

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 566**

51 Int. Cl.:

| | | |
|-------------------|-----------------------------|-----------|
| C01B 39/02 | (2006.01) A61L 31/16 | (2006.01) |
| B01J 20/18 | (2006.01) A61Q 5/00 | (2006.01) |
| A61K 8/19 | (2006.01) A61Q 9/02 | (2006.01) |
| A61K 8/26 | (2006.01) A61Q 9/04 | (2006.01) |
| A61K 33/00 | (2006.01) A61Q 15/00 | (2006.01) |
| A61L 15/18 | (2006.01) A61Q 19/08 | (2006.01) |
| A61L 15/44 | (2006.01) | |
| A61L 29/02 | (2006.01) | |
| A61L 29/16 | (2006.01) | |
| A61L 31/02 | (2006.01) | |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.07.2004 PCT/GB2004/002905**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.01.2005 WO05003032**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2004 E 04743250 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 1648826**

54 Título: **Zeolitas para el suministro de óxido nítrico**

30 Prioridad:

03.07.2003 GB 0315540
22.11.2003 GB 0327222

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.12.2017

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY COURT OF THE UNIVERSITY
OF ST ANDREWS (100.0%)
COLLEGE GATE, NORTH GATE
ST ANDREWS KY16 9AJ, GB**

72 Inventor/es:

**MORRIS, RUSSELL EDWARD;
WHEATLEY, PAUL STEWART y
BUTLER, ANTHONY ROBERT**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 645 566 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

Zeolitas para el suministro de óxido nítrico

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a zeolitas que contienen óxido nítrico adsorbido de manera liberable, métodos de preparación de estas zeolitas, métodos de liberación del óxido nítrico en una solución o en el aire y usos de las mismas.

10

Antecedentes de la invención

El óxido nítrico (la fórmula química es ON) es una molécula pequeña notable que es de vital importancia en muchos procesos biológicos. Es un vasodilatador que aumenta el flujo de sangre a través de las arterias y las venas y también es un factor importante para controlar/evitar la adhesión y agregación de plaquetas y la formación de trombos. También juega un papel crucial en el sistema inmunológico y en la neurotransmisión. Mucho se sabe sobre el modo de acción del óxido nítrico y está claro que tiene un enorme potencial en medicina y biotecnología tanto en aplicaciones *in vivo* como *ex vivo*.

15

20

El suministro controlado de óxido nítrico puede ser importante en procedimientos profilácticos y terapéuticos y su aplicación. Por ejemplo, el óxido nítrico puede evitar la trombosis y la reestenosis después de la angioplastia con balón y la inserción de la endoprótesis vascular en arterias bloqueadas (Solicitud de Patente Internacional WO 95/24908). Sin embargo, debido a que el óxido nítrico es activo en muchos procesos biológicos, el suministro dirigido es deseable. El suministro de óxido nítrico a la piel también puede tener beneficios terapéuticos para pacientes con problemas circulatorios periféricos que pueden producirse en condiciones tales como la artritis y el síndrome de Raynaud. El óxido nítrico también muestra propiedades antibacterianas y su incorporación en dispositivos antibacterianos y su uso para el tratamiento de infecciones bacterianas es deseable. El óxido nítrico también contribuye en la cicatrización de heridas y la angiogénesis, y el suministro de óxido nítrico a heridas y úlceras puede ser beneficioso cuando la cicatrización es lenta, lo que puede producirse, por ejemplo, en pacientes ancianos (M. Shabani y col., Potenciación de la reparación de heridas con un polímero de liberación de óxido nítrico aplicado tópicamente, 4, 353, 1996 y S. Frank H. Kampfer, C. Wetzler, J. Pfeilschifer, El óxido nítrico repara la piel: Funciones novedosas de un mediador establecido, *Kidney International*, 61, 882, 2002).

25

30

35

Sin embargo, el suministro de óxido nítrico al área deseada, y en la dosis óptima requerida es a menudo difícil porque el óxido nítrico es un gas. El suministro de óxido nítrico es difícil tanto *ex vivo*, por ejemplo aplicaciones biotecnológicas como *in vivo*, por ejemplo, aplicaciones médicas.

Se conocen diversos métodos de suministro de óxido nítrico tales como

40

- (a) moléculas que liberan ON espontáneamente;
- (b) moléculas que se metabolizan para dar ON;
- (c) moléculas que liberan ON en la fotoactivación;
- (d) liberación de ON desde polímeros y recubrimientos de polímero;
- (e) producción de ON a partir de una reacción química.

45

Las moléculas de clase (a) incluyen moléculas conocidas como complejos nucleófilos de óxido nítrico (ONONatos) (CM Maragos y col., Complejos de ON con nucleófilos como agentes para la liberación biológica controlada de los efectos vasorelajantes de óxido nítrico *J. Med. Chem.*, 34, 3242, 1991). Son una diversidad de moléculas que emiten óxido nítrico espontáneamente y que se ha demostrado que tienen un posible uso en aplicaciones terapéuticas (Patente de EE.UU. N.º 4.954.526). Sin embargo, el uso de ONONatos en terapia es limitado porque se distribuyen por todo el cuerpo, lo que puede comprometer la selectividad. Los subproductos que siguen a la liberación de ON también pueden formar nitrosaminas secundarias cancerígenas. Otras moléculas de clase (a) incluyen nitrosotioles (Megson, IL, Greig, IR, Butler, AR, Gray, GA y Webb, DJ Potencial terapéutico de S-nitrosotioles como fármacos donadores de óxido nítrico, *Scot. Med. J* 42, 88, (1997)). Además, las moléculas de clase (a) pueden causar un descenso peligroso de la presión sanguínea sistémica.

50

55

Las moléculas de clase (b) incluyen trinitrato de glicerilo y nitroprusiato de sodio (LJ Ignarro, Biosíntesis y metabolismo de óxido nítrico derivado de endotelio, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30, 535, 1990). Estos compuestos actualmente se usan ampliamente como vasodilatadores, sin embargo, el uso prolongado puede conducir a productos secundarios tóxicos como cianuros. Además, la tolerancia puede mostrarse porque estas moléculas necesitan ser metabolizadas para liberar ON. La focalización de ON a sitios particulares también puede ser deficiente dando como resultado que los efectos tienden a ser sistémicos.

60

65

Las moléculas de clase (c) requieren una activación específica, por ejemplo, que la luz que tiene una longitud de onda específica pueda ser difícil de iniciar (C. Works, CJ Jocher, GD Bart, X. Bu, PC Ford, Precursores fotoquímicos de óxido nítrico, *Inorg. Chem.*, 41, 3728, 2002).

La liberación de óxido nítrico de clase (d) mitiga los problemas asociados con la actividad sistémica suministrando óxido nítrico a un sitio objetivo específico mediante el soporte de un compuesto de liberación de óxido nítrico en un artículo sólido. Dichos compuestos de liberación de ON pueden ser materiales poliméricos que pueden recubrirse en instrumentos médicos que pueden usarse para apuntar áreas específicas del cuerpo para su tratamiento. Los polímeros pueden contener, por ejemplo, el grupo N_2O_2 que libera ON después de una reacción química (Solicitud de Patente Internacional WO 95/24908 y Solicitud de Patente de EE.UU. N.º 2002094985). Sin embargo, la liberación de ON en dichas circunstancias puede ser difícil de controlar y actualmente la preparación de los materiales requeridos puede ser costosa, requiriendo a menudo procedimientos de múltiples etapas y presentando difíciles problemas de almacenamiento debido a la inestabilidad a temperatura ambiente y requieren almacenamiento a una temperatura fría. El posible uso de dichos polímeros se ha demostrado en el tratamiento de problemas cardiovasculares, por ejemplo, reestenosis; la fabricación de dispositivos médicos anti-trombogénicos; alivio de la vasoconstricción anormal en el suministro de sangre de la piel (síndrome de Reynaud) y para la cicatrización de heridas.

El suministro de óxido nítrico de clase (e) se ha propuesto para aplicaciones tópicas mediante la liberación de óxido nítrico de una reacción química. La reacción química implica la aplicación de nitrito de sodio, ácido ascórbico y ácido maleico, que emite ON cuando se pone en contacto con agua (Solicitud de Patente de EE.UU. N.º 6.103.275). Sin embargo, esta reacción tiene lugar solo en condiciones ácidas y, por lo tanto, puede causar irritación, especialmente en la piel sensible de pacientes ancianos. Además, el óxido nítrico se libera como un estallido de corta vida más que de una manera controlada. Zhang y col., (J. Chem. Soc., Faraday Trans., 1995, 91, 767-771) y Zhang y col., (Langmuir 1993, 9, 2337-2343) están principalmente relacionados con la adsorción de ON usando, por ejemplo, zeolitas intercambiadas con iones de cobre, por adsorción por cambio de presión.

El objetivo de la presente invención es obviar y/o mitigar los problemas de almacenamiento y suministro de óxido nítrico.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable para su uso en cirugía y/o terapia, en el que el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales.

Los materiales de zeolita son una clase de materiales de aluminosilicato que se conocen y se usan en diversas aplicaciones, por ejemplo, intercambio de iones, separación de gases y catálisis (A. Dyer, An Introduction to Zeolite Molecular Sieves, J. Wiley e hijos, 1988).

El material de zeolita que contiene ON de la presente invención puede obtenerse mediante las etapas de proporcionar un material de zeolita y poner en contacto dicho material con gas de óxido nítrico.

Las zeolitas que son adecuadas para la presente invención pueden encontrarse de forma natural o fabricarse sintéticamente. Las zeolitas contienen poros y canales que tienen dimensiones que permiten que las pequeñas moléculas o iones se adsorban sobre las superficies internas del material. La fórmula general de un armazón de zeolita es $Al_ySi_{1-y}O_4^y$. Para cada átomo de aluminio en el marco de la zeolita, se introduce una carga negativa que debe estar equilibrada con un catión de marco adicional. Estos cationes pueden ser de naturaleza inorgánica u orgánica, y pueden intercambiarse usando procedimientos convencionales de intercambio de iones (ME Davis, Materiales porosos ordenados para aplicaciones emergentes, Nature 417, 813, 2002).

Las zeolitas pueden comprender cationes de elementos de transición como las especies de marco adicionales, por ejemplo, hierro, cobre, rutenio y dichas zeolitas, pueden adsorber óxido nítrico para formar complejos dentro de las cavidades del material de zeolita. Estos complejos son fuertes y pueden permitir que el óxido nítrico se almacene hasta que sea necesario. Los cationes de otros elementos, por ejemplo, el sodio y el potasio se unen menos fuertemente al óxido nítrico. Los expertos en la técnica pueden usar procedimientos convencionales de intercambio de iones para introducir los iones metálicos requeridos en una estructura de zeolita como cationes de marco adicionales (Plank y col., Patente de EE.UU. N.º 3.140.249; Preparación, caracterización y rendimiento de catalizadores Fe-ZSM-5, R. Joyner y M. Stockenhuber, J. Phys. Chem. B., 1999, 103, 5963-5976). Usando dichas técnicas es posible incorporar mezclas de cationes en las estructuras de zeolita.

Las zeolitas se proporcionan en un estado completa o parcialmente deshidratado.

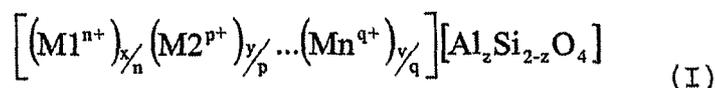
La cantidad de óxido nítrico que puede cargarse en las zeolitas se puede controlar variando las cantidades relativas de los cationes de marco adicionales, controlando su naturaleza química y/o el número total de iones presentes. Por ejemplo, el número de cationes de marco adicionales presentes en la estructura de zeolita puede depender de la cantidad de aluminio presente en el marco. Más iones de aluminio requieren más cationes de marco adicionales para equilibrar la carga negativa. Los cationes de marco adicionales pueden entonces interactuar con las moléculas de ON.

La naturaleza química de los cationes de marco adicionales también puede cambiarse (por ejemplo, cationes monovalentes, por ejemplo, Na^+ y Ag^+ pueden intercambiarse por cationes divalentes, por ejemplo, Fe^{2+} y Cu^{2+} o cationes trivalentes, por ejemplo, Ru^{3+} y Fe^{3+}). Cada catión diferente puede tener una diferente afinidad por el ON y puede usarse el cambio de los cationes presentes en el marco de zeolita para controlar la liberación de ON. Dicha manipulación de la composición de zeolita puede afectar a la velocidad a la que se libera el óxido nítrico de la zeolita. Por ejemplo, una zeolita cargada de sodio puede unirse a óxido nítrico con menos fuerza que una zeolita cargada de hierro para liberar el óxido nítrico más rápidamente. Una zeolita mixta de sodio/hierro puede liberar óxido nítrico a una velocidad diferente a una zeolita cargada de sodio o a una zeolita cargada de hierro, y dicha liberación de óxido nítrico puede presentar un perfil de velocidad diferente para la aplicación bajo consideración. Por ejemplo, los poros y canales en una estructura de zeolita pueden definirse por el tamaño de las aberturas de los poros o de los canales. La zeolita con la estructura LTA tiene aberturas definidas por 8 unidades tetraédricas de poro (es decir, un anillo de 8 átomos de Si/Al y 8 átomos de oxígeno). La zeolita MFI tiene una abertura de anillo más grande definida por 10 unidades tetraédricas, y FAU por una abertura de poro aún mayor de 12 unidades tetraédricas. La dimensionalidad de los poros también puede diferir entre los marcos de zeolita. Por ejemplo, algunas zeolitas tienen canales que discurren en una sola dirección (sistemas de canales unidimensionales) mientras que otros tienen sistemas de canales interactivos en dos o tres dimensiones (sistemas de canales bidimensionales y tridimensionales). El tamaño, forma y dimensionalidad de las zeolitas puede afectar a las velocidades de difusión y adsorción/desorción del ON, y pueden usarse para controlar la velocidad de liberación de ON de la zeolita en una aplicación particular.

Por tanto, la composición del material de zeolita puede adaptarse para controlar la cantidad de óxido nítrico cargado en la estructura de zeolita y/o la velocidad a la que se libera el óxido nítrico de la zeolita.

Dichas estructuras de zeolita pueden elegirse entre, pero sin limitaciones, marcos que tienen los siguientes códigos marco de tres letras: LTA, FAU, MFI, MOR, FER, BEA, PHI y SAS (consulte el sitio web de la Asociación Internacional de Zeolitas www.iza-online.org, para más detalles de cómo los códigos se relacionan con las estructuras marco de las zeolitas que se incorporan en el presente documento como referencia). Estos tres códigos de letras describen la arquitectura del marco de las zeolitas, es decir, su estructura, pero no describen la composición de la zeolita, que puede variar ampliamente. Los códigos de tres letras se usan como un sistema de nomenclatura para las zeolitas.

Las zeolitas que pueden usarse en la presente invención pueden tener la siguiente fórmula general (I):



en la que M1 y M2... Mn son cationes metálicos de marco adicionales de elementos seleccionados del grupo que consiste en Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Ru, Rh, Co, Ni, Zn y Ag.

x puede oscilar entre cero y nz,

y puede oscilar entre cero y pz y

v puede oscilar entre cero y qz,

sujeto a la condición de que $x/n + y/p + \dots + v/q = z$.

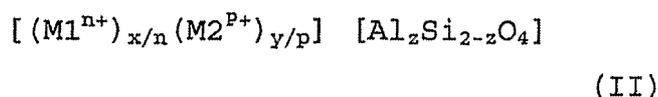
z es el número de átomos de silicio reemplazados por átomos de aluminio en el marco de la zeolita.

n+, p+ y q+ son las cargas de los cationes metálicos de marco adicionales, y pueden tomar individualmente los valores de +1, +2 o +3.

M1 y M2... Mn también se pueden elegir de entre pequeños cationes orgánicos tales como $\text{N}(\text{R}_1)_a(\text{R}_2)_b^+$ en la que R_1 y R_2 se seleccionan independientemente de entre H, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, y a y b son independientemente 0, 1, 2, 3 o 4 tales que $a + b = 4$;

Cuando M1 y/o M2 son pequeños cationes orgánicos, se prefiere NH_4^+ .

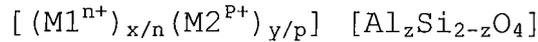
Las zeolitas que pueden usarse preferentemente en la presente invención tienen la siguiente fórmula general (II):



en la que M1 y M2 son como se han definido anteriormente,

Cuando M1 y/o M2 son pequeños cationes orgánicos, se prefiere NH_4^+ .

Las zeolitas que pueden usarse preferentemente en la presente invención tienen la siguiente fórmula general (II):



(II)

en la que M1 y M2 son como se han definido anteriormente,

x puede oscilar entre cero y nz e

y puede oscilar entre cero y pz, sujeto a la condición de que $x/n + y/p = z$.

Antes de la carga de óxido nítrico, las zeolitas de uso en la presente invención están completa o parcialmente deshidratadas, por ejemplo, al vacío para eliminar el agua de los canales de la zeolita. La zeolita resultante puede entonces ser expuesta al óxido nítrico para cargar la zeolita.

Normalmente, la carga de óxido nítrico se realiza a una temperatura de -100 °C a 50 °C.

La carga de óxido nítrico se puede realizar con ON puro o con una mezcla de ON y un gas vehículo tal como un gas inerte, por ejemplo, helio, argón u otro gas inerte que incluye mezclas de los mismos.

La carga se realiza normalmente a una presión por encima de la presión atmosférica, por ejemplo, desde la presión atmosférica hasta una presión de 1000 kpa.

Las zeolitas cargadas de óxido nítrico pueden sellarse dentro de un embalaje hermético para fines de almacenamiento y transporte.

Tras la exposición de la zeolita cargada de óxido nítrico a la humedad, por ejemplo un medio acuoso tal como agua o sangre, el óxido nítrico se desplaza del complejo metálico dentro de la zeolita dando como resultado la liberación de gas de óxido nítrico en los cultivos de medio acuoso. Por ejemplo, se puede cargar una cantidad específica de ON en una zeolita y a continuación, conociendo el grado de liberación o perfil de liberación de la zeolita cargada de ON, se puede suministrar una cantidad precisa de ON al cultivo celular. Este principio también se puede aplicar a otras aplicaciones de suministro de ON, por ejemplo, en aplicaciones terapéuticas, cosméticas y/o de higiene, de modo que se pueda administrar una cantidad o dosis específica de ON.

Los monolitos pueden formarse por compresión de un polvo de zeolita o mezclando una zeolita en polvo con un aglutinante adecuado que es bien conocido en la fabricación de catalizadores de zeolita.

Los aglutinantes adecuados incluyen, pero sin limitación, aglutinantes cerámicos, por ejemplo, sílice o alúmina, y aglutinantes poliméricos, por ejemplo, polisulfona, polietileno, PET, poliestireno politetrafluoroetileno (PTFE) y otros polímeros.

Como alternativa, las zeolitas pueden proporcionarse como recubrimientos en dispositivos médicos tales como dispositivos médicos metálicos o plásticos. Los dispositivos recubiertos pueden a continuación ser suministrados a la localidad en la que se requiere el óxido nítrico. Por ejemplo, se puede usar una endoprótesis vascular recubierta de zeolita para realizar una angioplastia con balón, y la liberación de óxido nítrico en estas condiciones puede usarse para reducir la reestenosis.

Normalmente, las zeolitas se proporcionan en una forma adecuada como se trató anteriormente, y a continuación se cargan de óxido nítrico listo para el almacenamiento, y se usan en un momento posterior.

Se puede usar una zeolita en polvo cargada de óxido nítrico en aplicaciones tópicas tales como para el apósito para heridas, y puede proporcionarse, por ejemplo, en un vendaje para su aplicación a una herida para la liberación del óxido nítrico en la herida para ayudar a la cicatrización. Se puede usar una zeolita provista como un monolito, por ejemplo, para aplicaciones tópicas o,

Normalmente, las zeolitas se proporcionan en una forma adecuada como se trató anteriormente, y a continuación se cargan de óxido nítrico listo para el almacenamiento, y se usan en un momento posterior.

Se puede usar una zeolita en polvo cargada con óxido nítrico en aplicaciones tópicas tales como para el apósito para heridas, y puede proporcionarse, por ejemplo, en un vendaje para su aplicación a una herida para la liberación del óxido nítrico en la herida para ayudar a la cicatrización. Se puede usar una zeolita provista como un monolito, por ejemplo, para aplicaciones tópicas o, por ejemplo, para la aplicación de supositorios en el tratamiento del estreñimiento severo.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación farmacéutica, neutracéutica o cosmética que comprende un material de zeolita que comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable junto con un vehículo farmacéutico/neutracéutico/cosmético del mismo.

La presente invención también proporciona el uso de un material de zeolita que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento o profilaxis de la enfermedad.

- 5 Las enfermedades o afecciones médicas que pueden tratarse incluyen infecciones de la piel, incluyendo hongos dermatofitos, leishmaniasis, virus del molusco y del papiloma, e infecciones por micobacterias. Otros usos incluyen aplicaciones terapéuticas en actividades anti-neoplásicas, modificación de la respuesta inmune, tratamiento de la enfermedad de Raynaud, cicatrización de heridas y modificación del pigmento de la piel. Otros usos incluyen tratamiento de la reestenosis, psoriasis y el eccema y cáncer de piel (melanoma). Las terapias para otros problemas bacterianos incluyen la reducción de problemas de olor intenso de pies o cuerpo, y en el tratamiento, de infecciones por *Staphylococcus Aureus* resistentes a la metilicina.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un artículo médico que comprende un material de zeolita en el que el material de zeolita se proporciona como un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable, en el que el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales.

El material de zeolita del artículo médico puede proporcionarse sin óxido nítrico cargado en el mismo para permitir la carga de óxido nítrico antes del uso y/o almacenamiento del dispositivo médico listo para su uso posterior.

Como alternativa, el material de zeolita del artículo médico puede proporcionarse como un material de zeolita que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable.

Los artículos médicos adecuados para su uso en la presente invención incluyen endoprótesis vasculares, catéteres, apósitos para heridas, vendajes, apósitos autoadhesivos y parches autoadhesivos.

Las propiedades beneficiosas del óxido nítrico pueden emplearse ventajosamente en aplicaciones cosméticas y de higiene personal.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de una zeolita que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable en aplicaciones cosméticas y/o de higiene personal.

Por ejemplo, las zeolitas de la presente invención que comprenden óxido nítrico adsorbido de manera liberable se pueden usar en preparaciones cosméticas; desodorantes; preparaciones para la piel tales como preparaciones para la piel antienvjecimiento y preparaciones aplicadas antes, durante o después de la eliminación del vello mediante el afeitado o mediante la aplicación de preparaciones depilatorias; preparaciones para el cabello; preparaciones depilatorias y similares.

Por consiguiente, la presente invención también proporciona, como un quinto aspecto, un producto cosmético y/o de higiene personal que comprende una zeolita que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable.

La presente invención también proporciona, como un sexto aspecto, un método de liberación de óxido nítrico que comprende las etapas de

- 45 (i) proporcionar un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable;
(ii) poner en contacto dicho material de zeolita con un medio en el que va a liberarse dicho óxido nítrico.

Dicha liberación de óxido nítrico se consigue preferentemente de una manera controlada, por ejemplo, proporcionando un material de zeolita adecuado con un perfil de liberación controlada establecido.

El medio en el que se va a liberar el óxido nítrico puede ser simplemente aire que rodea a la zeolita cargada de óxido nítrico, o puede ser, por ejemplo, un medio acuoso.

La liberación puede realizarse dentro del cuerpo de un animal, por vía tópica en el cuerpo de un animal o en aplicaciones no corporales tales como liberación en cultivos celulares.

La liberación puede realizarse a cualquier temperatura adecuada, sin embargo, se prefiere temperatura ambiente o corporal.

El método de liberación de óxido nítrico se puede aplicar al tratamiento de humanos o animales y, por consiguiente, la presente invención proporciona además, como un décimo aspecto, un método de tratamiento o profilaxis de un individuo que lo necesite, que comprende proporcionar una zeolita que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable y poner en contacto dicha zeolita con dicho individuo.

El Ejemplo 5 describe la liberación de óxido nítrico desde una zeolita alternativa cargada de óxido nítrico a la

atmósfera;

el Ejemplo 6 describe la cuantificación de óxido nítrico en solución por medición directa;

el Ejemplo 7 describe la liberación de ON de la zeolita A intercambiada con Co y Mn en atmósferas de argón húmedo y seco;

- 5 el Ejemplo 8 describe la inhibición de la agregación de plaquetas mediante un disco de zeolita/PTFE cargada de ON y
 el Ejemplo 9 describe la acción antibacteriana de las zeolitas que contienen ON.

La referencia en los ejemplos se realiza a las siguientes figuras en las que:

- 10 La Figura 1 muestra la estructura cristalina de la zeolita-A de Na deshidratada;
 La Figura 2 es un gráfico que muestra el perfil de liberación de ON a la atmósfera de acuerdo con el Ejemplo 3.
 La Figura 3 es un diagrama de barras que muestra el perfil de liberación de ON a la atmósfera en diferentes momentos de acuerdo con el Ejemplo 5.
 15 La Figura 4 es un gráfico que muestra la cantidad de concentración de ON disuelto de acuerdo con el Ejemplo 6;
 La Figura 5 es un gráfico que muestra el perfil de liberación de ON en un flujo de argón de acuerdo con el Ejemplo 6;
 La Figura 6 es un gráfico que muestra el perfil de liberación de ON de la zeolita A intercambiada con Co y Mn de acuerdo con el Ejemplo 7;
 20 La Figura 7 es un gráfico que muestra el perfil de liberación de ON de las zeolitas Co-LTA (A) y Co-LTA (ZK-4) de acuerdo con el Ejemplo 7;
 La Figura 8 es un gráfico que muestra la respuesta del agregómetro a lo largo del tiempo para los experimentos de agregación de plaquetas en la sangre realizados de acuerdo con el Ejemplo 8 y
 las Figuras 9a y 9b son fotografías de cultivos de bacterias que muestran la acción antibacteriana de las zeolitas
 25 que contienen ON de acuerdo con el Ejemplo 9.

Ejemplo 1

Preparación de zeolitas intercambiadas con iones

- 30 La síntesis de zeolitas es bien conocida por los expertos en la técnica, y el intercambio iónico de las zeolitas puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales (Plank y col., Patente de EE.UU. N.º 3.140.249; Preparación, caracterización y rendimiento de catalizadores Fe-ZSM-5, R. Joyner y M. Stockenhuber, J. Phys. Chem. B., 1999, 103, 5963-5976). La zeolita intercambiada con iones se deshidrata a continuación al vacío para eliminar el agua. El
 35 análisis de las zeolitas se lleva a cabo por análisis elemental, difracción de rayos X y análisis espectroscópico.

Ejemplo 1a

A continuación se describe un ejemplo de la preparación de una zeolita intercambiada con iones deshidratada.

- 40 La zeolita (MF1, 2 g) se colocó en una solución 0,05 M del ion metálico (200 ml, agua destilada) a intercambiar y a agitar durante 24 horas. Como alternativa, con las mismas concentraciones, el intercambio podría llevarse a cabo en condiciones secas en una atmósfera inerte (argón) con sonicación usando metanol como disolvente. Los productos
 45 se recuperaron por filtración/centrífuga.

La concentración de la solución de iones metálicos y el tiempo para el intercambio pueden variarse para variar la carga del metal en la zeolita. En la Tabla 1 se dan ejemplos específicos de diferentes iones metálicos que se han cargado en las zeolitas.

- 50 Tabla 1- Composición elemental de zeolitas intercambiadas con iones preparadas usando esta metodología. La tabla muestra un intervalo de comportamiento de intercambio iónico desde muy bajo intercambio en el caso de hierro hasta más intercambio en el caso de cobre. Composición inicial de la zeolita - $(\text{NH}_4)_z[\text{Al}_z\text{Si}_{2-z}\text{O}_4]$ en la que $z = 0,13333$ (Si/Al = 14)

| Catión (M) | Relación final Al/M |
|------------|---------------------|
| FE3++ | 17,82 |
| Ni2+ | 8,42 |
| Co2+ | 3,84 |
| Cu2+ | 1,50 |

- 55 **Ejemplo 1b**
- La zeolita A (dado el código marco LTA de tres letras) es un material bien conocido para los expertos en la técnica, fabricado en cantidades de más de 1 millón de toneladas anuales para su uso como un adyuvante de detergencia y
 60 un suavizante de agua. La estructura de la zeolita-A (Pluth, JJ y Smith, JV. Redeterminación precisa de la estructura

crystalina de la zeolita A deshidratada. Ausencia de coordinación de sodio casi nula. Refinamiento de la superestructura ordenada de silicio y aluminio J. Am. Chem. Soc., 102, 4704 (1980) y Cheetham, AK, Eddy, MM, Jefferson, DA y Thomas, JM. Un estudio de la clasificación de Si y Al en la zeolita-a de talio por difracción de polvo de neutrones Nature, 299, 24, (1982) que consiste en alternar SiO_4 y AlO_4 tetraédricos que comparten vértices para producir el marco abierto representado en la Figura 1, con cationes intercambiables con iones que residen en los canales de la estructura. En este caso los cationes intercambiables con iones se muestran como cationes de sodio unidos a los átomos de oxígeno del marco y pueden intercambiarse fácilmente con iones de metales de transición. Para una mayor claridad, solo se dibujan los enlaces Al-O y Si-O. El etiquetado de la estructura en la Figura 1 es el siguiente: Si = 1, Al = 5, cationes de sodio = 10 y átomos de oxígeno = 15. La zeolita A es bien conocida por su afinidad por el agua, que a menudo se usa (bajo el nombre Molecular Sieve 3A, 4A o 5A) para secar disolventes en química orgánica.

Las muestras de zeolita-A se sintetizaron de acuerdo con el procedimiento dado en *Verified Syntheses of Zeolitic Materials* (Robson H y Lillerud, KP, *Verified Syntheses of Zeolitic Materials* (2ª Edición revisada), Asociación Internacional de Zeolitas, (2001); www.iza-synthesis.org). El siguiente procedimiento de intercambio de iones se usó después para reemplazar los iones de sodio en la forma fabricada con diversos cationes de metales de transición que se sabe que se unen fuertemente al óxido nítrico (Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+}) para dar zeolitas intercambiadas con iones metálicos. Normalmente, la zeolita A (5 g) de sodio tal y como se sintetizó se colocó en una solución 0,05 M del acetato de metal (400 ml, agua destilada) y se agitó durante 24 horas. Los productos se recuperaron por filtración, se lavó con agua destilada (400 ml) y se secó a 100 °C durante una noche. Se llevó a cabo un análisis elemental para determinar la composición química de las zeolitas usando un espectrómetro ICP-MS de la serie 7500 de Agilent. A continuación, las muestras de zeolita A de metal de transición se deshidrataron para eliminar el agua.

Ejemplo 2

Preparación de zeolitas cargadas de ON

El óxido nítrico puede producirse in situ o introducirse desde un cilindro.

Ejemplo 2a

A continuación se proporciona un ejemplo de la preparación de una zeolita cargada de ON.

Se desgasificó una solución de ácido asórbico 1 M (200 ml) burbujeando argón a través de la solución con agitación. A continuación, esto se añadió gota a gota a nitrato de sodio (~5 g) que había sido purgado con argón durante 30 minutos. Se usó un flujo lento de argón para transportar el óxido nítrico producido a través de un hidróxido de potasio de alta superficie para eliminar los óxidos de nitrógeno más altos, y luego a través del sulfato de calcio para secar la corriente de gas, antes de permitir el flujo a través de la zeolita intercambiada con iones (por ejemplo, ~0,5 g de zeolita MFI cargada de Fe) y finalmente después a través de un borboteador.

La zeolita cargada de ON se sella entonces dentro del vaso y se almacena bajo la atmósfera de Ar/ON (por ejemplo, dentro de un tubo Schlenk sellado a temperatura ambiente) hasta que se requiera. Se puede usar el mismo método de carga de ON para todas las zeolitas, independientemente del tipo de marco y del intercambio iónico.

Ejemplo 2b

A continuación se proporciona otro ejemplo de la preparación de una zeolita cargada de ON.

La zeolita A (~0,3 g) intercambiada con iones preparada de acuerdo con el Ejemplo 1b se deshidrató durante 2 horas a 300 °C a vacío (65,8 pa). Esto se enfrió a temperatura ambiente y se expuso a aproximadamente 3 atm de una mezcla de óxido nítrico/gas de helio (10 % de ON, 90 % de He) durante 10 minutos, se evacuó y se volvió a exponer a 3 atm de óxido nítrico. Esto se repitió tres veces.

Para la medición de la liberación de ON, se pasó un flujo de argón (saturado con vapor de agua o tomado directamente del cilindro de gas, 5 ml min^{-1}) sobre una cantidad conocida de la zeolita cargada de ON. El gas se burbujeó a continuación a través de una solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4, 10 ml) en la que se sumergió un electrodo de óxido nítrico previamente calibrado (World Precision Instruments, ISO-NO Mark II). La concentración de ON se midió en el transcurso de varias horas. Todos los experimentos se repitieron tres veces y dieron resultados reproducibles.

Ejemplo 3

Liberación de ON a la atmósfera desde la zeolita Fe-MFI cargada de ON

El análisis termogravimétrico junto con el análisis espectroscópico de masas de los gases resultantes se usó para estudiar la dependencia de la temperatura de la evolución del óxido nítrico de la zeolita. Los resultados se

reproducen gráficamente en la Figura 2 que muestra el perfil de pérdida de peso (línea A) y la corriente iónica (línea B) para ON en un espectrómetro de masas frente a la temperatura. Se colocó zeolita FE-MFI (0,010 g) cargada de ON en un analizador termogravimétrico Netzch acoplado a un espectrómetro de masas. La muestra se calentó a 300 °C a 10°min⁻¹ 48 horas bajo flujo de aire y los gases evolucionados se analizaron usando espectrometría de masas.

5 La traza resultante indicó que la cantidad de ON liberado aumenta hasta 130 °C antes de que comience a reducirse. Sin embargo, a -180 °C se observa una punta aguda en la producción de ON, que coincide con una transición de fase en la muestra de zeolita (confirmada por calorimetría diferencial de barrido). Esta es la conocida transición de fase monoclinica a ortorrómbica que se produce en la zeolita MFI. La temperatura de transición de fase se puede alterar eligiendo cuidadosamente la relación de silicio a aluminio de la zeolita de partida, controlando el catión intercambiado con iones y la cantidad y controlando la cantidad de carga de ON. Por tanto, la propiedad puede conducir entonces a una liberación de ON adaptada, mediante por ejemplo, una almohadilla térmica aplicada a un vendaje de cicatrización de heridas - a temperaturas por debajo de la transición de fase, la liberación de ON es lenta, mientras que por encima de la transición de fase, la liberación de ON se potencia mucho. La Figura 1 muestra la transición de fase a 180 °C, pero hay informes de la literatura de la transición de fase en la zeolita MFI de hasta -100 °C (H Morell, K Angermund, AR Lewis, DH Brouwer, CA Fyfe, H Gies, Investigación estructural de silicato-I cargado de n-hexano por difracción de rayos X, Si-29 MAS NMR y modelado molecular. Chem. Mater. 14, 2192, 2002). La temperatura precisa de transición depende de la composición de la zeolita y la carga de ON. Otras zeolitas, tales como FER, también muestran transiciones de fase que pueden adaptarse de esta manera.

20 **Ejemplo 4**

Liberación de ON a la solución desde la zeolita Fe-MFI cargada de ON

25 Se colocó una muestra adsorbida (0,013 g) de óxido nítrico de Fe-MFI en agua destilada (10,452 ml) para la detección de nitrito (tiras de nitrito de Quantofix) que dan un resultado positivo con 20 mg/l de NO₂. Se ensayó una muestra de agua destilada para la detección de nitrito (como referencia) que dio como resultado 0 mg/l de NO₂. El nitrito se forma en solución de la reacción de ON con agua y oxígeno y, por lo tanto, es un método indirecto para la medición de ON en solución.

30 **Ejemplo 5**

Liberación de ON a la atmósfera desde Fe-ZSM-5 cargada de ON

35 Se colocó una pequeña muestra (0,010 g) de Fe-ZSM-5 cargada de ON en un analizador termogravimétrico Netzch acoplado a un espectrómetro de masas. La muestra se calentó a 37 °C durante 48 horas bajo flujo de aire y los gases evolucionados se analizaron usando espectrometría de masas. La traza resultante indicó que el ON se libera lentamente de la zeolita a estas temperaturas a la atmósfera. La Figura 3 muestra el perfil de ON liberado de la zeolita en diferentes momentos durante el ciclo. El diagrama de barras muestra la corriente iónica (del espectrómetro de masas) frente al tiempo para cuatro moléculas (H₂O, ON, NO₂ y HNO₂) liberadas de Fe-MFI cargada de ON. Se puede ver claramente que ON es el gas más abundante emitido en todo momento.

Ejemplo 6

Quantificación de ON en solución por medición directa usando un electrodo de óxido nítrico.

45 La presente invención se refiere en particular al suministro de ON por encima de las heridas crónicas, ya que los modelos animales han demostrado que la aplicación tópica de ON puede promover significativamente el cierre de la herida (Shabnai M, Pulfer SK, Bulgran JP y Smith, D.J. Potenciación de la reparación de heridas con un polímero de liberación de óxido nítrico tópicamente aplicado. Rep. de Heridas Regen. 4, 353, (1996)) y hay pruebas de que ON puede usarse para tratar úlceras diabéticas (Witte, MB, Kiyama, T y Barbul, A, El óxido nítrico potencia la cicatrización experimental de heridas en la diabetes Br. J Sure, 89, 1594, (2002)). Un modelo útil para esto es la liberación de ON en una atmósfera húmeda que está en contacto con la fase líquida (solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4). La cantidad de óxido nítrico absorbido por la solución se mide entonces con un electrodo de óxido nítrico.

55 El electrodo de óxido nítrico World Precision Instruments ISO-NO Mark II se calibró usando el método de nitración de acuerdo con el procedimiento descrito por World Precision Instruments (Manual de instrucciones ISO-NO Mark II, World Precision Instruments, 2002). La zeolita intercambiada con iones metálicos con óxido nítrico adsorbido se transfirió a un tubo de vidrio y se dejó fluir sobre el argón húmedo (5 ml min⁻¹). Esta corriente se dirigió luego a la burbuja a través de una solución tamponada (pH 7,4 a 37 °C) en la que se sumergió el electrodo de óxido nítrico. Los datos sobre la liberación de óxido nítrico se recogieron después durante varias horas.

65 La Figura 4 muestra la concentración de óxido nítrico disuelto (no normalizada para la masa de zeolita o el grado de intercambio iónico) producido cuando tres muestras de zeolita cargada de ON se exponen a un flujo de argón húmedo como se describió anteriormente. A continuación, el flujo de gas se burbujea a través de la solución tamponada y la concentración de óxido nítrico se mide con el tiempo. El experimento mide la captación de óxido

nítrico por la solución y no tiene en cuenta la pérdida de óxido nítrico que no se disuelve en el líquido. Sin embargo, para muchas de las aplicaciones propuestas (por ejemplo, como un vendaje de cicatrización de heridas) en el que la liberación de óxido nítrico no está directamente en una solución, este experimento imita la situación más de cerca que liberaría el óxido nítrico directamente en un líquido.

5 Los resultados ilustran que diferentes materiales de zeolita cargada de óxido nítrico liberan ON de diferentes maneras. Las zeolitas con la estructura LTA liberan su ON relativamente rápido, mientras que las basadas en el marco PHI liberan óxido nítrico durante una escala de tiempo mucho más larga. Se observa que las zeolitas LTA intercambiadas con iones de cobre y hierro muestran perfiles de liberación similares. Los resultados muestran en
10 todos los casos que la concentración de óxido nítrico en la solución es de similar magnitud (concentraciones nanomolar a micromolar) a la encontrada en muchas situaciones biológicas.

La Figura 5 muestra los perfiles de liberación de ON medidos como se ha descrito anteriormente usando un electrodo de óxido nítrico para diversas muestras de zeolita A intercambiadas con metales de transición en contacto con un flujo de argón que ha sido saturado con vapor de agua. El control es una zeolita intercambiada con Co^{2+} que no ha sido expuesta a óxido nítrico. Los resultados de la respuesta del electrodo han sido normalizados para dar la concentración de ON en solución por mg de material de zeolita. El orden de cuánto ON se libera para cada metal diferente concuerda bien con las propiedades de adsorción de ON de las zeolitas de metal de transición en estudios de adsorción por cambio de presión (Aria, H y Machida, M. Eliminación de NO_x a través de ciclos de adsorción-desorción sobre óxidos metálicos y zeolitas Catal, Today 22 97, (1994)). Las zeolitas intercambiadas con Co liberan la mayoría de ON mientras que la forma de sodio original de la zeolita libera el mínimo ON. Se observa que los resultados de la zeolita-A intercambiada con cobre parecen anormalmente bajos, sin embargo, sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que esto se debe a que la zeolita está sobreintercambiada, con más iones de cobre en los canales de lo estrictamente necesario para las razones de equilibrio de carga. Muchos de los iones de cobre 'extra' probablemente estén presentes como especies de hidróxido (Yahior, H. e Iwamoto M. Copper, catalizadores de zeolita intercambiada con iones de cobre en reacciones de $\text{NO}(x)$ Appl. Catal. A. 222, 163, (2001)) y así reducen la disponibilidad de los iones metálicos para la coordinación de ON.

El cruce de las zeolitas intercambiadas con Mn^{2+} y Ni^{2+} puede indicar diferentes distribuciones de los iones metálicos entre los tres posibles sitios de cationes de marco adicionales en la zeolita A, algunos de los cuales pueden ser más susceptibles a la sustitución por el agua que otros.

También se señala que la liberación de ON tiene lugar durante un período de tiempo relativamente largo (aproximadamente 10 horas en la Figura 5), y si hay menos vapor de agua presente, la liberación tiene lugar durante un período de tiempo aún más largo.

Ejemplo 7

Liberación de ON de la zeolita A intercambiada con Co y Mn tanto en atmósferas de argón 'húmedo' y 'casi seco'.

40 La Figura 6 muestra el perfil de liberación de la zeolita A intercambiada con Co y Mn tanto en entornos de argón 'húmedo' (saturado de vapor de agua) y 'casi seco', y en este último caso las zeolitas seguían emitiendo cantidades mensurables de óxido nítrico más de 24 horas después del comienzo del experimento. Esto muestra la importancia del agua en el mecanismo de la liberación de ON de estas zeolitas.

45 En los experimentos 'húmedos', el argón se burbujeó a través de agua desionizada caliente (80 °C) antes de ponerse en contacto con la zeolita. En el experimento seco, el argón se tomó directamente del cilindro de gas y se secó parcialmente sobre sulfato de calcio.

50 La cantidad de óxido nítrico liberado por la zeolita parece depender no solo de qué metal de transición está presente sino también de la cantidad de un metal en particular presente. La zeolita-ZK4 es una variante de la zeolita-A que tiene la misma estructura de marco y por lo tanto tiene el mismo código marco (LTA). Sin embargo, hay menos cationes intercambiables en la zeolita-ZK4 ya que hay aluminio en el marco. Esto significa que hay menos sitios de catión metálico en los canales de la estructura para unir el óxido nítrico. Se puede ver claramente en la Figura 7 que la zeolita A intercambiada con Co libera más ON que la zeolita ZK4 intercambiada con Co, consecuente con el nivel reducido de cobalto en la estructura ZK4.

60 Los experimentos anteriores indican el potencial de las zeolitas cargadas de ON para suministrar óxido nítrico en un entorno húmedo para el suministro por encima de la piel para aplicaciones tales como la promoción de la cicatrización de heridas, el tratamiento de la ulceración diabética o la prevención de infecciones bacterianas. También ilustran la naturaleza controlable del suministro de ON, que se puede cambiar variando el tipo y la cantidad de metal de transición presente en la estructura de la zeolita.

Ejemplo 8Inhibición de la agregación de plaquetas

5 Existe la necesidad de mejoras en la biocompatibilidad de los materiales, por ejemplo, para sólidos en contacto con la sangre que se usan en injertos vasculares y entubaciones extracorpóreas que es necesaria en la cirugía de derivación coronaria. Se pueden producir complicaciones potencialmente mortales si la formación de trombosis (agregación y adhesión de plaquetas) es inducida por materiales que están en contacto con la sangre (Keefer, LK Destrucción de trombos, Nature Materials, 2, 357, (2003)). La formación de trombos en sistemas circulatorios sanos se inhibe de diversas maneras, incluyendo la producción de pequeñas cantidades (aproximadamente $1 \text{ pmol min}^{-1} \text{ mm}^{-2}$) de ON por las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos y por las plaquetas sanguíneas.

15 Una estrategia potencialmente importante para reducir las complicaciones postoperatorias es proporcionar dispositivos médicos que comprenden una zeolita que libera ON de acuerdo con la presente invención, imitando así la acción de las células endoteliales. Las muestras de zeolita A intercambiada con Co preparadas como se ha descrito anteriormente, en una mezcla de 75:25 % en peso con politetrafluoroetileno en polvo (PTFE) se prepararon como discos prensados mecánicamente estables de la siguiente manera.

20 La zeolita se molió con PTFE en la relación deseada (75 % de zeolita: 25 % de PTFE). La mezcla se presionó después en discos (5 mm, ~20 mg) bajo 2 toneladas durante 30 segundos.

A continuación, los discos fueron deshidratados y cargados de óxido nítrico de la misma manera que las muestras de polvo. Los ensayos con discos fabricados solo a partir de PTFE expuesto al ON no mostraron ningún suministro de óxido nítrico. Los discos de zeolita/PTFE se suspendieron después en un soporte de alambre de acero por debajo de la superficie del plasma rico en plaquetas (PRP) (preparado como se describe a continuación) en la cubeta de un agregómetro de plaquetas de cuatro canales a 37 °C. Después de un corto período de inducción (1 minuto), se inició la agregación de plaquetas y luego se midió como un cambio de turbidez (transmisión de luz) de PRP contra un blanco de plasma pobre en plaquetas (PPP). Los resultados representados como un diagrama en la Figura 8 muestran que una muestra de zeolita A/PTFE intercambiada con Co cargada de ON inhibe por completo la agregación de plaquetas (línea 2) mientras que una muestra de zeolita/PTFE intercambiada con Co que no se ha cargado de ON no muestra ninguna inhibición de la agregación (línea 3) en comparación con un control PRP en el que no se añadió zeolita ni PTFE (línea 1). Este experimento ilustra bien el potencial de la zeolita A cargada de ON para inhibir la trombosis en soluciones fisiológicas y las posibilidades de usar las zeolitas como componentes de liberación de ON en dispositivos médicos, por ejemplo, cuando se mezcla con polímeros tales como PTFE.

Preparación de plasma rico en plaquetas

40 Se extrajo sangre venosa de la fosa antecubital de voluntarios sanos (de 20-40 años de edad) en tubos citratados (concentración final de 0,38 %). Los voluntarios no habían tomado ningún medicamento que se sabe afecta a la agregación de plaquetas en los últimos 10 días. El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtuvo de la sangre completa por centrifugación (350 g; 20min; temperatura ambiente). El plasma pobre en plaquetas (PPP) se obtuvo por centrifugación adicional de PRP (1200 g; 5min; temperatura ambiente).

Ejemplo 9Acción antibacteriana de las zeolitas que contienen ON

50 Entre 1 y 10 mg de polvo de zeolita A intercambiada con cobalto cargada de ON se colocaron en el centro de cultivos de bacterias(P. aureginosa y E. coli) cultivados en agar. Después de 24 horas, se midió el área de bacterias muertas. La efectividad de la zeolita A que contiene ON fue aproximadamente de 2 a 3 veces mayor que la de la zeolita A de C que no se cargó de ON.

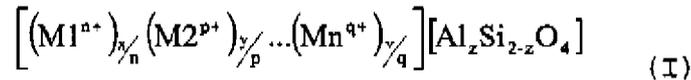
55 Las Figuras 9a y 9b muestran el efecto antibacteriano de la zeolita A intercambiada con Co cargada de ON como áreas oscuras 25 alrededor de los gramos de polvo 20. Las áreas de luz 30 son un cultivo de bacterias vivas. Las bacterias usadas son P. aureginosa (Figura 9a) y E. Coli (Figura 9b).

60 En resumen, se muestra que la presente invención tiene aplicación en el almacenamiento y liberación de ON para aplicaciones biológicas y médicas. La preparación y carga de zeolitas con óxido nítrico es relativamente fácil, y las zeolitas cargadas de ON son estables cuando se almacenan en condiciones anhidras a temperatura ambiente. El suministro de ON se produce por reacción simple con agua, y la cantidad de óxido nítrico liberado se puede adaptar alterando tanto el tipo como el número de cationes metálicos en las estructuras de zeolita. Se muestra que las zeolitas de liberación de ON de acuerdo con la presente invención inhiben la agregación de plaquetas en fluidos fisiológicos, una aplicación potencialmente importante en la prevención de trombos. Los ejemplos anteriores en el presente documento no deben interpretarse como limitantes del alcance de la presente invención, sino simplemente realizaciones representativas de la misma. Otras formas de realizar la invención serán evidentes para el experto.

REIVINDICACIONES

1. Una material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable para su uso en cirugía y/o terapia, en donde el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales.

2. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la zeolita tiene la siguiente fórmula general (I):



en la que M1 y M2... Mn son cationes metálicos de marco adicionales de elementos seleccionados del grupo que consiste en Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Ru, Rh, Co, Ni, Zn y Ag,

x oscila entre cero y nz,

y oscila entre cero y pz y

v oscila entre cero y qz;

sujeto a la condición de que $x/n + y/p + \dots + v/q = z$;

en donde

z es el número de átomos de silicio reemplazados por átomos de aluminio en el marco de la zeolita;

n+, p+ y q+ son las cargas de los cationes metálicos de marco adicionales y pueden tomar individualmente los valores de +1, +2 o +3.

3. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que la zeolita se selecciona del grupo que consiste en Ni-LTA(A), Cu-LTA(A), Co-LTA(A), Mn-LTA(A), Fe-LTA, Na-LTA(A) y Cu-PHI.

4. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en forma de un polvo o de un monolito.

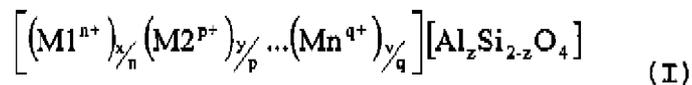
5. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho monolito se forma por compresión de un polvo de zeolita o mezclando una zeolita en polvo con un aglutinante.

6. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el aglutinante se selecciona entre aglutinantes cerámicos, aglutinantes poliméricos y otros polímeros.

7. Un material de zeolita para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior que está sellado dentro de un embalaje hermético.

8. Una preparación farmacéutica que comprende un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada, en donde el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales que comprenden óxido nítrico adsorbido de manera liberable, junto con un vehículo farmacéutico.

9. Una preparación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la zeolita tiene la siguiente fórmula general (I):



en la que M1 y M2... Mn son cationes metálicos de marco adicionales de elementos seleccionados del grupo que consiste en Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Ru, Rh, Co, Ni, Zn y Ag,

x oscila entre cero y nz,

y oscila entre cero y pz y

v oscila entre cero y qz;

sujeto a la condición de que $x/n + y/p + \dots + v/q = z$; en donde

z es el número de átomos de silicio reemplazados por átomos de aluminio en el marco de la zeolita;

n+, p+ y q+ son las cargas de los cationes metálicos de marco adicionales y pueden tomar individualmente los valores de +1, +2 o +3.

10. Una preparación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la zeolita se selecciona del grupo que consiste en Ni-LTA(A), Cu-LTA(A), Co-LTA(A), Mn-LTA(A), Fe-LTA, Na-LTA(A) y Cu-PHI.

11. Una preparación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, en la que la zeolita está en forma de un polvo o un monolito.

12. Una preparación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, en la que dicho monolito se forma por compresión de un polvo de zeolita o mezclando una zeolita en polvo con un aglutinante.

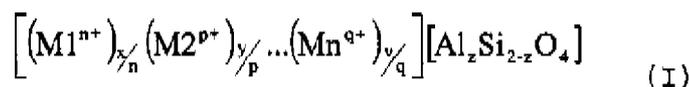
5 13. Una preparación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el aglutinante se selecciona entre aglutinantes cerámicos, aglutinantes poliméricos y otros polímeros.

10 14. Uso de un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades o afecciones médicas.

15 15. Uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que las enfermedades o las afecciones médicas que pueden tratarse incluyen infecciones de la piel, incluyendo hongos dermatofitos, leishmaniasis, virus del molusco y del papiloma e infecciones por micobacterias; aplicaciones terapéuticas en actividades anti-neoplásicas; modificación de la respuesta inmune; tratamiento de la enfermedad de Raynaud; cicatrización de heridas; modificación del pigmento de la piel; tratamiento de la reestenosis; tratamiento de la psoriasis, eccema y cáncer de piel (melanoma); la reducción de problemas de olor intenso de pies o cuerpo, y tratamiento, de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina.

20 16. Un artículo médico que comprende un material de zeolita, en el que el material de zeolita se proporciona como un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable, en el que el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales.

25 17. Un artículo médico de acuerdo con la reivindicación 16, en el que la zeolita tiene la siguiente fórmula general (I):



30 en la que M1 y M2... Mn son cationes metálicos de marco adicionales de elementos seleccionados del grupo que consiste en Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Ru, Rh, Co, Ni, Zn y Ag,
 x oscila entre cero y nz,
 y oscila entre cero y pz y
 v oscila entre cero y qz;
 sujeto a la condición de que $x/n + y/p + \dots + v/q = z$; en donde
 z es el número de átomos de silicio reemplazados por átomos de aluminio en el marco de la zeolita;
 35 n+, p+ y q+ son las cargas de los cationes metálicos de marco adicionales y pueden tomar individualmente los valores de + 1, +2 o +3.

40 18. Un artículo médico de acuerdo con las reivindicaciones 16 o 17, en el que la zeolita se selecciona del grupo que consiste en Ni-LTA(A), Cu-LTA(A), Co-LTA(A), Mn-LTA(A), Fe-LTA, Na-LTA(A) y Cu-PHI.

45 19. Un artículo médico de acuerdo con las reivindicaciones 16-18, en el que la zeolita está en forma de un polvo o un monolito.

50 20. Un artículo médico de acuerdo con la reivindicación 19, en el que dicho monolito se forma por compresión de un polvo de zeolita o mezclando una zeolita en polvo con un aglutinante.

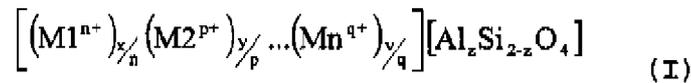
55 21. Un artículo médico de acuerdo con la reivindicación 20, en el que el aglutinante se selecciona entre aglutinantes cerámicos, aglutinantes poliméricos y otros polímeros.

60 22. Un artículo médico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16-21, en el que dicho artículo médico se elige entre una endoprótesis vascular, un catéter, un apósito para heridas, vendaje, un apósito autoadhesivo y un parche autoadhesivo.

23. Uso de un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable en una aplicación cosmética y/o de higiene personal.

24. Un producto cosmético y/o de higiene personal que comprende un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico adsorbido de manera liberable, en el que el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de marco adicionales.

25. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con la reivindicación 24, en el que la zeolita tiene la siguiente fórmula general (I):



- 5 en la que M1 y M2... Mn son cationes metálicos de marco adicionales de elementos seleccionados del grupo que
 consiste en Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Ru, Rh, Co, Ni, Zn y Ag,
 x oscila entre cero y nz,
 y oscila entre cero y pz y
 v oscila entre cero y qz;
 sujeto a la condición de que $x/n + y/p + \dots + v/q = z$.; en donde
 z es el número de átomos de silicio reemplazados por átomos de aluminio en el marco de la zeolita;
 10 n+, p+ y q+ son las cargas de los cationes metálicos de marco adicionales y pueden tomar individualmente los
 valores de +1, +2 o +3.
- 15 26. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con la reivindicación 25, en el que la zeolita se
 selecciona del grupo que consiste en Ni-LTA(A), Cu-LTA(A), Co-LTA(A), Mn-LTA(A), Fe-LTA, Na-LTA(A) y Cu-PHI.
27. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con las reivindicaciones 25 o 28 en forma de un polvo
 o un monolito.
28. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con la reivindicación 27, en el que dicho monolito se
 20 forma por compresión de un polvo de zeolita o mezclando una zeolita en polvo con un aglutinante.
29. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con la reivindicación 28, en el que el aglutinante se
 selecciona entre aglutinantes cerámicos, aglutinantes poliméricos y otros polímeros.
- 25 30. Un producto cosmético y/o de higiene personal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 24 a 29,
 que se selecciona de entre una preparación cosmética, un desodorante, preparaciones para la piel, una preparación
 para la piel antienvjecimiento, una preparación para el cabello y una preparación depilatoria.
- 30 31. Un método de liberación de óxido nítrico que comprende las etapas de
 (i) proporcionar un material de zeolita completa o parcialmente deshidratada que comprende óxido nítrico
 adsorbido de manera liberable, en donde el material de zeolita comprende uno o más cationes metálicos de
 marco adicionales;
 35 (ii) poner en contacto dicho material de zeolita con un medio en el que va a liberarse dicho óxido nítrico, en
 donde la liberación se realiza en cultivos celulares.
32. Un método de acuerdo con la reivindicación 31, en el que el medio en el que se libera el óxido nítrico es aire o un
 medio acuoso.
- 40 33. Un método de acuerdo con la reivindicación 31 o la reivindicación 32, en el que la liberación se realiza a
 temperaturas ambiente o corporal.

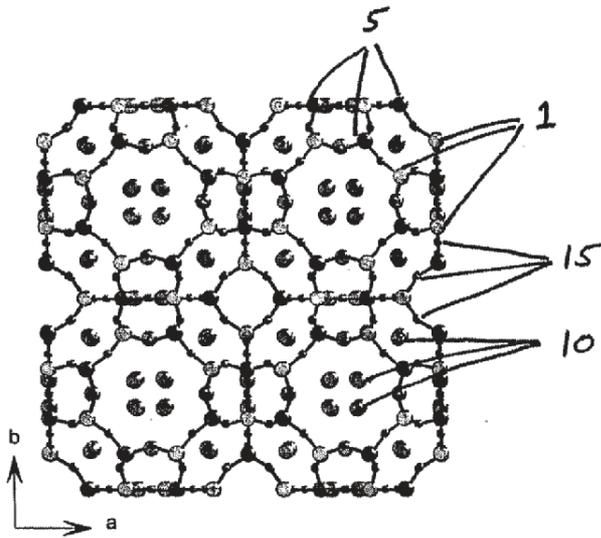


Figura 1

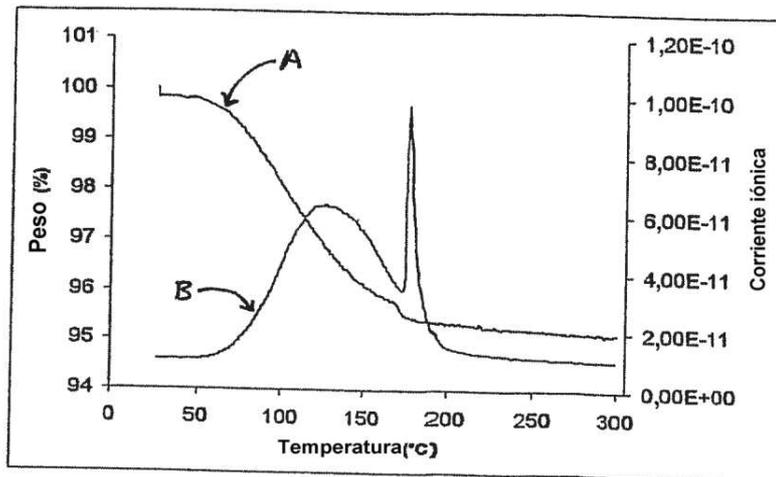


Figura 2

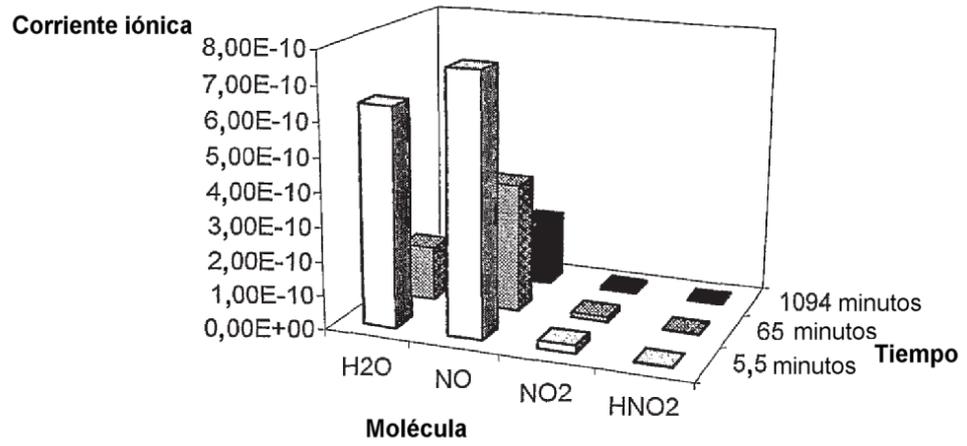


Figura 3

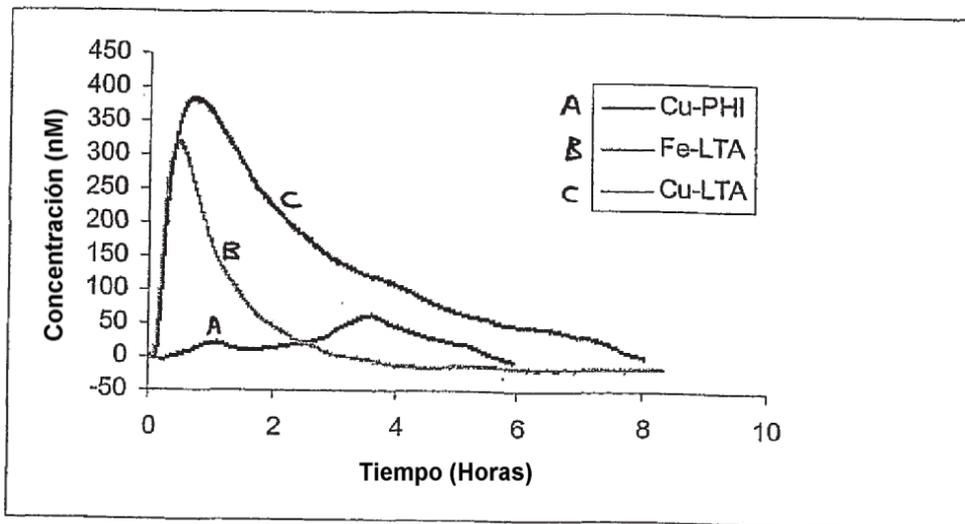


Figura 4

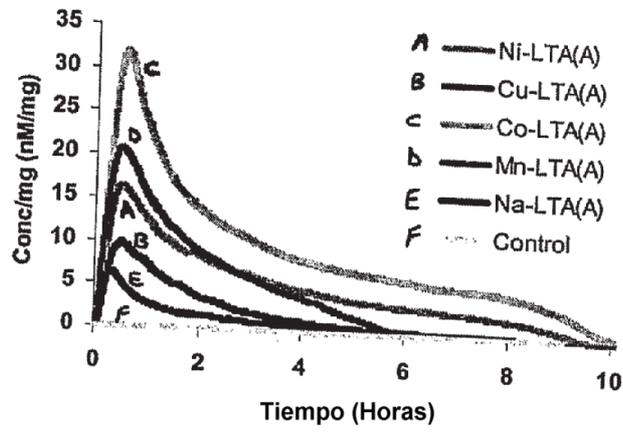


Figura 5

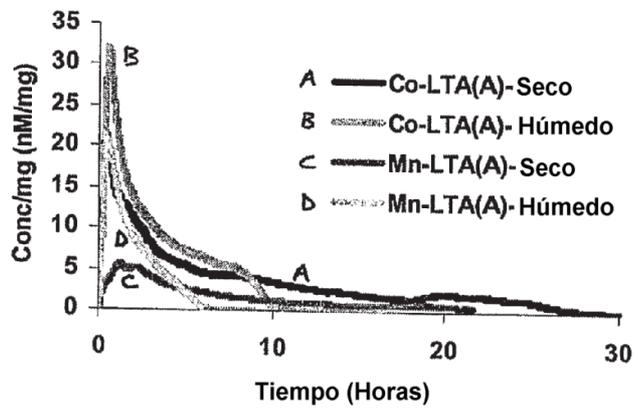


Figura 6

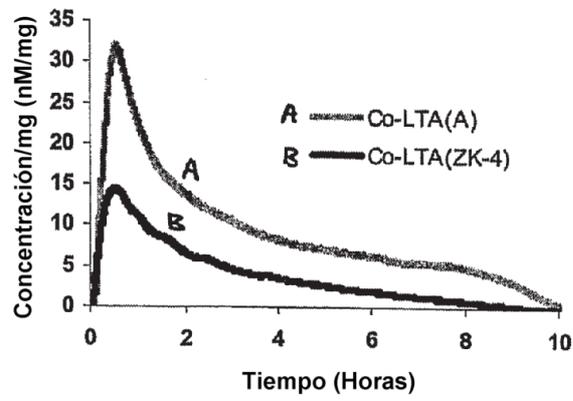


Figura 7

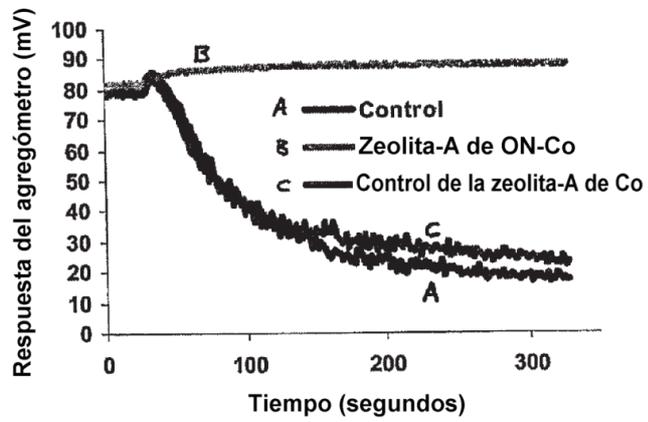


Figura 8

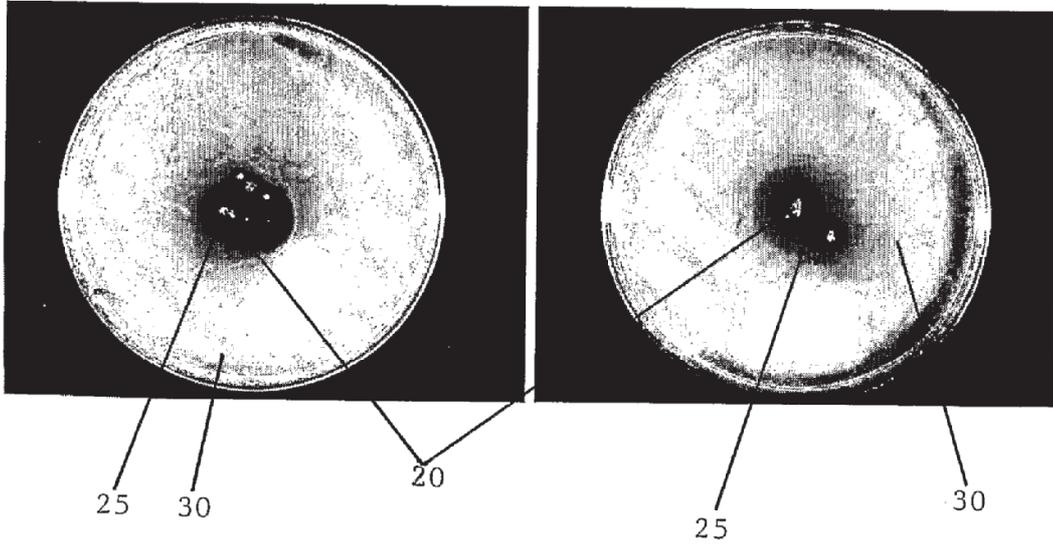


Figura 9a

Figura 9b