectrofotométricas y de espectroscopía de masas que conocerá el experto en la técnica.

La suspensión coloidal acuosa para el uso según este aspecto de la invención es, en una realización particular, una suspensión coloidal de colirio. Esto significa que la suspensión coloidal que comprende las NP de cerio de la fórmula (I) y la sal de citrato farmacéuticamente aceptable también incluye excipientes y vehículos, tales como sistemas tampón y conservantes. La suspensión coloidal de colirio tópica farmacéutica o veterinaria se debe entender como composiciones oculares tópicamente administrables a la córnea, la esclerótica o al saco conjuntival.

Como se indica, dosis oftálmicas particulares de óxido de cerio administradas en esta forma de nanopartículas de la fórmula (I) en las suspensiones acuosas son desde 1.0 hasta 250.0 microgramos de óxido de cerio/día (es decir, microgramos/ ojo/día). En una realización más particular, las dosis oftálmicas son desde 1.0 hasta 100.0

5 microgramos/día. En otra realización más particular, son desde 2.0 hasta 50.0 microgramos/día, incluso más en particular desde 5.0 hasta 50.0 microgramos/día. Cuando estas suspensiones coloidales acuosas están en forma de colirios se usan, en general, en volúmenes de 30 a 50 microlitros/gota, más en particular 50 microlitros/gota. Estas dosis se pueden aplicar una vez al día o más de una vez al día. También se pueden mantener durante una o varias semanas.

10

Más en particular, la dosis oftálmica de óxido de cerio se administra de una suspensión coloidal acuosa que comprende desde 1.0 hasta 5.0 mg/ml, más en particular desde 2.0 hasta 4.0 mg/ml de óxido de cerio como nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I), estabilizada en el exceso de la sal de citrato farmacéutica. Por lo tanto, en la suspensión coloidal acuosa que comprende las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I), el óxido de cerio está en una concentración seleccionada de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/ml. Estas concentraciones permiten la administración de dosis oftálmicas de óxido de cerio en la forma de nanopartícula que varía, por ejemplo, desde 50 µg hasta 250 µg por gota de 50 µl.

15

En una realización más particular de la suspensión acuosa para el uso previsto, comprende 2 mg/ml de óxido de cerio en forma de las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I), donde el diámetro de cristal de las NP de CeO₂ es de 3.5 nm, medido por TEM, y donde la dosis oftálmica final del óxido de cerio en forma de las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) es desde 1.0 hasta 250 microgramos/ojo/día.

20

25 Muchas son las enfermedades del segmento posterior de ojo. El objetivo de la presente invención es centrarse en cada enfermedad ocular del segmento posterior, en el que existe un estado proinflamatorio inconveniente y estrés oxidativo general, principalmente causado por ROS, que daña las estructuras y empeora la enfermedad, si ya se ha manifestado, de una fase aguda a una fase crónica.

30

Por lo tanto, en una realización particular de la nanopartícula individual monocristalina o la suspensión coloidal acuosa que la comprende, para su uso como se indica, la enfermedad ocular es cualquier trastorno de cualquiera de las estructuras o tejidos del segmento posterior, en el que además de las causas de enfermedad primaria (genéticas, multifactoriales, traumatismo, cáncer, ...), está presente un estado proinflamatorio inapropiado y entorno de estrés oxidativo general. Esto es común a todas las enfermedades enumeradas a continuación.

35

Por lo tanto, en una realización particular del primer y segundo aspectos, la nanopartícula individual monocristalina y la suspensión coloidal acuosa es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una afección o enfermedad del segmento posterior del ojo seleccionada del grupo que consiste en patologías de la retina y/o coroides, patologías del humor vítreo, patología de la esclerótica posterior, patologías de los nervios ópticos, tumores intraoculares y combinaciones de los mismos.

40

En una realización más particular, opcionalmente en combinación con cualquier realización anterior o posterior de la nanopartícula individual monocristalina o de la suspensión coloidal para el uso del primer y segundo aspectos, la enfermedad del segmento posterior del ojo es una patología de la retina y/o patología de la coroides seleccionada de una vasculopatía de la retina, una maculopatía, una distrofia hereditaria del fondo del ojo, una coriorretinopatía idiopática, una retinopatía serosa central, distrofia coroidea generalizada, retinoblastoma y combinaciones de los mismos.

45

En una realización más particular, la nanopartícula individual monocristalina o la suspensión coloidal acuosa que comprende las nanopartículas es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una vasculopatía de la retina seleccionada de retinopatía diabética, papilopatía diabética, retinopatía no diabética, síndrome isquémico ocular, retinopatía hipertensiva, retinopatía por talasemia, síndrome de Coats, síndrome de Eales, retinopatía por radiación, retinopatía solar, retinopatía de Purtscher, vasculopatía coroidea polipoidea (VCP), macroaneurisma de la retina, microaneurisma de la retina, retinopatía leucémica, isquemia de la retina, trastornos crónicos de la retina y combinaciones de los mismos.

50

55 combinaciones de los mismos. En una realización más particular, la nanopartícula individual monocristalina o la suspensión coloidal acuosa es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de retinopatía diabética, incluso más

en particular fases tempranas de la enfermedad cuando las inyecciones intravítreas no son adecuadas debido a sus riesgos asociados.

De hecho, como se ha indicado previamente, las actuales suspensiones coloidales acuosas para el uso previsto con las nanopartículas de la fórmula (I), o estas nanopartículas como tales, son sustitutos reales de las inyecciones intravítreas, lo que las convierte en una realización particular para su uso en fases tempranas de las afecciones o enfermedades enumeradas en esta descripción sin riesgo para el sujeto. Esto es de particular interés para la conocida como forma seca de la degeneración macular senil (DMS) y para la retinopatía diabética.

- 10 Por lo tanto, en otra realización particular del primer aspecto, la nanopartícula individual monocristalina, o la suspensión coloidal acuosa que la comprende, es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una maculopatía seleccionada de degeneración macular senil (DMS), proliferación angiomas retiniana, vasculopatía corioidea polipoidea, malattia leventinese, agujero macular de espesor completo, membrana macular epirretiniana, telangiectasias maculares, maculopatía en celofán o pliegue macular, maculopatía miópica, maculopatía exudativa
- 15 después de trombosis venosa de la retina, neurorretinopatía macular aguda, cistoides maculares, edema macular, estrías angioides de la retina, pliegues corioideos, maculopatía hipotónica y combinaciones de los mismos; y donde la distrofia hereditaria del fondo del ojo se selecciona del grupo que consiste en retinitis pigmentosa; retinitis pigmentosa atípica que incluye síndrome de Usher, retinitis punctata albicans, amaurosis congénita de Leber, distrofia de los conos, distrofia de los bastones, distrofia corneoretiniana cristalina de Bietti, distrofia macular juvenil,
- 20 todos los tipos de distrofia macular, enfermedad de Stargardt o flavimaculatus del fondo, síndrome de Usher y combinaciones de los mismos.

- En otra realización más particular, la nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o la suspensión coloidal acuosa, como se ha descrito anteriormente, es para su uso en la prevención y/o el tratamiento
- 25 de DMS seleccionada de DMS húmeda y DMS seca (atrofia geográfica). En una realización más particular es para su uso en DMS seca. En otra realización particular es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de retinitis pigmentosa.

- En otra realización particular, la nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o la suspensión coloidal acuosa que la comprende, es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una patología del humor vítreo seleccionada del grupo que consiste en hemorragias submaculares y vítreas, hialosis asteroide, desprendimiento vítreo, moscas volantes oculares o miodesopsia, vitreoretinopatías hereditarias, síndrome de Stickler o síndrome de Wagner, y combinaciones de los mismos.

- 35 En también otra realización particular, la nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o la suspensión coloidal acuosa que la comprende, es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una patología del nervio óptico seleccionada del grupo que consiste en atrofia óptica, neuritis óptica, neurorretinitis, neuropatía isquémica, neuropatía óptica hereditaria, ambliopía tóxica o neuropatía nutricional óptica, hipertensión ocular, glaucoma primario, glaucoma secundario, síndrome endotelial iridocorneal asociado a glaucoma, drusas de la cabeza o drusas del disco óptico, papiledema y combinaciones de los mismos. En una realización más particular es para su uso en la prevención y/o el tratamiento de glaucoma primario o glaucoma secundario.

Los inventores han desarrollado suspensiones coloidales oculares particulares para poner en práctica el uso propuesto.

- 45 Por lo tanto, como se ha indicado previamente, otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica o veterinaria que comprende:

- (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I):

NP-(C) (I), donde

- NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X, y (C) es citrato (es decir, moléculas de citrato) adsorbido encima, recubriendo así, las NP; y

(b) una sal de citrato farmacéutica o veterinariamente aceptable, junto con excipientes y/o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables.

En una realización particular de la composición farmacéutica o veterinaria, es una suspensión coloidal ocular tópica farmacéutica o veterinaria que comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I):

10 NP-(C) (I), donde

NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X, y (C) es citrato adsorbido encima, recubriendo así, las NP; y

15

(b) una sal de citrato farmacéutica o veterinariamente aceptable, junto con excipientes y/o vehículos oftálmicos tópicos farmacéutica o veterinariamente aceptables.

En una realización más particular de la suspensión coloidal ocular tópica farmacéutica o veterinaria, comprende nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) que dan una cantidad en la suspensión desde 1.0 mg/ml hasta 5.0 mg/ml de óxido de cerio. Más en particular, comprende nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) que dan una cantidad desde 2.0 mg/ml hasta 4.0 mg/ml de óxido de cerio; incluso más en particular de 2.0 mg/ml.

25 En otra realización particular, la sal de citrato farmacéuticamente aceptable en la composición farmacéutica o veterinaria, que es en particular una suspensión coloidal ocular tópica farmacéutica o veterinaria, está en una concentración final desde 1.0 hasta 20 mM. Más en particular, desde 2.0 hasta 10 mM.

En también otra realización particular de la suspensión coloidal acuosa ocular tópica, opcionalmente en combinación con cualquiera de las realizaciones anteriores o posteriores de estas suspensiones coloidales acuosas oculares tópicas, tiene una viscosidad desde 3000-5500 mPa.

Cuando en esta descripción se indica que una composición tiene una viscosidad particular dentro de un intervalo, está relacionada con la viscosidad dinámica. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas de la invención tienen una viscosidad dinámica desde 3000 hasta 5500 mPa, a temperatura ambiente (es decir, 20 ± 0.1 °C) y presión atmosférica normal. Según la Farmacopea Europea (8.^a edición, 2.2.8 "Viscosidad"), la viscosidad dinámica o el coeficiente de viscosidad η es la fuerza tangencial por unidad de superficie, conocida como la tensión cortante T y expresada en pascuales, necesaria para mover, paralela al plano de deslizamiento, una capa de líquido de 1 metro cuadrado a una velocidad (v) de 1 metro por segundo con respecto a una capa paralela a una distancia (x) de 1 metro. La relación dv/dx es un gradiente de velocidad que proporciona la tasa de cizallamiento D expresada en segundos recíprocos (s^{-1}), de manera que $\eta = T/D$. La unidad de viscosidad dinámica es el pascal segundo (Pa.s).

En también otra realización particular de la suspensión coloidal acuosa ocular tópica, opcionalmente en combinación con cualquiera de las realizaciones anteriores o posteriores de estas suspensiones coloidales acuosas oculares tópicas, comprende nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) (es decir, NP de CeO₂ recubiertas con citrato) dispersadas en un disolvente polar, comprendiendo dicho disolvente agua, una sal de citrato (es decir, citrato de sodio), el agente de viscosidad hidroxipropilmetilcelulosa, los conservantes cloruro de benzalconio y ácido bórico, y el tensoactivo amino hidroxí metil propanodiol.

50 Además, las suspensiones coloidales acuosas (es decir, para colirio) de la presente invención pueden contener otros componentes, tales como fragancias, colorantes y otros componentes conocidos en el estado de la técnica para su uso en formulaciones oculares tópicas.

Las composiciones oculares tópicas de la presente invención se pueden preparar según métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Los excipientes y/o vehículos apropiados, así como cualquier tampón de pH, y sus cantidades, pueden ser fácilmente determinados por los expertos en la técnica según el tipo de formulación que se prepara.

Los componentes en la composición ocular (oftálmica) tópica de la invención incluyen, en algunas realizaciones particulares, tensoactivos, disolventes (disolventes orgánicos e inorgánicos; es decir, agua), agentes de viscosidad, conservantes, aglutinantes, emolientes y antioxidantes, agentes isotonicantes y/o de isoósmosis, y polímeros mucoadhesivos.

Otros agentes de viscosidad son en particular poli(alcohol vinílico), compuestos derivados de celulosa, tales como metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, carbómeros, PEG y mezclas de los mismos. Otros conservantes son en particular, ácido benzoico, ésteres p-hidroxibenzoicos de cadenas de alquilo C1-C4 (es decir, p-benzoato de metilo, etilo, propilo y butilo), clorobutanol, alcohol bencílico y mezclas de los mismos.

Los agentes isotonicantes y/o de isoósmosis son, en particular, cloruro sódico, dextrosa, trehalosa, manitol, aminoácidos y mezclas de los mismos.

Los excipientes usados como tampones de pH son los que permiten un pH desde 4.5 hasta 9.0, más en particular desde 4.5 hasta 8.5, incluso más en particular desde 6.0 hasta 8.2, y preferentemente desde 7.0 hasta 8.1, incluso más preferentemente desde 7.5 hasta 8.0. Los ejemplos de tampones de pH incluyen sales de citrato (tampón ácido cítrico/citrato), que en este caso constituye la suspensión coloidal acuosa, sales de fosfato (tampón ácido fosfórico/fosfato), sales de borato (tampón ácido bórico/borato) y mezclas de los mismos, siendo todas las sales farmacéuticamente aceptables. Los tampones de pH pueden comprender además aminoácidos, en particular arginina, lisina, y un compuesto derivado de amina seleccionado de metilglucamina y trometamol, y mezclas de los mismos.

La composición farmacéutica o veterinaria que comprende: (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I); y (b) una sal de citrato farmacéutica o veterinariamente aceptable, junto con excipientes y/o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables, está en una realización particular en una forma seleccionada de disoluciones, cremas, lociones, ungüentos, emulsiones y suspensiones. Estas composiciones particulares comprenden, en una realización incluso más particular, excipientes y/o vehículos tópicos farmacéutica o veterinariamente aceptables. Más en particular, estas composiciones tópicas, en cualquiera de las formas, también están concebidas para aplicación sobre la piel y las mucosas.

En toda la descripción y reivindicaciones, la palabra "comprende" y variaciones de la palabra no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Además, la palabra "comprende" engloba el caso de "que consiste en". Objetos adicionales, ventajas y características de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de la descripción o pueden ser aprendidos por la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no pretenden ser limitantes de la presente invención, que queda definida en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de cerio y suspensión coloidal en colirio.

Materiales y métodos:

Síntesis de NP de CeO₂-(C) (también llamadas NP-(C)) de la fórmula (I):

Se añadió 50 ml de disolución de hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) 50 mM a 50 ml de una disolución preformada que contenía 20 mM de CeNO₃ y 40 mM de citrato de sodio (CS) en una botella de vidrio de 250 ml donde el complejo Ce-CS se forma espontáneamente. La mezcla de reacción se dejó entonces con agitación a temperatura ambiente durante la noche. Durante este tiempo, el color de la disolución cambió de incoloro a marrón y finalmente a amarillo, que indicó la oxidación de Ce³⁺ en Ce⁴⁺ y la formación de complejos de Ce⁴⁺-citrato. Después, la mezcla de reacción se añadió a un matraz redondo de tres bocas y se dejó a reflujo a 100 °C durante 4 h para romper los complejos Ce-CS y permitir la mineralización del óxido de Ce. Durante este tiempo, el color de la disolución cambió de amarillo a amarillo pálido. Esta disolución transparente amarilla pálida es conforme con el aspecto típico de NP de CeO₂ bien dispersas. No se observó precipitación. Por lo tanto, se obtuvo una suspensión coloidal acuosa que comprendía NP de CeO₂ y citrato adsorbido encima (o recubriendo) estas NP de CeO₂. Las nanopartículas fueron nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) (NP-(C)), como

se reveló por TEM (véase a continuación en la sección de Resultados), con coloides de NP de CeO₂ de 3.0-3.5 nm de diámetro estables en agua que comprenden la sal de citrato, que es parte del citrato asociado o adsorbido sobre (es decir, que recubre) el monocristal.

5 Formulación en colirio:

Se usó una disolución de Methocel® 20% (Omnivision AG, Neuhausen, Suiza) para preparar los colirios basados en NP de CeO₂. 1 ml de Methocel® contiene, según las especificaciones del fabricante, 20 mg de hidroxipropilmetilcelulosa, 0.1 mg de cloruro de benzalconio, ácido bórico, amino hidroxil metil propanodiol y agua.

- 10 Tiene una viscosidad de 3000-5500 mPa.s. Para preparar los colirios basados en NP de CeO₂, se diluyó Methocel® 20% cuatro veces en H₂O destilada (por lo tanto, la hidroxipropil metilcelulosa estuvo al 5 % de peso) y se dispersaron NP de CeO₂ recubiertas de citrato la fórmula (I) en esta disolución a una concentración final de 2 mg/ml de CeO₂ con agitación vigorosa. En estas condiciones, la formulación en colirio preparada fue capaz de pipetearse y, por lo tanto, no se pudieron inducir errores en la dosis administrada por la viscosidad de la disolución.

- 15 También se pudieron preparar formulaciones en colirio similares con ácido hialurónico.

Cultivo celular:

- 20 Se mantuvieron células ARPE19 (comercialmente disponibles) en mezcla de medio Eagle modificado por Dulbecco/nutriente F-12 (DMEM/F12), complementado con 10 % de suero bovino fetal (FBS) y 1 % de penicilina-estreptomicina, en una estufa de incubación humidificada a 37 °C y 5 % de CO₂. Para todos los experimentos, se usaron células entre los pases 6 y 12.

25 Ensayo de viabilidad:

- Se sembraron células ARPE19 (comercialmente disponibles de ATCC) en placas de 24 pocillos (Sarstedt) a una densidad de 100.000 células/ml en medio completo (DMEMF12 + 10 % de FBS + antibiótico) y se incubaron durante 36 h. Se añadieron nanopartículas de óxido de cerio de la fórmula (I) a concentraciones finales de óxido de cerio de 10 nM, 50 nM, 100 nM y 500 nM (0.0017, 0.0086, 0.0172 y 0.0860 µg/ml) en medio recién preparado y las células se incubaron durante 24 o 48 h más. Se añadieron 100 µl de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) a cada pocillo y las células se incubaron 4 h. Después de eso, el medio se retiró y se añadieron 300 µl de DMSO para solubilizar los cristales de formazano. Se midió la densidad óptica de cada pocillo a 570 nm usando un espectrofotómetro de microplaca. Los datos se normalizaron a células sin tratar.

- 35 Mediciones de niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS):

- Se cuantificaron los niveles de ROS intracelulares usando la sonda H₂DCFDA. En resumen, se sembraron células ARPE19 en placas de 24 pocillos a una densidad de 100.000 células/ml en medio completo y se incubaron durante 36 h. Se añadieron nanopartículas de óxido de cerio de la fórmula (I) a concentraciones finales de óxido de cerio de 1 nM, 5 nM, 10 nM, 20 nM, 50 nM, 100 nM y 500 nM (desde 0.00017 µg/ml hasta 0.086 µg/ml) en medio recién preparado y se incubaron durante 24 h. Las células se lavaron con PBS 1X, se añadió H₂DCFDA en medio recién preparado a una concentración final de 10 µM y se incubaron durante 30 min. Las células se lavaron nuevamente con PBS 1X y se expusieron a H₂O₂ (peróxido de hidrógeno), antimicina A o tBH (hidroperóxido de terc-butilo) durante 1 h. Entonces se incubaron las células con tampón de lisis durante 5 min a TA, se transfirieron a una placa negra de 96 pocillos (VWR) y se leyeron inmediatamente en un espectrofluorímetro (longitud de onda de excitación. 485/20; longitud de onda de emisión 528/20). Los niveles de ROS se expresaron como relación de intensidad media de muestra/ intensidad media de células de control.

50 Animales:

- Se usaron ratones macho C57BL/6N de 8 semanas de edad comprados en Charles River (Francia) en experimentos de biodistribución de NP de CeO₂ de la fórmula (I). Los ratones se mantuvieron en las instalaciones de CELLEX en condiciones habituales cíclicas de luz (12 h de luz /12 h de oscuridad), acceso libre a agua filtrada y comida a voluntad. Todos los experimentos se realizaron según la declaración de la Association for Research in Vision and Ophthalmology para el uso de animales en investigación de visión y oftálmica y fueron autorizados por el Comité de

Ética de Experimentación Animal del Valle de Hebrón Instituto de Investigación (CEEV-VHIR) y las autoridades gubernamentales locales.

Administración intravítrea y tópica:

5

Para la administración intravítrea, se anestesió ratones con 2 % de isoflurano inhalado (Aerrane®, Baxter laboratories) en una cámara de inducción y se dilataron sus pupilas con una gota de tropicamida (Alcon Laboratories). Cada animal se puso después sobre una almohadilla térmica con una máscara anestésica. Bajo un microscopio quirúrgico, se insertó una aguja biselada de calibre 36 (Hamilton) en la esclerótica a aproximadamente 10 mm desde el limbo superior y se administró 1 µl de la disolución correspondiente (2 mg/ml) (2 µg de CeO₂ total). El fondo del ojo se visualizó justo después en una plataforma Micron III (Phoenix Research Lab) para corroborar la inyección correcta.

Para la administración tópica, se anestesió ligeramente a los ratones con 2 % de isoflurano inhalado para garantizar una correcta absorción y se pusieron 5 µl (10 µg CeO₂ atal) del tratamiento correspondiente (formulación de colirio de NP de CeO₂ de la fórmula (I) que dan 2 mg/ml de óxido de cerio en la formulación) sobre la superficie de la córnea de cada ojo con una micropipeta. Los ratones recibieron el mismo tratamiento en ambos ojos para evitar la contaminación cruzada.

20 Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS):

Los ratones se sacrificaron con CO₂ inhalado en momentos de tiempo designados después de la inyección. Se enuclearon los ojos y se fijaron en 4 % de PFA (paraformaldehído – disuelto en 1X PBS) durante 30 min antes de la disección bajo un estereomicroscopio. Se diseccionaron diferentes partes oculares que incluyen el polo anterior (córnea e iris), el cristalino, la retina, el polo posterior (epitelio pigmentario de la retina, coroides y esclerótica) y nervio óptico y se almacenaron a -80 °C hasta la digestión. También se extirparon el cerebro y el hígado de cada animal, se liofilizaron y se almacenaron a 80 °C. Los órganos se digirieron en HNO₃ concentrado en un horno microondas de digestión de 1900 W (Milestone, ETHOS EASY). Las digestiones resultantes se diluyeron con HNO₃ 1 % (v/v) antes de ser inyectadas en el instrumento de ICP-MS (Agilent, 7500ce).

30

Histología:

En los momentos de tiempo designados después de la inyección, se anestesió a los ratones con 1 ml de ketamina/0.3 ml de xilazina y se perfundieron transcárdicamente con 4 % de PFA. Se enuclearon los ojos y se fijaron en 4 % de PFA durante 4 h a TA y se incorporaron en bloques de parafina. Se cortaron secciones de ojo de 3 µm en un micrótopo y se almacenaron a 4 °C.

Para la evaluación histológica, se desparafinaron portaobjetos en xileno y se rehidrataron en etanol a concentraciones decrecientes. Las secciones se fijaron en disolución helada de metanol/ácido acético (95:5 v/v) durante 1 min. Se llevó a cabo la tinción con hematoxilina y eosina con un protocolo habitual y los portaobjetos se montaron con medio de montaje DPX (VWR) y se visualizaron en el microscopio.

Inmunofluorescencia / TUNEL:

45 Se desparafinaron portaobjetos, se rehidrataron y se fijaron como se ha descrito anteriormente. Después de la fijación, los portaobjetos se lavaron tres veces con PBS 1X y se realizó la recuperación de antígeno sumergiéndolos en tampón citrato de sodio a pH 6 y calentándolos en una olla a presión durante 4 min. Se bloquearon muestras con una disolución que contenía 1 % (v/v) de BSA, 3 % (v/v) de NGS y 0.5 % (v/v) de Tween-20 en PBS durante 1 h a temperatura ambiente. Se incubaron anticuerpos primarios durante la noche a 4 °C. Al día siguiente, se lavaron las muestras con PBS y los anticuerpos secundarios se incubaron 1 h a temperatura ambiente en la oscuridad. Se montaron muestras con Fluoroshield con DAPI y se visualizaron en el microscopio confocal (FluoView ASW 1.4; Olympus). Los anticuerpos primarios usados fueron anti-GFAP de conejo (ab7260, Abcam) y anti-8-OHdG de ratón (ab62623, Abcam). Los anticuerpos secundarios fueron Alexa Fluor 488 anti-conejo (A11008, Thermo) y Alexa Fluor anti-ratón (A11004, Thermo). Para la tinción TUNEL, se desparafinaron los portaobjetos como se ha explicado anteriormente y se tñieron con el kit TUNEL, siguiendo las instrucciones del fabricante (ensayo de TUNEL Click-It Plus, Invitrogen, Thermo).

55

Expresión génica (extracción de ARN, RT y qPCR):

- Se sembraron células ARPE-19 en una placa de 12 pocillos a una densidad de 100.000 células/ml. Después de 36 h, se añadieron nanopartículas de óxido de cerio a concentraciones finales de 50 y 500 nM en medio recién
 5 preparado y las células se incubaron durante la noche. Las células se expusieron a tBH durante 4 h para inducir cambios en la expresión génica. Entonces, se lavaron con PBS 1X y se añadió Tri Reagent (Sigma) en cada pocillo antes de raspar las células. Se extrajo ARN usando el protocolo del fabricante. En resumen, se usó un microgramo de ARN pretratado con DNasa I (Life Technologies, Thermo) para sintetizar el ADNc de primera cadena usando el kit de retrotranscripción de alta capacidad (Applied Biosystems, Thermo) con cebadores oligo(dT) (Thermo). Se
 10 realizó PCR cuantitativa en tiempo real con LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche). Los genes analizados fueron SOD2 y Nrf2. La expresión génica se normalizó a GAPDH. Los animales se sacrificaron por inhalación de CO₂ y los ojos se enuclearon inmediatamente. Los ojos se diseccionaron en un estereomicroscopio y se congelaron en nitrógeno líquido la retina neural, EPR, la coroides y la esclerótica. Se extrajo el ARN del tejido homogeneizado usando el protocolo habitual de Tri Reagent. La síntesis de ADNc y la qPCR se realizaron como se ha explicado
 15 anteriormente. Los genes analizados fueron GFAP, SOD2 y Nrf2. La expresión génica se normalizó a B2M.

Ensayo de brote de coroides (modelo ex vivo de angiogénesis microvascular):

- Se enuclearon inmediatamente ojos murinos de C57BL/6N y se mantuvieron en medio helado antes de la disección.
 20 Después de retirar la córnea y el cristalino de la parte anterior del ojo, se separó el complejo coroides-esclerótica central o periférico de la retina y se cortó en trozos de aproximadamente ~2 mm × 1 mm (ratas) o 1 mm × 1 mm (ratones). Se aislaron fragmentos de la coroides + la esclerótica (aquí denominado "coroides") sin retirada de epitelio pigmentario de la retina (EPR) desprendiendo el EPR con pinzas y se puso en Matrigel™ reducido en factor de crecimiento (BD Biosciences, Cat. 354230) sembrado en placas de 24 pocillos. Se usó 30 µl de Matrigel® para
 25 recubrir el fondo de las placas de 24 pocillos sin tocar el borde del pocillo. El espesor de Matrigel® fue aproximadamente 0.4 mm. Después de sembrar la coroides, las placas se incubaron en una estufa de incubación de cultivo celular a 37 °C sin medio durante 10 minutos con el fin de que solidificara Matrigel™. Entonces se añadieron 500 µl de medio EBM-2/EGM (Lonza) a cada pocillo y se incubaron a 37 °C con 5 % de CO₂ durante 48 h antes de cualquier tratamiento. Entonces, las células se trataron con diferentes concentraciones de NP de CeO₂-(C) de la
 30 fórmula (I) desde 0.05 hasta 500 µM de óxido de cerio durante 7 días. El medio se cambió cada 48 h. Se hicieron fotografías con un microscopio Olympus. La longitud de los microvasos se cuantificó usando el software ImageJ.

Modelo de ratón de neovascularización coroidea inducida por láser (LI-CNV):

- El modelo de ratón de neovascularización coroidea inducida por láser (LI-CNV) ha sido un modelo base crucial para
 35 DMS neovascular. Para desarrollar un modelo de ratón con características reproducibles de LI-CNV, retinas de ratones en la semana posnatal 6-8 (bajo sedación) se expusieron a una intensidad de láser de argón de 430 nm (4 puntos, 100 ms a 250 mW, área de 50 µm). Entonces, un grupo se trató con colirios que contenían NP de CeO₂ de la fórmula (I) (5 µl/gota a 2 mg/ml de óxido de cerio en forma de NP de CeO₂ de la fórmula (I)) y el otro grupo se
 40 trató con vehículo, durante 7 días. Se monitorizó la progresión de las lesiones en el área exudativa usando tomografía de coherencia óptica, obtención de imágenes del fondo y angiografía de fluorescencia y se comparó con el grupo no tratado in vivo. Se enuclearon los ojos y se aisló el polo posterior en PBS helado. Se aislaron las capas de coroides, esclerótica y EPR de las retinas y se realizó una inmunotinción en conformación de montaje plano usando Iba-1 (Dako) e Isolectin-B4. Se cuantificaron las áreas de lesiones usando el software ImageJ.
 45

Resultados

Caracterización de nanopartículas de óxido de cerio por TEM:

- Se prepararon NP de cerio de la fórmula (I) como se indica anteriormente en Materiales y métodos. La imagen de
 50 TEM reveló que se produjeron coloides de NP de cerio de 3.0-3.5 nm estables en agua a concentraciones de 1 mg/ml.

Las nanopartículas de óxido de cerio no son tóxicas y reducen los niveles de ROS intracelulares en células ARPE19:

- Después de la síntesis y la caracterización de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I), se evaluó su seguridad en células
 55 ARPE19 con un ensayo MTT. Las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) incubadas durante 24 y 48 h no mostraron una

reducción en la viabilidad celular, en ninguna de las concentraciones probadas. Para probar la capacidad de las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) para secuestrar ROS intracelulares en células ARPE19, se pretrataron las células con las nanopartículas durante 24 h, se retiró el sobrenadante y se añadió medio nuevo antes de exponerlas a diferentes agentes oxidantes durante 1 h. Específicamente, se usaron H₂O₂, tBH y antimicina A (AA) para inducir una

5 respuesta de estrés oxidativo en células ARPE19 a través de diferentes vías. En todos los casos, se observó una disminución dependiente de la dosis de los niveles de ROS en células tratadas con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) (datos no mostrados). Las imágenes de microscopio óptico de portaobjetos de la capa de células ganglionares (GCL) en el caso de exposición a tBH mostró los mismos resultados con una disminución de señal fluorescente (8-OHdG, intensidad de fluorescencia en unidades arbitrarias (u.a.) (FIG. 3(A)), que indica la presencia de radicales

10 libres y su disminución a medida que aumenta la concentración de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I). Una vez se observó la disminución de ROS, la pregunta fue si esto modificaría la expresión de genes relacionada con el estrés oxidativo. Por lo tanto, la capacidad antioxidante de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) en estas condiciones también se evaluó con PCR cuantitativa en tiempo real. Se pretrataron células ARPE19 con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) durante 24 h antes de inducir el estrés oxidativo con tBH durante 4 h. Aunque el tratamiento con NP de CeO₂-(C) de

15 la fórmula (I) solo no produjo cambios en la expresión del superóxido dismutasa-2 (SOD2), las células tratadas con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) y con inducción de estrés oxidativo experimentaron un mayor aumento de expresión de SOD2 que las células incubadas con solo tBH (FIG. 3(B)). El tratamiento con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) también indujo la regulación por incremento de expresión de la expresión del factor de transcripción Nrf2 (FIG. 3(C)). Nrf2 es conocido como el principal factor de transcripción antioxidante, capaz de proteger las células del

20 estrés oxidativo induciendo la expresión de enzimas neutralizantes de ROS (Retinal degenerative diseases, libro).

Administración in vivo. Se detecta cerio en retinas de ratones 24 h después de la administración tópica:

Antes de explorar los beneficiosos efectos terapéuticos de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I), se trataron dos

25 cuestiones. Si las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) llegaban a la región de interés después de la colada por goteo y si las nanopartículas se translocan en el interior del hospedador. Para esto, se prepararon administración intravítrea frente a tópica y se analizaron los contenidos de Ce por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) en función del tiempo y el órgano.

30 Se hicieron ensayos de biodistribución después de la inyección intravítrea, y se detectó cerio en la retina varias semanas después. El cerio también fue capaz de llegar a la retina (y a todas las estructuras del segmento posterior) después de una administración tópica en un modelo de ratón de DMS seca.

El potencial de las nanopartículas de óxido de cerio como terapia para la degeneración de retina se ha probado in

35 vivo en los modelos de ratón tubby y vldlr^{-/-} y en el modelo de rata dañada por la luz, pero en todos los casos, por una administración intravítrea. Dadas las complicaciones asociadas que presenta esta vía de administración, una administración tópica se alza como mejor opción.

Para esclarecer si el cerio podría llegar a la retina y el polo posterior del ojo después de una administración tópica,

40 se realizó un ensayo de biodistribución en ratones C57BL/6N que recibieron NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) a tres concentraciones diferentes de óxido de cerio (0.1 mM; 1 mM y 10 mM (0.017 mg/ml, 0.172 mg/mg y 1.72 mg/ml) por administración intravítrea o tópica. Los ratones se sacrificaron 24 h después de la administración y los ojos se enuclearon y se diseccionaron para cuantificar la cantidad de cerio presente en las diferentes partes del ojo.

45 El 56.8 % de todo el cerio administrado se detectó en los ojos de ratones que recibieron administración intravítrea frente a un 8.2 % en los que recibieron cerio por vía tópica. Con la administración tópica, el cerio se distribuyó homogéneamente en las diferentes partes del ojo, detectándose un 2.1 % en la retina. En ratones que recibieron administración intravítrea, el cerio fue retenido preferentemente en la retina (21.6 %), aunque estuvo presente en todos los componentes del ojo. El polo anterior retuvo un 14 % de todo el cerio administrado en la cavidad vítrea. De

50 hecho, la distribución es más homogénea por colirios, lo que evita dañar el ojo con la punción. En principio el humor vítreo es un gel altamente hidrófilo con 10 nm de porosidad y cargado negativamente. Por lo tanto, se necesita que las nanopartículas sean altamente solubles (ligeras y cargadas), de tamaño pequeño y estrictamente sin agregación para la administración oftalmológica.

55 La Tabla 1 a continuación muestra los resultados del ensayo de distribución de una concentración de NP de CeO₂-(C) coloidales de la fórmula (I) a 10 mM (2 mg/ml de óxido de cerio) en la suspensión acuosa con citrato:

Tabla 1: Distribución de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) (porcentaje %), detectada por ICP-MS en diferentes partes de ojo 24 h después de la administración intravítrea o tópica.

	Administración	Polo ant.	Cristalino	Retina	Polo post.	Total
24 h	Inyección IV (2µg)	14%	9,8%	21,6%	11,4%	56,8%
	Tópica (8,6µg)	1,7%	2,3%	2,1%	2,1%	8,2%

5

A pesar de las diferencias en la cantidad total de cerio detectada con las dos vías de administración, la concentración alcanzada en las diferentes partes con administración tópica fue aproximadamente la mitad de la alcanzada con la inyección intravítrea. Los datos se proporcionan en la FIG. 1, donde la concentración de cerio (ng/mg de tejido), detectada por ICP-MS, se representa para las diferentes partes del ojo después de la administración intravítrea o tópica. No se detectaron cantidades en hígado y cerebro, y no se observó toxicidad sistémica de las composiciones probadas en los dos modos de administración.

El cerio no se acumula excesivamente después de una administración tópica diaria de una semana:

15

La concentración de cerio que llega a la retina después de una administración tópica es inferior a con una inyección intravítrea. Por lo tanto, una administración tópica necesitará una administración sostenida para alcanzar la misma concentración de cerio en la retina. Se administró diariamente las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) a una concentración de óxido de cerio de 10 mM durante una semana. Después de una semana, la concentración de cerio en la retina fue la misma que la lograda con una única inyección intravítrea. Estos datos se representan en el diagrama de barras de la FIG. 2. En la FIG. 2 se representa la concentración de cerio (ng/mg de tejido), detectada por ICP-MS, para las diferentes partes de ojo. La columna izquierda en cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 24 h después de la administración tópica (8.6 µg). La columna en el centro de cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 7 días (7 d) después de una administración tópica diaria (60.6 µg después de 7 días). La barra derecha de cada conjunto de barras indica la cantidad detectada 24 h después de la administración intravítrea (2 µg). Polo ant. significa el polo anterior que incluye la córnea y el iris. Polo post. significa el polo posterior o segmento de ojo que incluye el epitelio pigmentario de la retina, la esclerótica y la coroides).

El cerio se acumuló en todas las partes del ojo a una mayor concentración que con inyección intravítrea (donde la muestra siguió en el punto de inyección probablemente debido a consecuencia de la inflamación de la punción), preferentemente en el polo posterior. En general, la cantidad de cerio detectada después de una administración de una semana fue mucho menor a todo el cerio administrado (6.48 ± 1.5 % del cerio total administrado; n=4), que indica una elevada tasa de depuración.

Por lo tanto, se puede llegar a la conclusión de que las suspensiones coloidales acuosas de nanopartículas de la fórmula (I) administradas por vía tópica sobre la superficie del ojo (es decir, la córnea, la conjuntiva, etc.) podrían llegar sorprendentemente a las diferentes estructuras del segmento posterior en un modo eficaz. La administración repetida por esta vía más agradable es un buen sustituto de la peligrosa y dolorosa inyección intravítrea, no siendo la segunda aplicable en fases tempranas de las enfermedades o afecciones del segmento posterior (por ejemplo, en la forma seca de DMS). Ventajosamente, las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) no se acumularon ni en el hígado ni en el cerebro en ninguna concentración tóxica.

La administración tópica sostenida de nanopartículas de óxido de cerio no provoca citotoxicidad (administración de una semana):

45

También se evaluó el efecto de la acumulación del cerio con evaluación histológica. Se evaluó la arquitectura de la retina y el espesor de las diferentes capas. No se observaron cambios en los ratones que recibieron NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) en comparación con los que recibieron vehículo. El espesor de todas las capas también se mantuvo entre grupos. La evaluación del efecto del tratamiento con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) en la muerte celular se realizó por tinción TUNEL. Se evaluaron secciones de retina, observándose algunas células positivas en la capa nuclear externa (ONL) y la capa nuclear interna (INL), pero sin diferencias entre los ojos que recibieron NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) o vehículo (datos no mostrados).

50

El tratamiento tópico diario de una semana NP de CeO₂ no produce gliosis reactiva:

Una amplia variedad de tensiones fisiológicas y traumatismos pueden inducir que la glía de Müller experimente gliosis reactiva, que contribuye a la degeneración de la retina. Para evaluar el impacto de la acumulación de NP de CeO₂-® de la fórmula (I) sobre el aumento de la gliosis reactiva, se analizó la expresión de GFAP. La administración de NP de CeO₂-(C) no aumentó la expresión de GFAP en retinas naturales, observada con análisis de inmunofluorescencia. La cuantificación de su expresión con PCR en tiempo real tampoco mostró diferencias en su expresión (datos no mostrados).

10 El tratamiento con NP de CeO₂ inhibe la angiogénesis aberrante in vitro e in vivo:

Se sabe que la inflamación puede promover la angiogénesis aberrante o insuficiente. Los inventores realizaron un ensayo para determinar si el tratamiento con NP de CeO₂ podría inhibir cualquier forma aberrante de angiogénesis, disminuyendo probablemente la inflamación, a la vez que se promueve, si la hubiese, una angiogénesis adecuada.

15 Se examinaron los efectos de las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) para evitar la angiogénesis aberrante usando el ensayo de brote de coroides de ratón. Las coroides tratadas con concentraciones elevadas de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) mostraron una reducción en la longitud de microvasos recién formados en comparación con las coroides tratadas con VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular). Aunque el VEGF promueve el crecimiento de la microvasculatura, las NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) inhibieron el brote de coroides de un modo dependiente de la dosis y mejor que el control (-VEGF). Los datos se representan en la FIG. 4, donde se ilustra la longitud de microvasos en microgramos para cada concentración y compuesto probado. Las imágenes de microscopio Olympus también permiten visualizar la reducción en la angiogénesis aberrante por NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I).

25 El estudio in vivo de inhibición de la actividad angiogénica aberrante de NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) se realizó en el modelo de ratón de neovascularización coroidea inducida por láser. El tratamiento ocular con NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I) durante 7 días permitió observar áreas de lesiones neovasculares significativamente reducidas producidas por el láser, así como la microglía activada reclutada por la lesión. Los datos de área lesionada se representan en la FIG. 5.

30

Ejemplo 2. Análisis con humor vítreo sintético

Los inventores también han llevado a cabo un ensayo con un humor vítreo sintético para observar la distribución de las nanopartículas de la invención (NP de CeO₂-(C)) a lo largo del volumen de líquido. Esta distribución se comparó con la de otra suspensión coloidal que incluye partículas de cerio del estado de la técnica estabilizadas con TMAOH (NP de CeO₂-TMAOH). Estas fueron después las obtenidas por precipitación básica de sal de nitrato de cerio en agua, y estuvieron en forma de agregados de nanopartículas desde 30 nm hasta 100 nm (incluyendo muchos más agregados aproximadamente 100 nm que inferiores a este tamaño).

40 El humor vítreo sintético (añadido en un tubo) no fue tan denso como el humor vítreo de mamíferos, pero sirvió con el fin de un primer enfoque para observar cómo las diferentes nanopartículas de cerio (las de la invención y otras con agregados) difunden a lo largo de los diferentes niveles de dicho humor vítreo.

Los resultados se pueden observar en la FIG. 6, donde el porcentaje de concentración de NP de CeO₂ distribuidas a lo largo de los diferentes niveles (superior S, medio M e inferior I) del humor vítreo sintético se muestran en barras. Las NP de CeO₂ se añadieron al nivel superior (como se muestra en la figura).

50 Ambos tipos de nanopartículas fueron capaces de difundir a lo largo del humor vítreo, pero esto fue debido a la baja densidad del líquido previamente mencionada. El principal resultado de este ensayo es que con las nanopartículas de la invención (NP de CeO₂-(C) de la fórmula (I)) se logró una distribución más homogénea, y además, un mayor porcentaje de nanopartículas totales llegan al nivel más bajo. Estas ligeras diferencias en el comportamiento de las nanopartículas son de gran relevancia en las afecciones médicas debido a que se traducen en una mejora en la terapia. Eficazmente, el efecto terapéutico no dependerá de la distribución de las nanopartículas. Con un humor vítreo sintético más denso que el probado, y más parecido al de los mamíferos, es probable que aumenten las diferencias en la distribución entre las nanopartículas de la fórmula (I) y las del estado de la técnica (es decir, NP de CeO₂-TMAOH).

Referencias citadas en la solicitud

- 5 - Awwad et al., "Principles of Pharmacology in the Eye", British Journal of Pharmacology-2017, vol n.º 174, número 23, pp.: 4205-4223.
- Urtti A et al., "Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery". Adv. Drug. Deliv. Rev. 2006, vol. 58, pp. 1131-1135.
- 10 - Simó et al. en nombre del Consorcio europeo para el tratamiento precoz de la retinopatía diabética (EUROCONDOR). "Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications", Br. J. Ophthalmol. – 2012, vol. 96, pp. 1285-1290
- 15 - US7347987B2
- US20111111007
- Maccarone et al., 2019. Ophthalmic Applications of Cerium Oxide Nanoparticles. Nanoceria in ophthalmology.
- 20 - Badia et al., "First steps in the development of topical CeO2NPs treatment to fight dry AMD progression using the DKOrd8 mouse model", IOVS-2018, vol. n.º 59(9), Resumen 58
- Tisi et al., "Nanoceria particles are an eligible candidate to prevent age-related macular degeneration by inhibiting retinal pigment epithelium cell death and autophagy alterations", Cells-2020, vol. n.º. 9, p. 1617
- 25 - US2010221344
- WO2018064357
- 30 - WO2017174437
- Hancock et al., "The characterization of purified citrate-coated cerium oxide nanoparticles prepared via hydrothermal synthesis", Applied Surface Sciences-2020, 147681

REIVINDICACIONES

1. Una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I):

5 NP-(C) (I), donde

NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3.0 hasta 5.0 nm, medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X, y (C) es un recubrimiento de moléculas de citrato adsorbidas sobre las NP,

10

para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I).

15

2. Las nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) para el uso según la reivindicación 1, donde el diámetro de cristal es desde 3.0 hasta 3.5 nm, medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X.

20

3.- Una suspensión coloidal acuosa que comprende nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, y una sal de citrato farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad del segmento posterior del ojo, donde el tratamiento comprende la administración de una dosis oftálmica tópica de suspensión coloidal acuosa.

25

4. La suspensión coloidal acuosa para el uso según la reivindicación 3, donde la sal de citrato farmacéuticamente aceptable se selecciona de una sal de metal alcalino y alcalinotérreo.

30

5. La suspensión coloidal acuosa para el uso según la reivindicación 4, donde la sal de citrato farmacéuticamente aceptable es citrato de sodio.

35

6. La suspensión coloidal acuosa para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, donde la dosis oftálmica tópica es desde 1 microgramo de óxido de cerio/día hasta 250 microgramos de óxido de cerio/día por ojo.

40

7.- La suspensión coloidal acuosa para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, que es una suspensión coloidal de colirio.

45

8. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la afección o enfermedad del segmento posterior del ojo se selecciona del grupo que consiste en patologías de la retina y/o la coroides, patologías del humor vítreo, patología de la esclerótica posterior, tumores intraoculares, patologías del nervio óptico y combinaciones de los mismos.

50

9. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la enfermedad del segmento posterior del ojo es una patología de la retina y/o patología de la coroides seleccionada de una vasculopatía de la retina, una maculopatía, una distrofia hereditaria del fondo del ojo, una coriorretinopatía idiopática, una retinopatía serosa central, distrofia coroidea generalizada y combinaciones de las mismas.

55

10. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según la reivindicación 9, donde la vasculopatía de la retina se selecciona de retinopatía diabética, papilopatía diabética, retinopatía no diabética, síndrome isquémico ocular, retinopatía hipertensiva, retinopatía por talasemia, síndrome de Coats, síndrome de Eales, retinopatía por radiación, retinopatía solar, retinopatía de Purtscher, vasculopatía coroidea polipoidea (VCP), macroaneurisma de la retina, microaneurisma de la retina, retinopatía leucémica, isquemia de la retina, trastornos crónicos de la retina y combinaciones de los mismos.

60

11. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según la reivindicación 9, donde la maculopatía se selecciona de

degeneración macular senil (DMS), DMS hemorrágica, proliferación angiomatosa retiniana, vasculopatía coroidea polipoidea, malattia leventinese, agujero macular de espesor completo, membrana macular epirretiniana, telangiectasias maculares, maculopatía en celofán o pliegue macular, maculopatía miópica, maculopatía exudativa después de trombosis venosa de la retina, neurorretinopatía macular aguda, cistoides maculares, edema macular, estrías angioides de la retina, pliegues coroides, maculopatía hipotónica y combinaciones de los mismos; y donde la distrofia hereditaria del fondo del ojo se selecciona del grupo que consiste en retinitis pigmentosa; retinitis pigmentosa atípica que incluye síndrome de Usher, retinitis punctata albicans, amaurosis congénita de Leber, distrofia de los conos, distrofia de los bastones, distrofia corneorretiniana cristalina de Bietti, distrofia macular juvenil, todos los tipos de distrofia macular, enfermedad de Stargardt o flavimaculatus del fondo, síndrome de Usher y combinaciones de los mismos.

12. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la enfermedad del segmento posterior del ojo es una patología del humor vítreo seleccionada del grupo que consiste en hemorragias submaculares y vítreas, hialosis asteroide, desprendimiento vítreo, moscas volantes oculares o miodesopsia, vitreorretinopatías hereditarias, síndrome de Stickler o síndrome de Wagner, y combinaciones de los mismos.

13. La nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina de la fórmula (I), o una suspensión coloidal acuosa que comprende dicha nanopartícula, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la enfermedad del segmento posterior del ojo es una patología del nervio óptico seleccionada del grupo que consiste en atrofia óptica, neuritis óptica, neurorretinitis, neuropatía isquémica, neuropatía óptica hereditaria, ambliopía tóxica o neuropatía nutricional óptica, hipertensión ocular, glaucoma primario, glaucoma secundario, síndrome endotelial iridocorneal asociado a glaucoma, drusas de la cabeza o drusas del disco óptico, papiledema y combinaciones de los mismos.

14. Una composición farmacéutica o veterinaria que comprende:

(a) nanopartículas de óxido de cerio individuales monocristalinas de la fórmula (I):

NP-(C) (I), donde

NP es una nanopartícula de óxido de cerio individual monocristalina con un diámetro de cristal desde 3 hasta 5 nm, medido con microscopía electrónica de transmisión y difracción de rayos X, y (C) es un recubrimiento de moléculas de citrato adsorbidas sobre las NP; y

(b) una sal de citrato farmacéutica o veterinariamente aceptable, junto con excipientes y/o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables.

15.- La composición farmacéutica o veterinaria según la reivindicación 14, caracterizada además porque es una suspensión coloidal acuosa ocular tópica.

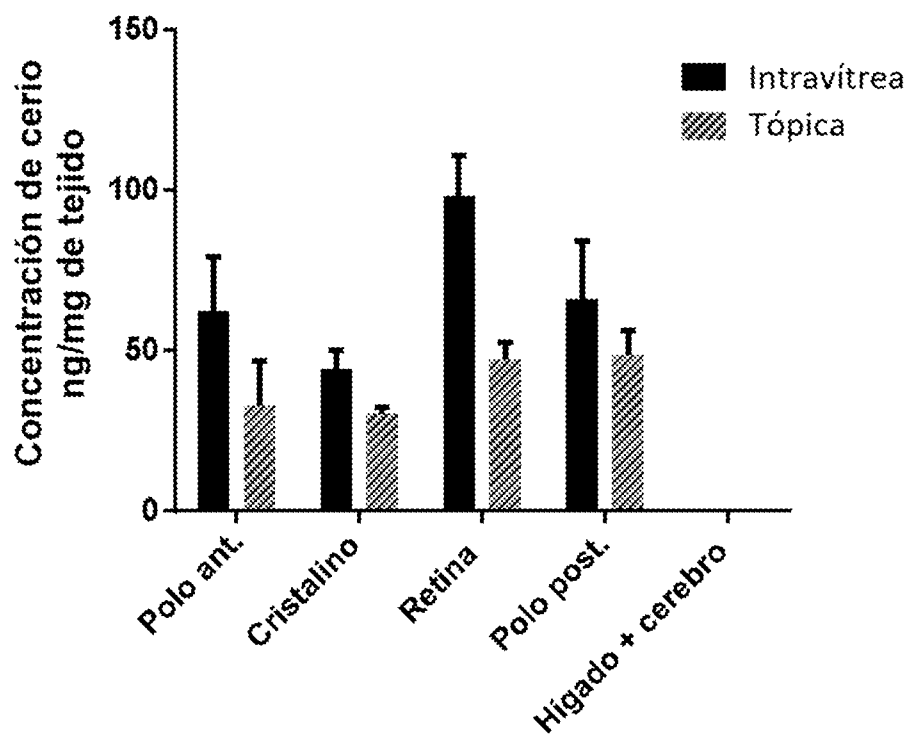


FIG. 1

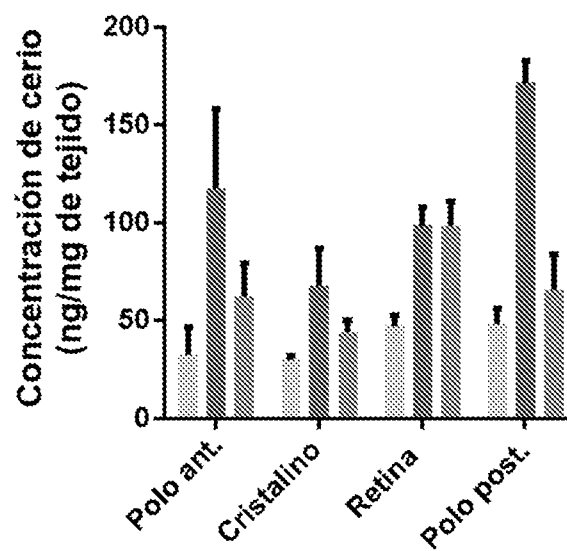


FIG. 2

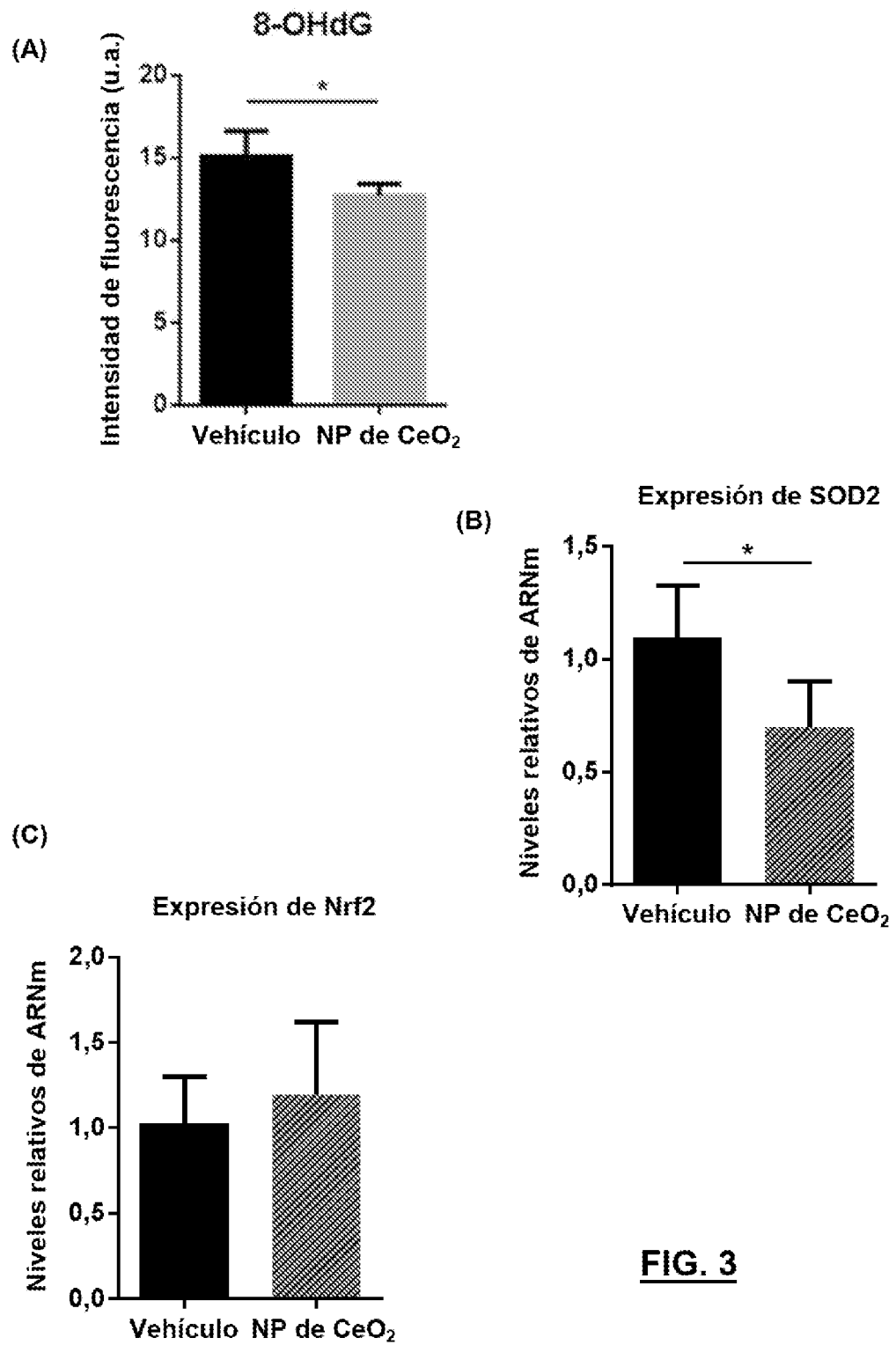


FIG. 3

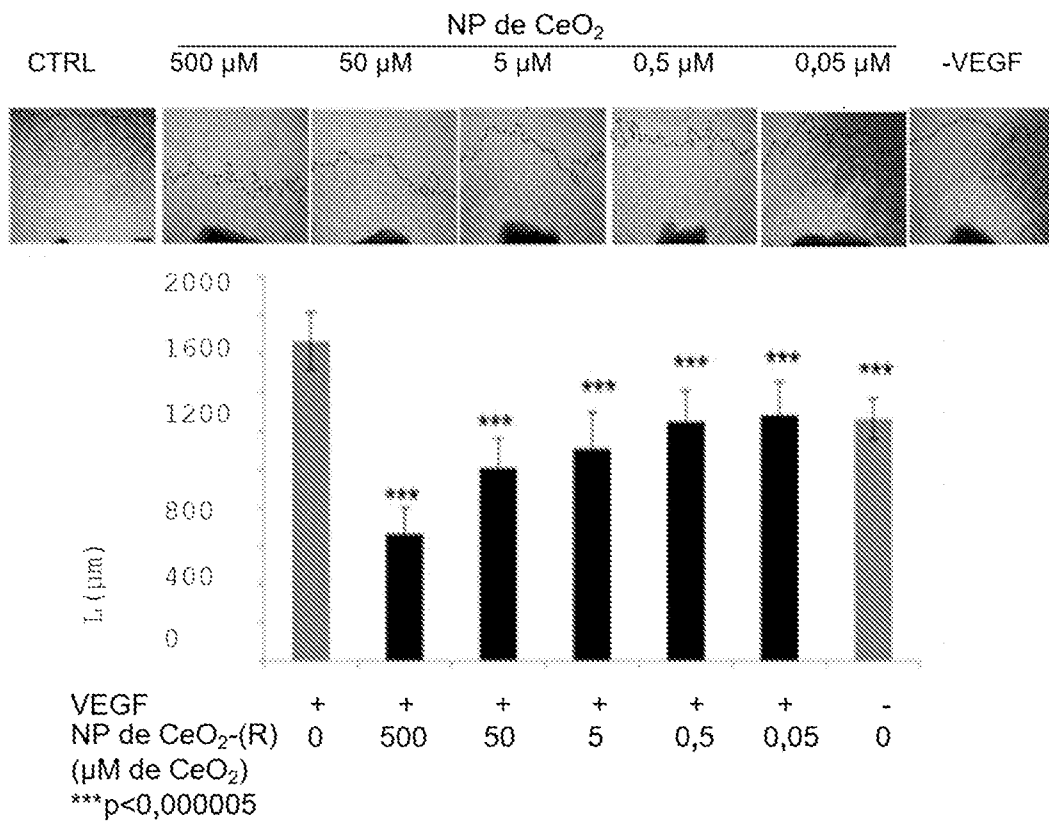


FIG. 4

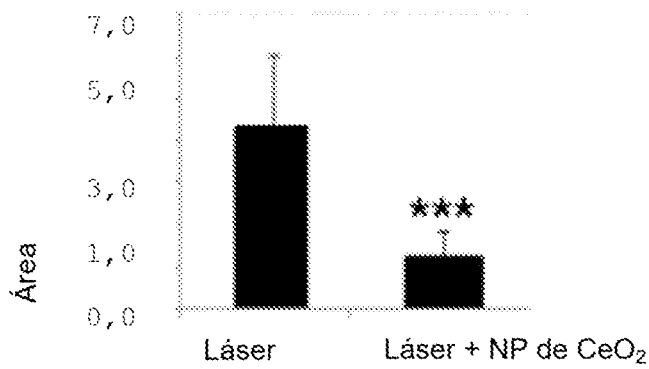


FIG. 5

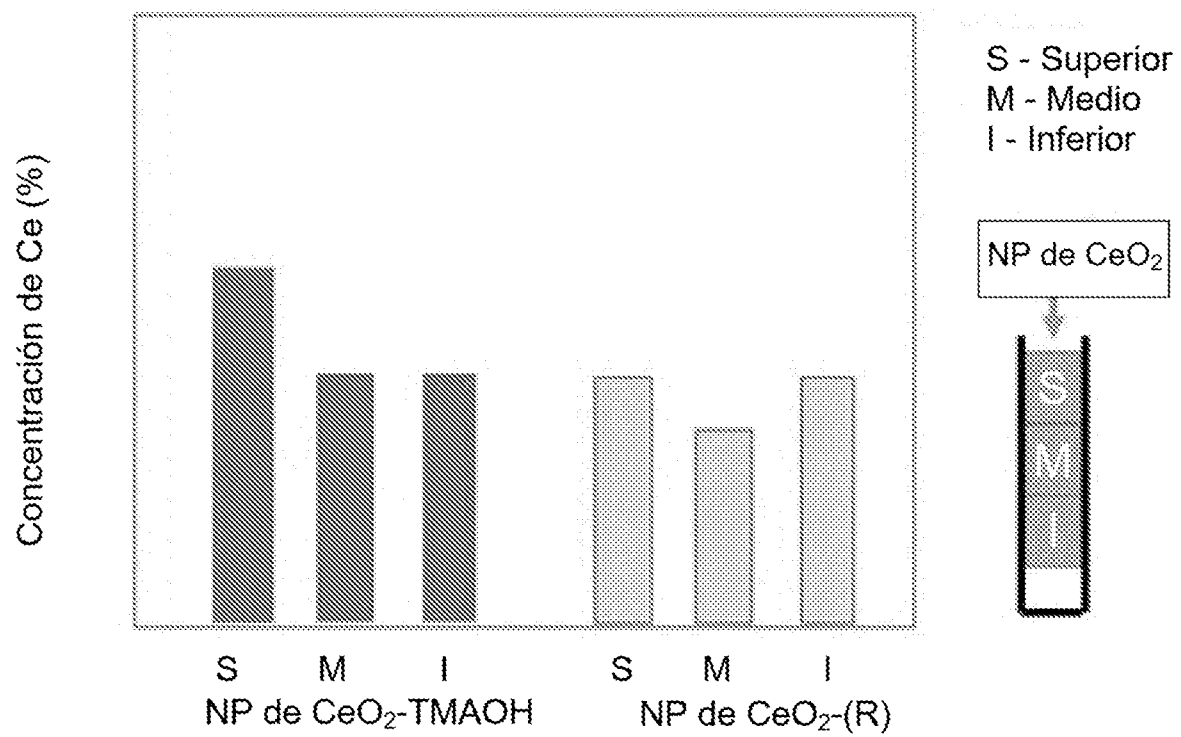


FIG. 6

	Tamaño (d.nm):		% de intensidad:	Desv. est. (d.nm):
Promedio Z (d.nm): 4,821	Pico 1:	4,835	91,3	1,595
Pdi: 0,229	Pico 2:	606,9	6,9	271,5
Ordenada en el origen: 0,850	Pico 3:	4422	1,8	914,0
Calidad del resultado: Buena				

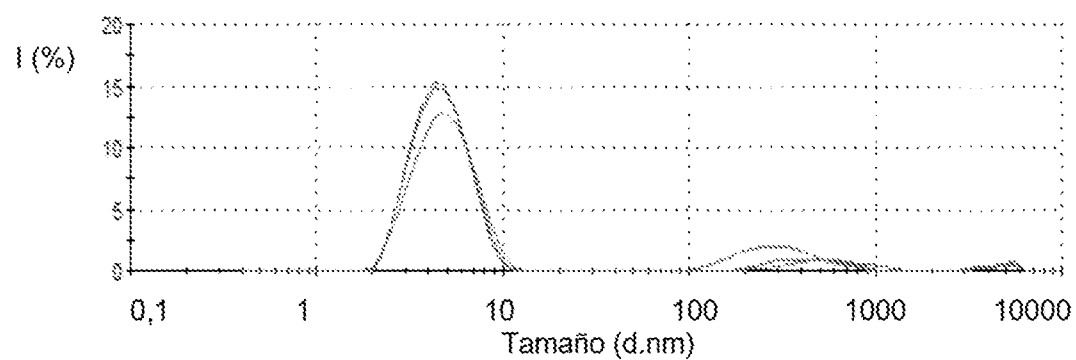


FIG. 7