



TRABAJO FIN DE GRADO

“APLICACIONES FARMACÉUTICAS
DE LOS MATERIALES
ZEOLÍTICOS”

2006-2016

Salwa Regragui



TRABAJO FIN DE GRADO

“APLICACIONES FARMACÉUTICAS DE LOS MATERIALES ZEOLÍTICOS”

Salwa Regragui

Grado en Farmacia

Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

Lugar y fecha de presentación: Facultad de farmacia, 07 de julio de 2016

Departamento: Química Inorgánica

Tutoras: Marta Romero Espinosa, María Isabel Domínguez Leal

Tipología del proyecto: Revisión bibliográfica



ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	3
4. METODOLOGÍA	3
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
5.1 Generalidades	7
5.2 Empleo de materiales zeolíticos en el tratamiento de infecciones bacterianas	12
5.3 Empleo de zeolitas modificadas como excipientes en la formulación de fármacos	17
5.4 Empleo de materiales zeolíticos como adsorbentes de sustancias contaminantes	23
5.5 Empleo de zeolitas para la fabricación de biosensores	29
5.6 Empleo de materiales zeolíticos como sustancias antivíricas	32
6. CONCLUSIONES	36
7. GLOSARIO	37
8. BIBLIOGRAFÍA	38



1. RESUMEN

Las zeolitas son aluminosilicatos de estructura cristalina y microporosa. Pueden ser de origen natural u obtenido por síntesis química en el laboratorio. Incorporan en su estructura tridimensional moléculas de agua y cationes que ocupan los microporos. Estas características les confieren muchas ventajas como un gran poder de adsorción y una importante capacidad de intercambio catiónico. Además, la presencia de microporos de tamaño variable dependiendo del tipo de zeolita permite su uso como tamiz molecular. Estas propiedades químicas y estructurales hacen que las zeolitas tengan una amplia variedad de usos en el ámbito farmacéutico, donde se incorporan en fórmulas farmacéuticas como excipientes para mejorar las propiedades farmacoterapéuticas de principios activos como el diclofenaco o para potenciar el efecto de moléculas antibacterianas. Sus propiedades de adsorción y de intercambio catiónico permiten su empleo para la obtención de formas farmacéuticas de liberación controlada, en la depuración de aguas residuales contaminadas por fármacos u otros compuestos orgánicos o en la fabricación de biosensores para mejorar los métodos de monitorización de fármacos de estrecho margen terapéutico. Además de estas características, presentan varias ventajas desde el punto de vista organoléptico, puesto que las zeolitas micronizadas presentan buenas características de flujo, lo que facilita la obtención de formas farmacéuticas pulverizadas de color blanco, favoreciendo la aceptación del tratamiento por parte del paciente. Por otro lado, estos compuestos no presentan ningún efecto tóxico para el organismo y el medio ambiente y se pueden eliminar fácilmente.

En el presente trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica de los artículos publicados a lo largo de los diez últimos años, sobre las aplicaciones de los materiales zeolíticos en el ámbito farmacéutico.

Palabras clave: mineral, zeolita, aplicaciones farmacéuticas.



2. INTRODUCCIÓN

Las características estructurales y químicas de las zeolitas, así como su bajo coste y facilidad de obtención bien sea por síntesis química o por extracción en yacimientos, hacen que sea el material de elección para la investigación de nuevas estrategias de formulación farmacológicas, la mejora de varios tratamientos y la obtención de sistemas de prevención del contagio de enfermedades de gran impacto sanitario.

3. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

El objetivo de esta revisión bibliográfica es el estudio de la evolución de los avances científicos que, en cuanto al empleo de los materiales zeolíticos, se han realizado a lo largo de los diez últimos años.

4. METODOLOGÍA

La estrategia de búsqueda se basa en un estudio de los artículos científicos publicados a lo largo de los diez últimos años en las bases de datos “Web of Science” y “Science Direct”.

En primer lugar se definió el periodo de publicación de los artículos científicos entre el año 2006 y 2016. A continuación se establecieron una serie de descriptores para realizar la búsqueda bibliográfica: “zeolite”, “zeolitic material”, “zeolite pharmaceutical application”. En la base de datos “Web of Science” se obtuvieron 54.169 resultados empleando como único descriptor el término “zeolite”, 1596 resultados empleando el descriptor “zeolitic material” y 61 resultados empleando el descriptor “zeolite pharmaceutical application”. Empleando los mismos descriptores en la base de datos “Science Direct” se obtuvieron respectivamente 42.192, 5261 y 3541 resultados.

La figura 1 representa el número de artículos encontrados en ambas bases de datos empleando el descriptor “zeolite pharmaceutical application” en función del año de publicación. Aunque para la “Web of Science” no se observa una tendencia clara, quizá debido al escaso número de publicaciones encontradas con este descriptor, en “Science Direct” se observa un aumento progresivo del número de publicaciones relacionadas

con la aplicación farmacéutica de los materiales zeolíticos, lo que pone de manifiesto el creciente interés en la investigación científica y farmacéutica sobre el tema de estudio.

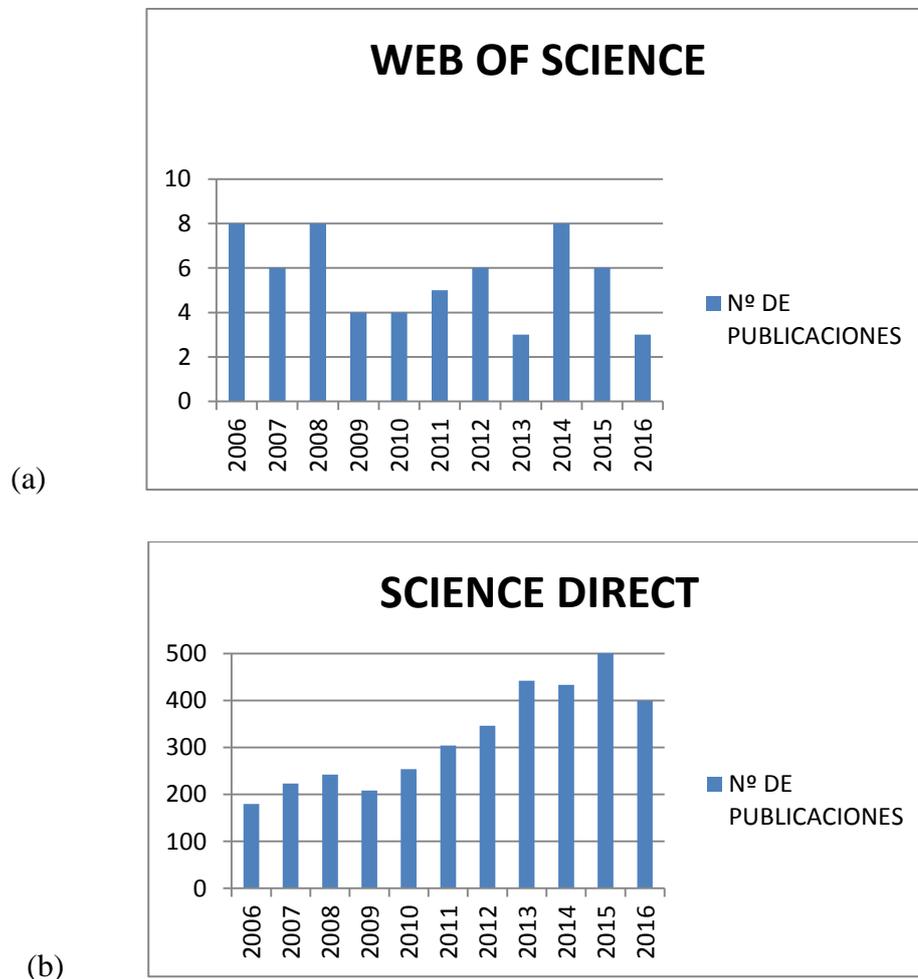


Figura 1. Número de publicaciones relacionadas con la aplicación farmacéutica de los materiales zeolíticos (descriptor: “zeolite pharmaceutical application) en función del año en las bases de datos “Web of Science” (a) y “Science Direct” (b).

Con el objetivo de refinar los resultados obtenidos, se ha establecido una serie de criterios para la selección de los artículos más relevantes.

- El año de publicación del artículo: situado entre el año 2006 y 2016, periodo en el que se centra la revisión bibliográfica.
- El título del artículo: relevante y útil para el trabajo de revisión.
- Resumen y resultados: tienen que proporcionar información pertinente y relacionada con el tema.



- La rama de investigación: constituye un criterio decisivo a la hora de seleccionar los artículos más relacionados con el tema de esta revisión.

Por lo tanto, se procedió a la delimitación de las ramas de investigación relacionadas con el tema de estudio. Dicha selección se realizó en función de: la aplicabilidad de los artículos y resultados al ámbito farmacéutico en cuanto a la búsqueda de nuevos tratamientos, la elaboración de nuevas formas farmacéuticas, la recurrencia de los temas investigados y los avances realizados gracias a las propiedades de los materiales zeolíticos. Las ramas seleccionadas en la base de datos Web of Science fueron las siguientes: farmacia y farmacología, química, microbiología, bioquímica y biología molecular, ciencia de los materiales, y tecnología de laboratorio médico obteniéndose un total de 41 resultados. Se observó la recurrencia de publicaciones relacionadas con: la rama de farmacología y más concretamente con el uso de materiales zeolíticos como excipientes para la elaboración de formas farmacéuticas de liberación controlada y selectiva principalmente para el caso del diclofenaco, el empleo de los materiales zeolíticos para la depuración de aguas residuales contaminadas por fármacos u otros compuestos orgánicos, su empleo en tratamientos antibacterianos y como sustancias antivíricas y por último, su uso para la fabricación de biosensores. Con el objetivo de comparar estos resultados con los disponibles en la base de datos Science Direct y teniendo estas observaciones en cuenta se establecieron los descriptores siguientes: “zeolite pharmaceutical application and diclofenac” obteniéndose 80 resultados, “zeolite pharmaceutical application and antibacterial” obteniéndose 329 resultados, “zeolite pharmaceutical application and wastewater” obteniéndose 915 resultados, “zeolite pharmaceutical application and sensor” obteniéndose 630 resultados y por último “zeolite pharmaceutical application and antiviral” obteniéndose 102 resultados. El número de publicaciones relacionadas con la aplicación farmacéutica de los materiales zeolíticos encontradas en la base de datos Science Direct en función del tema de estudio por cada año se representa en la figura 2. No se representan los resultados encontrados en la base de datos Web of Science porque debido a su escasez no se puede apreciar la evolución de la investigación a lo largo de los años.

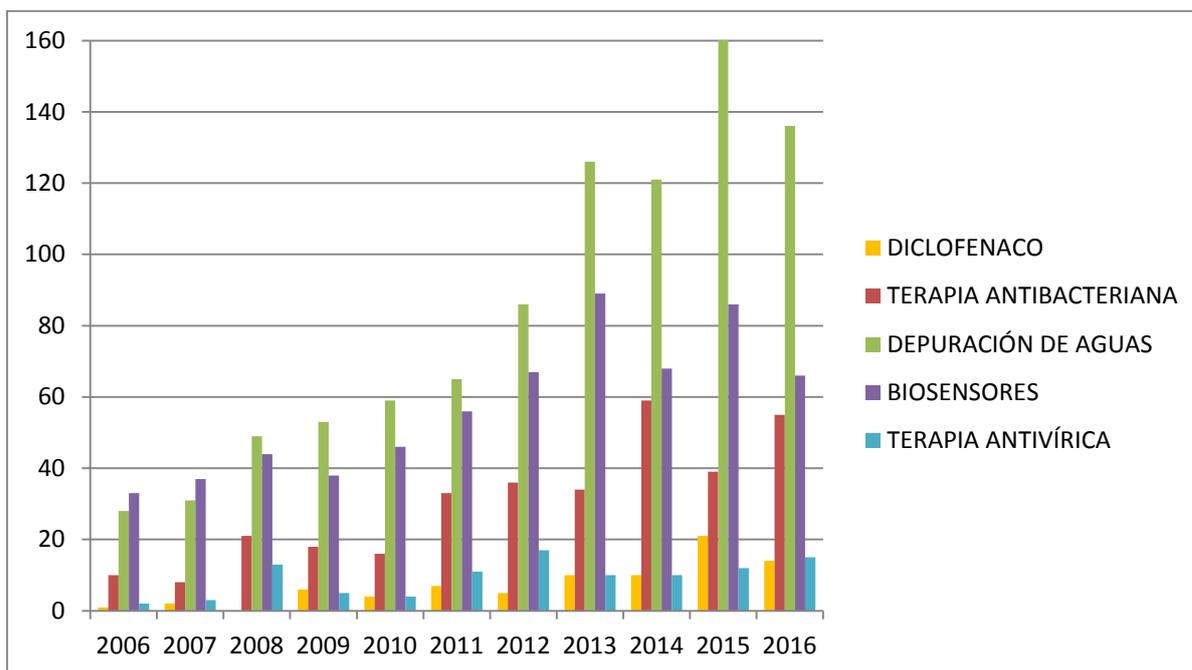


Figura 2. Número de publicaciones por año en función del tema encontradas en la base de datos Science Direct.

A escala global se puede observar un incremento progresivo y general del número de publicaciones a lo largo de los años. Estos resultados ponen de relieve el importante trabajo de investigación llevado a cabo en el ámbito de la farmacología (caso del diclofenaco) y la microbiología con el objetivo de mejorar las características de los tratamientos ya existentes, reducir los efectos secundarios observados, y mejorar las terapias antibióticas de uso frecuente teniendo como principal objetivo la salud de los pacientes. Se observa también un aumento importante del número de publicaciones relacionadas con el empleo de materiales zeolíticos para la depuración de aguas contaminadas poniendo de manifiesto el riesgo sanitario que supone este fenómeno. Se observa además una interesante evolución del número de publicaciones relacionadas con el empleo de los materiales zeolíticos para la obtención de biosensores y sustancias antivíricas a lo largo de los años, integrada a la evolución general de los avances científicos en materia de salud.

Algunas publicaciones y referencias condujeron a la selección de artículos con fechas de publicación anteriores al rango de fechas establecido previamente, debido a su gran interés científico.

La etapa final de este proceso de selección consistió en la realización de una lectura crítica de los artículos seleccionados para descartar los menos relevantes recogiendo en la presente memoria información sobre los trabajos considerados como de mayor interés.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Generalidades

El término zeolita, del griego “zeo” (hervir) y “lithos” (piedra) designa una familia de minerales aluminosilicatos descubiertos en el siglo XVIII por el químico sueco Fredrik Cronstedt.

Las zeolitas pueden ser de dos tipos: naturales, presentes en yacimientos y rocas volcánicas o sintéticas, obtenidas mediante reacciones químicas en el laboratorio. En ambos casos se caracterizan por tener una estructura tridimensional cristalina, en la cual se incorporan moléculas de agua y cationes. La fórmula química general de una zeolita es: $M_{2/n} [(AlO_2)_x (SiO_2)_y] \cdot m \cdot H_2O$ donde M representa cationes de valencia n (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ ...), x e y representan respectivamente el número de tetraedros de óxido de aluminio y silicio y m representa el número de moléculas de agua (Georgiev y cols., 2009). Los tetraedros de óxido de aluminio y silicio se unen entre sí mediante átomos de oxígeno, originando anillos de 4, 8, 10 o 12 miembros, que dan lugar a una red tridimensional caracterizada por la presencia de pequeños poros cuyo tamaño puede variar dependiendo del tipo de zeolita (figura 3) (Portilla, 2013).

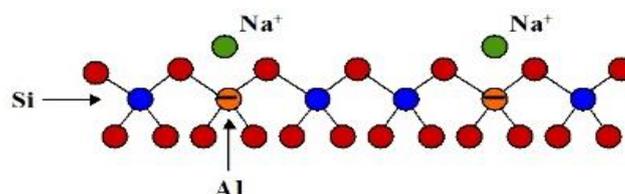


Figura 3. Tetraedros de óxido de silicio y aluminio unidos mediante átomos de oxígeno (Portilla, 2013).



Estas características estructurales confieren a las zeolitas una serie de propiedades químicas que se describen a continuación (Costafreda, 2014):

- Gran capacidad de adsorción de agua, cationes y pequeñas moléculas a nivel de los microporos, cuyo tamaño depende del tipo de zeolita y puede alcanzar hasta 12 Å de diámetro.
- Importante capacidad de intercambio catiónico, dependiendo del tipo de cationes presentes en el medio, de su tamaño y concentración.
- Hidratación reversible.
- La presencia de microporos les confiere elevadas áreas superficiales, de hasta cientos de m² por gramo de mineral. La estructura microporosa de las zeolitas hace también que puedan actuar como tamiz molecular, permitiendo únicamente el paso de moléculas cuyo tamaño sea menor al diámetro de microporo.
- Alta estabilidad térmica.

Las familias de zeolitas naturales más empleadas en la industria farmacéutica y química son la mordenita (Figura 4), la clinoptilolita (Figura 5), la chabazita (Figura 6), la faujasita (zeolita tipo Y) (Figura 7) y la phillipsita (Figura 8). Las zeolitas sintéticas más empleadas en la industria farmacéutica son la zeolita A (LTA) (Figura 9) y la zeolita pentasil o ZSM-5 (Figura 10).

A continuación se describen las estructuras de aquellas zeolitas de las que se tratará a lo largo de la revisión.

La mordenita es una zeolita natural con dos tipos de microporos, de tamaño y forma diferentes (Ridder y cols., 2012) (figura 4).

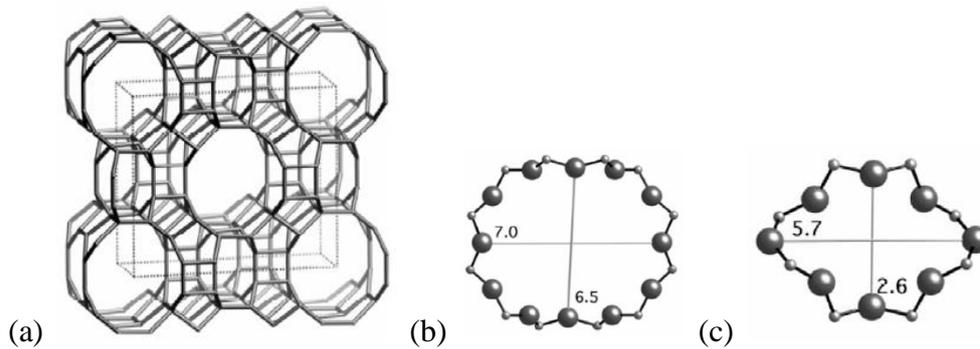


Figura 4. Estructura de la mordenita (a), anillo de 12 miembros (b), anillo de 8 miembros (c). (Ridder y cols., 2012).

La clinoptilolita es una zeolita natural que presenta tres tipos de microporos: microporos formados por anillos de 10 miembros y dos tipos de microporos formados por anillos de 8 miembros con dimensiones distintas (Figura 5).

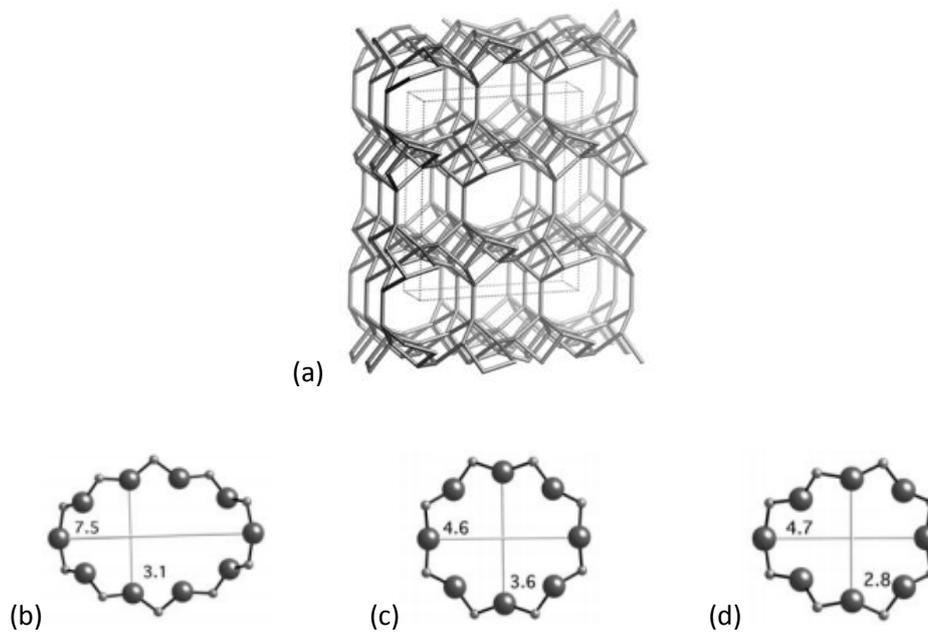


Figura 5. Estructura de la clinoptilolita (a), anillo de 10 miembros (b), anillos de 8 miembros (c y d).

La chabazita es una zeolita natural que presenta microporos formados por anillos de 8 miembros (Figura 6).

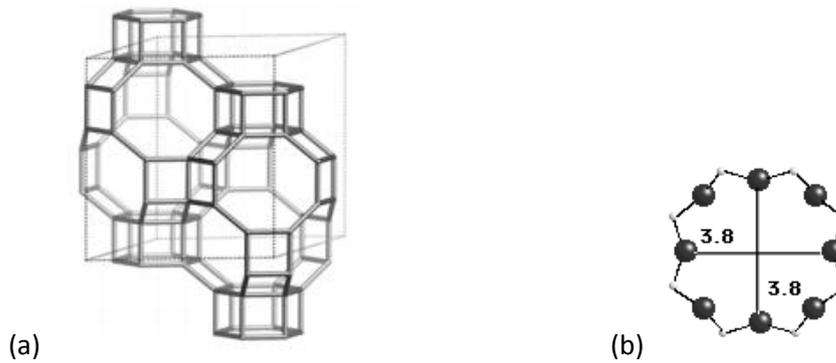


Figura 6. Estructura de la chabazita (a), anillo de 8 miembros (b).

La faujasita (zeolita tipo Y) es una zeolita natural con un único tamaño de poro, formado por un anillo de 12 miembros (Ridder y cols., 2012).

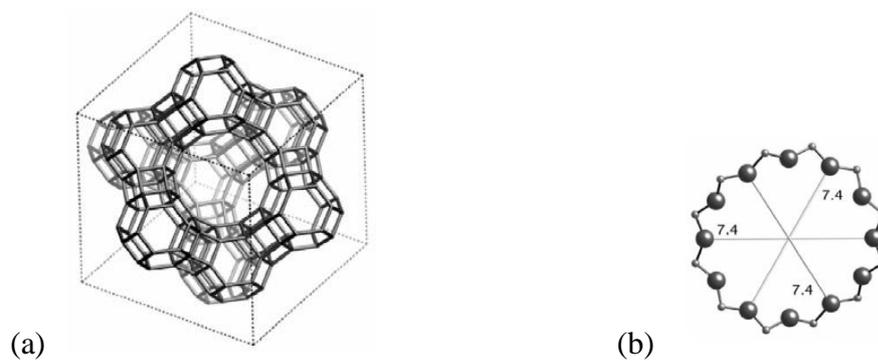


Figura 7. Estructura de la faujasita (a), anillo de 12 miembros (b) (Ridder y cols., 2012).

La phillipsita es una zeolita natural que presenta tres tipos de microporos formados por anillos de 8 miembros con distintas dimensiones (Figura 8).

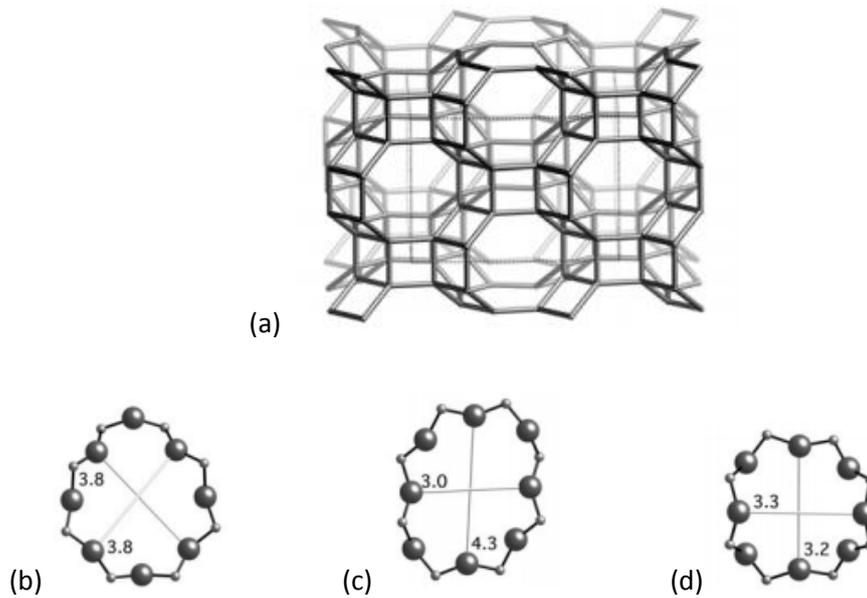


Figura 8. Estructura tridimensional de la Phillipsita (a), anillos de 8 miembros (b, c y d).

La zeolita A o zeolita Linde tipo A (LTA) es una zeolita sintética, que posee una capacidad de intercambio muy alta para los iones calcio y magnesio. Presenta anillos de 8 miembros (Figura 9).

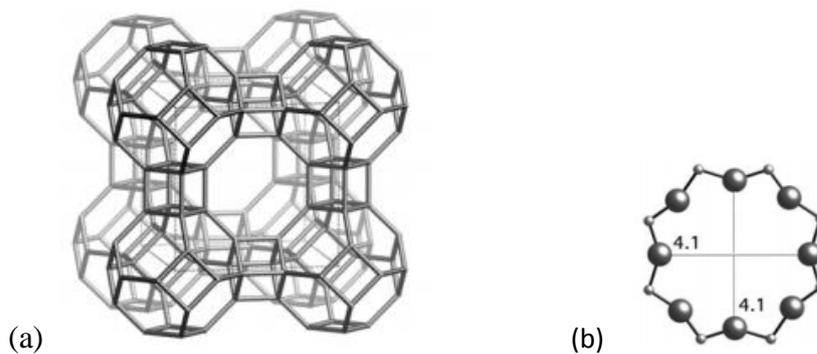


Figura 9. Estructura de una zeolita A (a), anillo de 8 miembros (b).

Las zeolitas ZSM (también llamadas zeolitas pentasil) se caracterizan por tener en su estructura un solo tipo de microporos formados por anillos de 10 miembros (Figura 10).

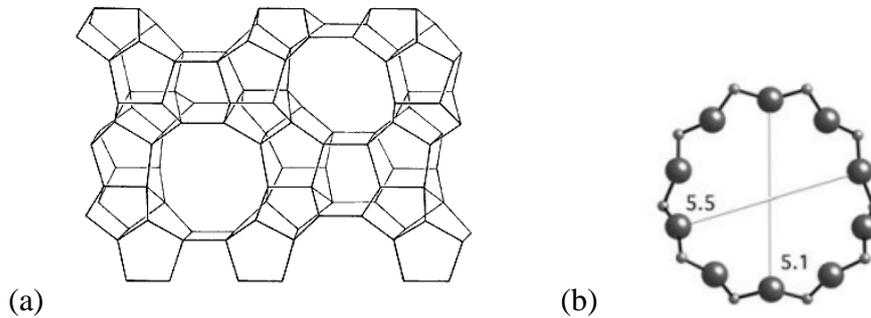


Figura 10. Estructura cristalina de una zeolita ZSM-5 (pentasil) (a) formada por anillos de 10 miembros (b).

Al ser sustancias poco tóxicas, fácilmente asequibles y de bajo coste y por las ventajas que proporcionan sus características químicas y estructurales, las zeolitas, sean naturales o modificadas, presentan una amplia diversidad de uso, puesto que se emplean en el tratamiento y la purificación de aguas residuales, para el ablandamiento de aguas industriales y domésticas, como soporte en el almacenamiento de desechos radiactivos o como catalizadores en la industria química.

Este trabajo se centrará principalmente en las aplicaciones farmacéuticas de los materiales zeolíticos investigadas a lo largo de los diez últimos años.

5.2. Aplicación de materiales zeolíticos en el tratamiento de infecciones bacterianas

Varios estudios como el de Nagy y cols., (2011) o Anghel y cols., (2012) entre otros, han demostrado la capacidad antibacteriana de derivados zeolíticos. Esas propiedades se deben principalmente a las características estructurales y químicas que presentan estos minerales, lo que hace posible su empleo para la formulación de fármacos dirigidos al tratamiento de infecciones bacterianas.

Un ejemplo de infección bacteriana de gran incidencia en la población son las caries dentales. La formación de caries dentales constituye un problema de salud muy frecuente en el mundo actual. Una de las estrategias preventivas se basa en la educación sanitaria de la población, aunque sea necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos antibacterianos más efectivos.



Se ha demostrado la actividad antibacteriana de una zeolita de plata, compuesto derivado de la zeolita tipo A, sobre los principales patógenos bucodentales responsables de la formación de caries: *Porphyomonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus mutans*, y *Actinomyces viscosus* entre otros, mediante el cálculo de la CMI* (concentración mínima inhibitoria) (Kawahara y cols., 2000).

Con el objetivo de demostrar y comprobar la actividad bactericida de este derivado zeolítico, se realizan una serie de pruebas de susceptibilidad de los principales patógenos bucodentales frente a una zeolita tipo A unida a cationes plata Ag^+ mediante fuerzas electrostáticas.

Se introducen dos alícuotas de 1.10^7 células/ml de células bacterianas en un caldo BHI* con zeolita unida a cationes Ag^+ y en otro con zeolita A respectivamente, manteniéndose en dilución bajo agitación suave.

En primer lugar se evalúa la velocidad de liberación de los iones Ag^+ adsorbidos en la zeolita una vez en el caldo BHI. Este parámetro constituye un dato importante en la potencial eficacia antibacteriana puesto que los iones Ag^+ presentan actividad bactericida. Se preparan 5 tubos con 5 concentraciones distintas de cationes Ag^+ unidos a zeolita A en caldo BHI. A intervalos de tiempo determinados se centrifugan los tubos y se analiza la cantidad de iones Ag^+ libre en el medio. Los resultados demuestran que a cualquier concentración de iones Ag^+ unidos a zeolita, aproximadamente el 75% de Ag^+ contenido en el material se encuentra libre en el sobrenadante. Estos resultados indican que el proceso de liberación de los iones Ag^+ es relativamente eficaz. Los iones Ag^+ se liberan de la zeolita mediante un proceso de intercambio catiónico con otros cationes (Figura 11). Por lo tanto, la cantidad de Ag^+ liberada dependerá de la proporción de cationes presentes en el caldo. Por otro lado, el mismo estudio llevado a cabo en medio acuoso demuestra que los cationes Ag^+ no se liberan.

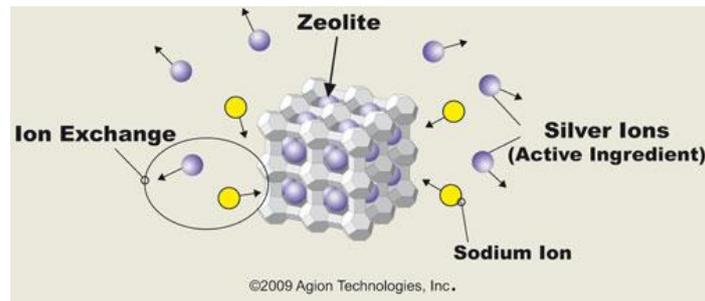


Figura 11. Proceso de intercambio catiónico entre iones Ag^+ y iones Na^+ .

En cuanto a la actividad antibacteriana, el valor de CMI obtenido se encuentra dentro de un rango muy amplio (256-2048 $\mu\text{g/ml}$). Este resultado pone de manifiesto la capacidad de la zeolita de plata para inhibir el crecimiento de microorganismos poco patógenos a baja concentración (256 $\mu\text{g/ml}$) como en el caso de *Porphyromonas gingivalis*, así como su capacidad para inhibir el crecimiento de microorganismos muy patógenos como *Staphylococcus mutans* a mayor concentración (2048 $\mu\text{g/ml}$) y en condiciones de anaerobiosis*. Estos resultados demuestran la poca selectividad de la zeolita de plata frente a amplia gama de microorganismos bucales (Tabla 1).

Bacteria	SZ
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ^a	
GAI 7802	256
381 ^b	512
1992 ^b	512
W-50 ^b	256
<i>Prevotella intermedia</i> ^a	
ATCC25611	256
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	
ATCC29522	512
ATCC29524	512
NCTC9710	256
Y4	256
99 ^b	256
<i>Streptococcus mutans</i>	
NCTC10449	2048
<i>Streptococcus sanguis</i>	
ATCC10556	1024
<i>Actinomyces viscosus</i>	
IFM1927	1024

Tabla 1. Valores de CMI obtenidos para los distintos microorganismos patógenos en presencia de zeolita de plata (SZ).

Se puede deducir que la combinación de cationes Ag^+ con un mineral sintético como la zeolita A presenta varias ventajas, puesto que el ion Ag^+ resulta ser efectivo frente a



bacterias y no genera resistencia. Además, la zeolita es un material seguro, también empleado en la formulación de pastas dentífricas como partícula pulidora, lo que podría constituir una alternativa interesante para la formulación de tratamientos antimicrobianos frente a infecciones bucodentales (Kawahara y cols., 2000).

A parte de las infecciones bucodentales, las infecciones bacterianas cutáneas representan también un grupo importante de infecciones microbianas muy extendidas entre la población. Por ese motivo, interesa investigar nuevas alternativas para mejorar la eficacia de los tratamientos antimicrobianos.

Entre los estudios publicados en relación al empleo de materiales zeolíticos en terapias antibacterianas, como el de Anghel y cols (2012) que estudia el efecto potenciador de las zeolitas en las terapias antibióticas o el de Krishnani y cols (2012) que demuestra el poder bactericida de las zeolitas de plata frente a bacterias altamente patógenas, destaca el de Cerri y cols (2004), que evalúa la eficacia antibacteriana de la eritromicina unida a una zeolita natural micronizada* en el tratamiento tópico del acné, infección bacteriana causada por el microorganismo *Propionibacterium acné*. La zeolita empleada es la clinoptilolita, un tipo de mineral de la clase de los tectosilicatos*.

El fármaco que se pretende obtener consiste en una combinación de zinc y eritromicina que potencia la reducción de lesiones inflamadas características de esta infección cutánea, puesto que el zinc presenta buenas propiedades cicatrizantes. Además, el complejo zinc-eritromicina evita el desarrollo de resistencia frente a *P.acnés*.

La gran inestabilidad de la eritromicina en disolución y la necesidad de combinarla con zinc, hacen que el uso de zeolita micronizada como soporte y sistema portador-liberador del principio activo sea la mejor alternativa, por el poder adsorbente y la capacidad de intercambio catiónico que presenta.

La formulación de este fármaco implica varios pasos. En primer lugar, es muy importante asegurarse que el mineral tenga una composición homocatiónica cargada con zinc, para evitar la liberación simultánea de otros cationes en la piel. El control de esta etapa de la formulación se realiza basándose en la capacidad de intercambio catiónico

sodio-zinc de la zeolita. Se pone en contacto el mineral sólido con una disolución de zinc, teniendo lugar la reacción de intercambio catiónico siguiente:



Una vez adsorbidos los cationes zinc se procede a la micronización del mineral con el fin de aumentar la superficie de contacto hasta 30,2 m²/g.

A continuación se realiza la incorporación del antibiótico (eritromicina), que se une a las moléculas de zinc mediante dispersión de la zeolita micronizada en una disolución etanólica de eritromicina y posterior desecación en rotavapor.

Los estudios de cinética de adsorción y liberación demuestran que se trata de un proceso tiempo-dependiente. El 85% de la eritromicina se adsorbe a la zeolita por unión al Zn²⁺, y el 82% del complejo Zinc-eritromicina se encuentra libre en los primeros 30 minutos. Al final del proceso, el 97% de principio activo se encuentra libre en el medio, lo cual confirma que la velocidad de liberación del principio activo adsorbido en el mineral es una variable tiempo-dependiente (Figura 12) (Cerri y cols., 2004) (Nagy y cols., 2011).

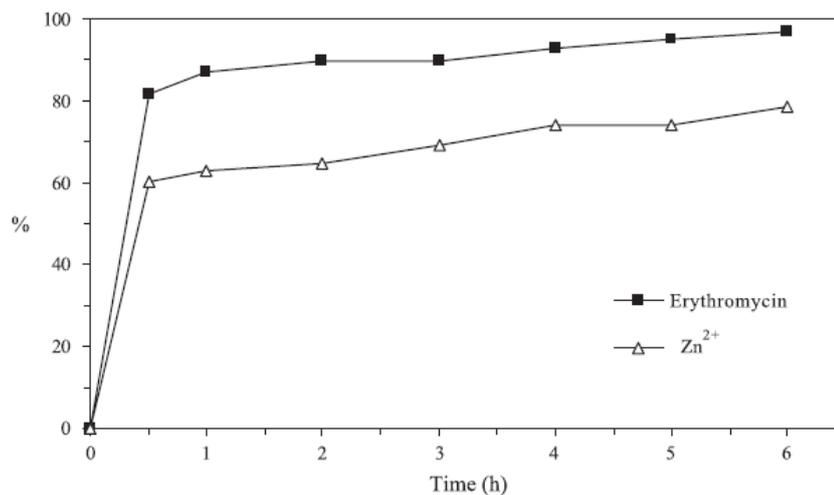


Figura 12. Cinética de liberación del zinc y de la eritromicina adsorbidos a la zeolita micronizada (Cerri y cols., 2004). La gráfica representa el porcentaje de eritromicina y zinc liberados en función del tiempo.

Una de las principales ventajas que presenta el uso de una zeolita en la formulación del fármaco es la baja selectividad que presenta este mineral. Esta característica contribuye



a la rápida liberación de las partículas de zinc y de eritromicina adsorbidos sobre el mineral, garantizando una acción terapéutica relativamente rápida.

La micronización del mineral constituye un paso imprescindible puesto que permite aumentar la superficie de contacto con el principio activo, y por lo tanto aumentar la proporción de principio activo adsorbido.

Además de las propiedades de adsorción que permiten la formulación de un tratamiento antimicrobiano eficiente, el empleo de una zeolita en polvo de color blanco permite promover la buena aceptación y tolerancia del paciente al fármaco.

Puede concluirse que la alta capacidad de adsorción y de intercambio catiónico que presenta la zeolita permite el desarrollo y la formulación de un tratamiento antiacnéico de aplicación tópica con rápida liberación del principio activo, cuyas características organolépticas permiten conseguir buena aceptación y adhesión al tratamiento por parte del paciente.

5.3. Empleo de zeolitas modificadas como excipientes en la formulación de fármacos.

La inocuidad de las zeolitas y su gran capacidad de adsorción hacen de estos materiales unos candidatos interesantes en el desarrollo de formas farmacéuticas de liberación controlada, con el objetivo principal de mejorar las características farmacológicas y farmacodinámicas de algunos principios activos como el diclofenaco, antiinflamatorio no esteroideo (AINE) potente, de vida media corta y con gran incidencia de efectos adversos. La zeolita se emplea como sistema portador-liberador del principio activo, por la gran capacidad de adsorción y la gran superficie de contacto que proporciona.

Con el fin de obtener un sistema de liberación controlada del principio activo ((Krajisnik y cols., 2011), (Krajisnik y cols., 2013) y (De Gennaro y cols., 2015)), se realiza una modificación química que consiste en someter una clinoptilolita, zeolita natural, a un tratamiento químico con un tensioactivo catiónico como el cloruro de cetilpiridinio (CPC) con el objeto de aumentar el carácter hidrofóbico del mineral, de



manera que la afinidad por moléculas orgánicas como el diclofenaco sódico (DS) sea mayor.

Los resultados obtenidos indican que el modelo de adsorción del tensioactivo sobre la zeolita puede variar en función de la concentración. A una concentración inferior a la capacidad externa de intercambio catiónico de la zeolita, el modelo de adsorción se caracteriza por la formación de una monocapa en la interfase sólido-líquido (figura 13 a y b). El tensioactivo catiónico adsorbido en la superficie de la zeolita crea una capa orgánica en la superficie de la zeolita, inicialmente negativa. Como consecuencia, la carga final es menos negativa que inicialmente. En cambio, cuando la concentración de tensioactivo es mayor que la concentración micelar crítica*, se forma una bicapa en la superficie de la zeolita que hace posible la unión del principio activo. (Krajisnik y cols., 2010) (Figura 13 c y d).

El segundo paso consiste en evaluar el grado de adsorción del principio activo en la zeolita, una vez modificada.

El diclofenaco sódico (DS) es una molécula hidrófoba, muy poco soluble en agua. Por ese motivo se espera que las moléculas de diclofenaco queden adsorbidas sobre la fase hidrofóbica proporcionada por el surfactante sobre la superficie del mineral. Además, se trata de un principio activo con propiedad de ácido débil y a pH ácido se encuentra en su forma ionizada (aniónica). Se ha demostrado que las zeolitas naturales carecen de afinidad por el diclofenaco sódico debido a la carga negativa que presentan y a la presencia de cationes inorgánicos en la superficie (calcio, magnesio, sodio, y potasio).

Los resultados obtenidos demuestran que la formación de bicapas en la superficie de la zeolita modificada le confieren una carga superficial, que hace posible la unión de aniones y repele a los cationes. La formación de bicapas se logra empleando un exceso de surfactante (Figura 13).

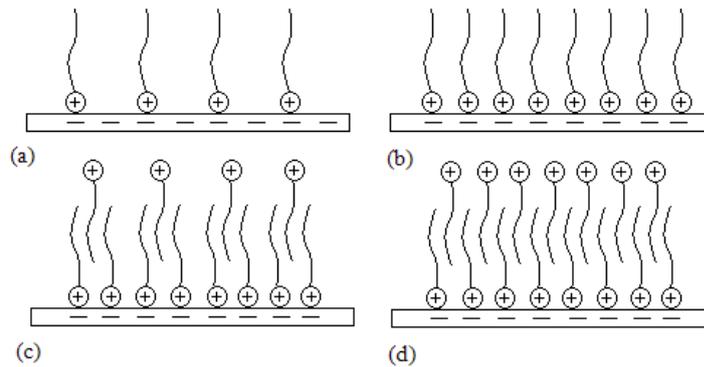


Figura 13. Comportamiento del tensioactivo en la superficie de la zeolita en función de la concentración: (a y b) cantidad insuficiente de surfactante, formación de una monocapa de tensioactivo; (c y d) exceso de tensioactivo, formación de una bicapa en la superficie de la zeolita (Quiroz JM, 2003).

Como consecuencia, la concentración de cloruro de cetilpiridinio es un parámetro importante, puesto que los resultados obtenidos indican que a menor concentración de CPC se forma una monocapa y la interacción con el DS es hidrófoba (ZCPC-10). A mayores concentraciones (ZCPC-20 y ZCPC-30), se forma una bicapa y se dan ambas interacciones, adsorbiéndose mayor proporción de diclofenaco sódico (Figura 14). (Krajisnik y cols., 2011).

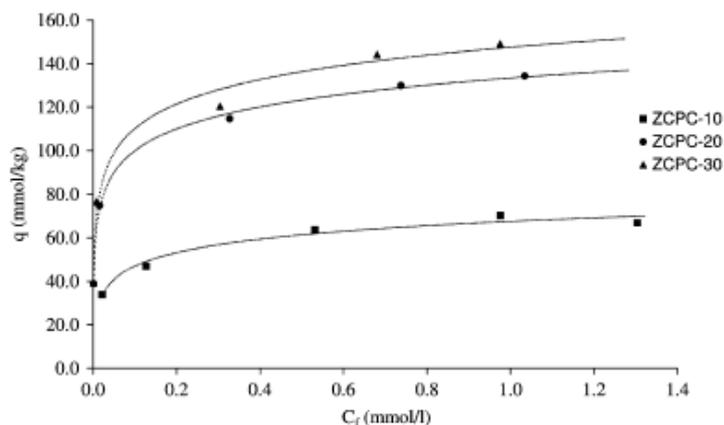


Figura 14. Cantidad de diclofenaco adsorbido (mmol/g) en función de la concentración de cloruro de cetilpiridinio (mmol/L). ZPC-10, ZPC-20 y ZPC-30 corresponden a las zeolitas tratadas respectivamente con una concentración de cloruro de cetilpiridinio igual al 100%, 200% y 300% de la capacidad de intercambio catiónico externo de la zeolita.

La adsorción del principio activo se ve además favorecida por la existencia de interacciones hidrofóbicas entre el diclofenaco sódico y la cadena alquílica del cloruro de cetilpiridinio (Figura 15).

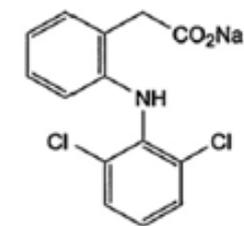


Figura 15. Estructura química de la molécula de diclofenaco sódico.

Los resultados ponen de manifiesto que el uso previo de un tensioactivo como el cloruro de cetilpiridinio hace posible el empleo de una zeolita natural como sistema portador-liberador del diclofenaco sódico, para la obtención de fármacos de liberación controlada (Gennaro y cols., 2015). La necesidad de incluir el diclofenaco en un sistema de liberación controlada surge del hecho de que este principio activo sea un AINE ampliamente usado, con un efecto antiinflamatorio muy potente que produce como consecuencia un daño importante a nivel gastrointestinal, además de tener una vida media relativamente corta. Como consecuencia su formulación como fármaco de liberación sostenida podría ser una alternativa interesante para minimizar esos efectos adversos.

Con el objetivo de determinar la mejor formulación, Serri y cols (Serri y cols., 2016) analizaron 3 tipos de zeolitas modificadas mediante un tratamiento con cloruro de cetilpiridinio: clinoptilolita, chabazita y philipsita, que presentan estructuras cristalinas, ratios Si/Al y tamaño de microporo distintos.

La adsorción del diclofenaco sódico sobre los tres minerales se lleva a cabo de la misma forma que en el experimento anterior, por inmersión del mineral modificado en una disolución de diclofenaco sódico a pH de 7,4 y temperatura ambiente. Con el objetivo de evaluar y simular la cinética de liberación del principio activo a nivel gástrico, se introducen los tres minerales con el principio activo adsorbido en una disolución cuya composición es similar a la del fluido intestinal.



Los resultados obtenidos confirman que el proceso de adsorción del diclofenaco sódico es relativamente rápido, puesto que al cabo de 5 minutos se alcanza el equilibrio de adsorción.

En el caso de la clinoptilolita y la philipsita, el mecanismo de adsorción se divide en dos etapas:

1. En primer lugar se produce un intercambio aniónico en la superficie del material
2. A continuación se produce la adsorción del principio activo a nivel interno de la bicapa formada por el tensioactivo.

En cambio, en la chabazita la adsorción se produce en un solo paso y únicamente en la superficie del material, por intercambio aniónico. Esto explica la baja absorción de diclofenaco (Tabla 2) (Serri y cols., 2016).

Sample	Mean diameter (μm) \pm SD	CI (%)	DS adsorption efficiency %
SMNZ-CLI	8.00 \pm 0.87	21.9	24.5
SMNZ-PHI	11.9 \pm 1.76	30.2	22.5
SMNZ-CHA	9.70 \pm 0.64	50.9	10.6

Tabla 2. Porcentaje de diclofenaco sódico (DS) adsorbido en las tres zeolitas modificadas con cloruro de cetilpiridinio: clinoptilolita (SMNZ-CLI), philipsita (SMNZ-PHI) y chabazita (SMNZ-CHA) (Serri y cols., 2015).

El estudio del perfil cinético de las tres zeolitas demuestra que el tiempo total de adsorción del principio activo es de 5 horas. La liberación del diclofenaco sódico adsorbido se produce en dos etapas. Durante la primera hora, se libera el 40% del principio activo adsorbido. A continuación se sigue liberando el principio activo, más lentamente, durante aproximadamente 5 horas. Las curvas de liberación indican además que este proceso es más rápido en el caso de la clinoptilolita, seguida de la philipsita, siendo la chabazita el mineral que más lentamente libera el diclofenaco sódico (Figura 16) (Serri y cols., 2016) y (De Gennaro y cols., 2015).

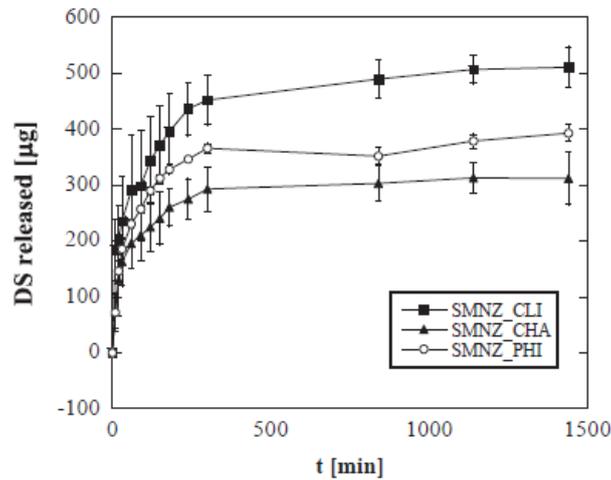
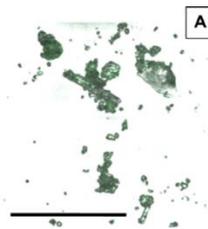


Figura 16. Perfil de liberación del diclofenaco sódico adsorbido en los tres minerales modificados con cloruro de cetilpiridinio (clinoptilolita, chabazita y philipsita), a 37°C (Serri y cols., 2016).

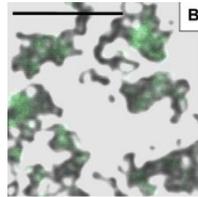
El proceso de liberación es desencadenado por un intercambio iónico que se divide en dos procesos: un intercambio estequiométrico de iones, seguido de una transferencia de masa que corresponde a la difusión del principio activo. Este segundo paso, más lento, controla el proceso de liberación del principio activo.

Una vez comprobada la eficacia de los procesos de adsorción y liberación del diclofenaco sódico en las tres zeolitas, se determinan las propiedades de flujo* del mineral pulverizado, que constituyen un elemento importante y decisivo a la hora de elaborar comprimidos para administración oral. Se calcula el índice de Carr* que indica si un polvo tiene buenas propiedades de flujo.

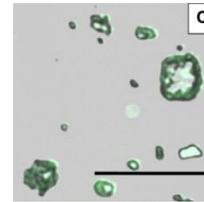
El resultado (tabla 2) indica que la clinoptilolita es el mineral que presenta mejor flujo, seguido de la philipsita y la chabazita. Esa diferencia se debe principalmente a la distinta forma de partícula que presentan los tres minerales (figura 17), lo que corrobora los valores de índice de Carr obtenidos (Serri y cols., 2016).



(a) clinoptilolita



(b) phillipsita



(c) chabazita

Figura 17. Partículas de clinoptilolita (a), phillipsita (b) y chabazita (c) observadas con microscopio confocal. Barra de escala: 20 μm .

Estos resultados demuestran la eficacia del empleo de zeolitas como soportes para el transporte de un antiinflamatorio tan potente como el diclofenaco. El estudio comparativo entre los tres tipos de zeolitas indica que la clinoptilolita modificada presenta el mejor perfil cinético, proporcionando una adsorción rápida del principio activo y una liberación prolongada en el tiempo. El empleo de una clinoptilolita sería, como consecuencia, la mejor alternativa en la formulación de comprimidos de liberación controlada con el fin de reducir los efectos adversos del diclofenaco sódico a nivel gastrointestinal y de prolongar su vida media.

5.4. Empleo de materiales zeolíticos como adsorbentes de sustancias contaminantes

Las aguas residuales domésticas contienen contaminantes orgánicos en proporción importante, como compuestos farmacéuticos o restos de productos de cuidado personal. Se ha comprobado que esas sustancias contaminantes no se eliminan de manera eficiente mediante los procesos habituales de depuración y permanecen en la superficie de las aguas. La eliminación inefectiva de esas sustancias puede tener consecuencias medioambientales y sanitarias, como la aparición de resistencias frente a antibióticos en la población. De ahí la necesidad de encontrar nuevas alternativas para la eliminación de esos contaminantes orgánicos.

El empleo de zeolitas naturales o modificadas como sustancias adsorbentes presenta varias ventajas por la alta capacidad de adsorción que poseen estos minerales, su alta

estabilidad frente a tratamientos radioactivos y térmicos necesarios para asegurar la completa eliminación y degradación de las sustancias contaminantes y la ausencia de riesgo tóxico para el medio ambiente. Además, ha sido probada su alta eficacia de adsorción de pequeñas moléculas orgánicas volátiles como el benceno, el tolueno o el etilbenceno.

Un ejemplo del uso de zeolitas para la depuración de aguas es el propuesto por Braschi y cols., (2010) que emplea zeolitas tipo Y, pertenecientes al grupo de las faujasitas, para la depuración de aguas contaminadas por sulfonamidas.

Las zeolitas de tipo Y presentan alta ratio Si/Al, lo que les confiere alta hidrofobicidad y gran capacidad de adsorción y de intercambio catiónico (Braschi y cols., 2010). El tamaño y forma de los microporos que constituyen la red tridimensional de las zeolitas Y es el principal factor que determina su capacidad de adsorción. Aquellas moléculas cuyo tamaño sea superior al diámetro de poro del mineral no se quedarán retenidas en superficie. En este caso la zeolita actúa como tamiz molecular.

En el estudio se evalúa la capacidad de adsorción que presenta una zeolita tipo Y que presenta anillos de 12 miembros, una ratio $\text{SiO}_2/\text{AlO}_2=200$ mol/mol, alta hidrofobicidad, y un diámetro de poro de 7.4 \AA , frente a tres antibióticos de uso generalizado y presentes en alta proporción en suelos, organismos acuáticos y aguas residuales: sulfadiazina (SD), sulfametazina (SM) y sulfaclopiridazina (SC) (Figura 18). Esos antibióticos presentan una estructura molecular en forma de V y un tamaño de molécula inferior al tamaño de poro del mineral, lo cual hace posible su difusión y adsorción en el mineral (Braschi y cols., 2010).

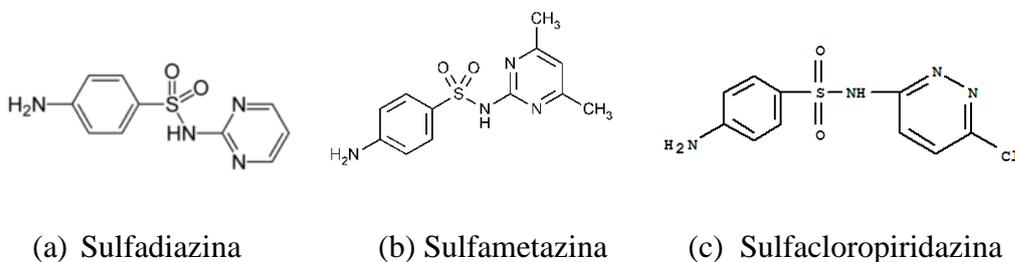


Figura 18. Estructura molecular de sulfadiazina (a), sulfametazina (b) y sulfaclopiridazina (c).

Tras poner en contacto una muestra de zeolita pulverizada con una mezcla de los tres antibióticos, se determina la cantidad de antibiótico adsorbido por diferencia entre la concentración inicial y final en la disolución.

Los resultados indican que el 90% de la mezcla de los tres antibióticos se encuentra adsorbido sobre la zeolita después de dos horas, bajo agitación y a $T^{\circ} = 65^{\circ}\text{C}$. Este experimento, realizado por triplicado a tres temperaturas distintas y en presencia de materia orgánica indica, además, que esos dos factores no influyen en el porcentaje de antibiótico adsorbido (Figura 19) (Braschi y cols., 2010).

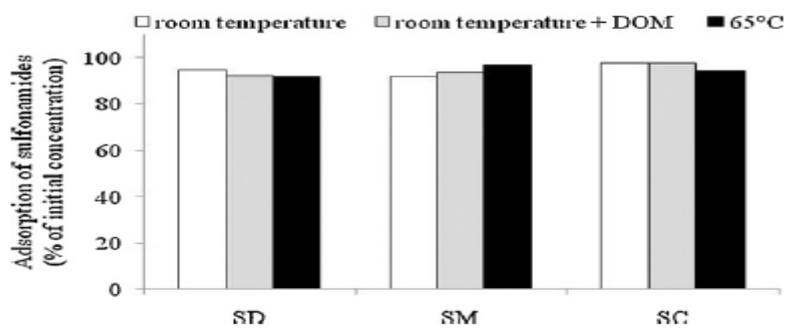


Figura 19. Porcentaje de antibiótico adsorbido en una mezcla de SD, SM, y SC a distintas temperaturas y en presencia de un disolvente orgánico (DOM) procedente de un suelo (Braschi y cols., 2010).

En cuanto al mecanismo de adsorción, se produce mediante la encapsulación del antibiótico en la zeolita, provocando una distorsión del anillo de 12 miembros. El proceso de adsorción termina una vez ocupados todos los microporos del mineral por moléculas de antibiótico. Se estima que cada gramo de zeolita proporciona $4,2 \cdot 10^{20}$ microporos de unión, mientras que el número de moléculas de sulfadiazina, sulfametazina y sulfaclopiridazina presentes en la muestra es de $4,0 \cdot 10^{20}$, $4,3 \cdot 10^{20}$ y $5,3 \cdot 10^{20}$ respectivamente. Estos datos confirman que la adsorción de las moléculas de antibiótico es casi completa (Braschi y cols., 2010).

Por lo tanto, puede deducirse que la zeolita tipo Y presenta gran capacidad de adsorción frente a moléculas de antibióticos sulfonamidas, siendo una herramienta barata y muy eficiente en los procesos de depuración irreversible de aguas residuales contaminadas

por antibióticos, lo que permite evitar y reducir el riesgo de desarrollo de resistencias frente a varios tratamientos antibacterianos.

El tamaño de microporo y las características estructurales de los materiales zeolíticos, así como el tipo de molécula adsorbido, pueden tener un impacto importante sobre la capacidad de adsorción del mineral. Con el objetivo de ampliar su uso en la depuración de aguas residuales, se evalúa la capacidad de adsorción de tres zeolitas distintas: la zeolita tipo Y, la mordenita y la zeolita ZSM-5, frente a tres fármacos: eritromicina, carbamazepina, y levofloxacin (Martucci y cols., 2012).

Se determina el porcentaje de adsorción de cada principio activo midiendo su concentración en una disolución diluida en contacto con cada uno de los tres minerales a distintos intervalos de tiempo, hasta que se alcanza el equilibrio de adsorción, a $t=24h$.

La adsorción de los fármacos en las zeolitas se ajusta bien a la ecuación de Langmuir:

$$q_A = \frac{q_S \cdot K_L \cdot C_A}{1 + K_L \cdot C_A}$$

Donde: q_A : concentración media de principio activo A adsorbido mg/g

q_S : concentración de saturación

C_A : concentración de principio activo en la disolución (mg/l)

K_L : constante de equilibrio (mg/l)

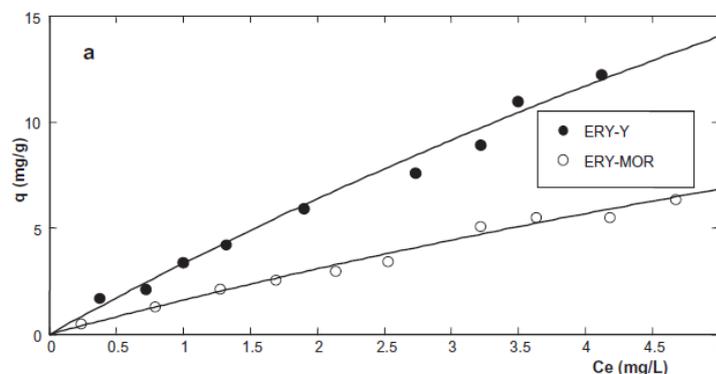


Figura 20. Isotermas de adsorción de eritromicina ajustadas a la ecuación de Langmuir.

La adsorción de eritromicina sobre la zeolita ZSM-5 se ve dificultada debido al gran tamaño molecular que presenta este antibiótico. Como consecuencia el estudio de adsorción en el caso de la eritromicina se lleva a cabo únicamente en la mordenita y la zeolita Y. Los resultados indican (figura 20) que la zeolita tipo Y posee mayor capacidad y eficacia de adsorción debido a las características estructurales que presenta: los microporos de 7.4 Å de diámetro proporcionan un volumen total de 0,21 cm³/g y permiten elevar considerablemente la superficie de contacto con el fármaco, facilitando la adsorción de moléculas grandes como es el caso de la eritromicina, mientras que la adsorción a nivel de la mordenita, cuyas dimensiones de microporo son 6.5×7.0 Å y 2.6×5.7 Å, es mucho menor.

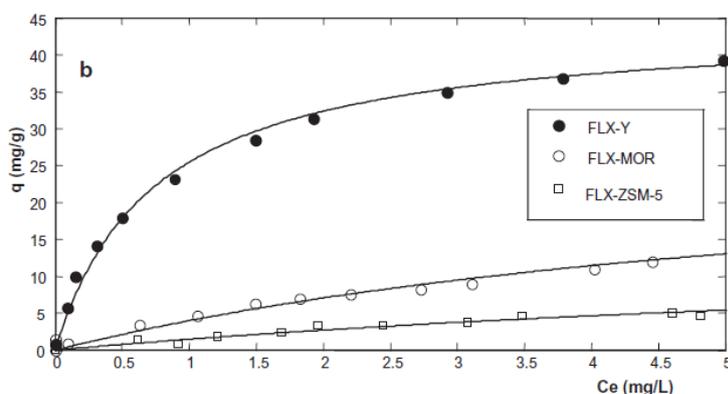


Figura 21. Isotermas de adsorción de fluoxetina sobre las tres zeolitas ajustadas a la ecuación de Langmuir.

El resultado obtenido en el caso de la fluoxetina demuestra que la adsorción es mayor a nivel de la zeolita Y (figura 21) y menor a nivel de la mordenita y de la zeolita ZSM-5 cuya dimensión de microporo es 5.1×5.5 Å. Debido al gran tamaño de molécula que presenta este principio activo el proceso de adsorción provoca una distorsión a nivel de los microporos de la zeolita Y haciendo factible la adsorción del fármaco.

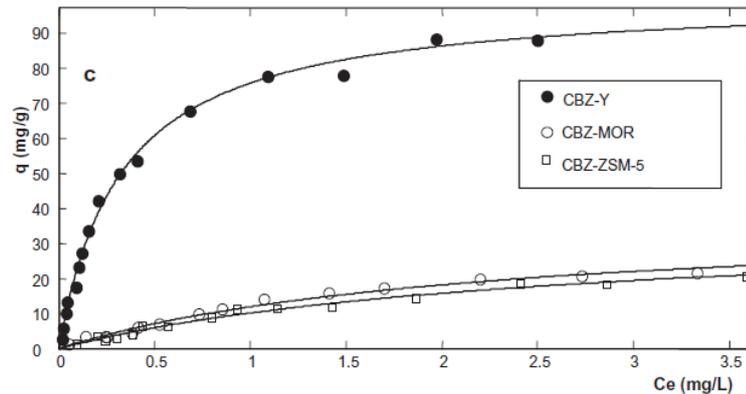


Figura 22. Isotermas de adsorción de carbamazepina sobre las tres zeolitas ajustadas a la ecuación de Langmuir.

En cuanto a la carbamazepina se obtiene un resultado similar a los anteriores (Figura 22), este fármaco presenta mayor adsorción en la zeolita Y. El porcentaje de principio activo adsorbido es bastante alto, debido a la capacidad de distorsión del material zeolítico: el anillo circular de 12 miembros adquiere una forma elíptica facilitando la adsorción del fármaco (figura 23).

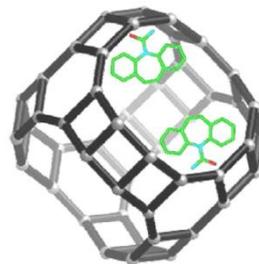


Figura 23. Moléculas de carbamazepina adsorbidas en los microporos de una zeolita Y (Martucci y col., 2012).

Por tanto, la mayor tasa de adsorción para los tres fármacos, eritromicina, fluoxetina y carbamazepina, se obtiene con la zeolita tipo Y.

El proceso de adsorción de los tres fármacos en la mordenita es muy poco efectivo, debido al gran tamaño que presentan las moléculas de principio activo y a la poca flexibilidad que presenta este material zeolítico. Los dos tipos de anillos que presenta la



mordenita, compuestos por 8 y 12 miembros, mantienen el mismo tamaño y forma durante el proceso de adsorción, lo cual limita su empleo como sustancia adsorbente.

Por último, el análisis mediante rayos X de la zeolita ZSM-5 demuestra que la adsorción de los tres fármacos se produce únicamente en la superficie del material y no a nivel de los microporos haciendo que el proceso de adsorción sea poco efectivo.

Estos resultados demuestran que la capacidad de adsorción de los materiales zeolíticos no depende únicamente del tamaño de microporo que presentan, sino también de sus características estructurales y de su capacidad de distorsión, que pueden afectar a la selectividad molecular. La zeolita tipo Y presenta mayor capacidad de adsorción, para los tres tipos de principios activos, además de ser un material barato y seguro para el medio ambiente. Un estudio similar llevado a cabo utilizando una zeolita A modificada por iones Ag^+ demuestra su capacidad para adsorber amoníaco en aguas residuales, facilitando su eliminación sin producir efectos tóxicos y de manera eficaz (Krishnani y cols., 2012). Estas características hacen que las zeolitas sean materiales de elección en los procesos de eliminación de principios activos en aguas residuales.

5.5. Empleo de zeolitas para la fabricación de biosensores.

Las características que presentan las zeolitas, como su capacidad de intercambio iónico y de electrocatálisis*, hacen posible su empleo para la obtención de sistemas biosensores de principios activos como el levetiracetam, fármaco empleado en el tratamiento de la epilepsia. Es muy importante medir y monitorizar los niveles de levetiracetam en el plasma de los pacientes para poder reducir la incidencia de los efectos adversos más comunes como dolor de cabeza, ansiedad, nerviosismo, somnolencia y pigmentación cutánea, entre otros.

Un ejemplo de esta aplicación es el trabajo de Narang y cols., que emplean nanocristales de zeolita, obtenidos mediante síntesis química, como matriz de inmovilización de una peroxidasa que permite a su vez la detección electroquímica del principio activo. La inmovilización de la peroxidasa es el elemento decisivo en el funcionamiento del sistema biosensor, puesto que esta enzima actúa como elemento de reconocimiento del analito (Narang y cols., 2014).

La primera etapa en la preparación del biosensor es la obtención de los nanocristales de zeolita, mediante síntesis química. La imagen obtenida mediante microscopía de transmisión electrónica indica que los nanocristales de zeolita obtenidos son uniformes y presentan un tamaño de 50 nm (Figura 24).

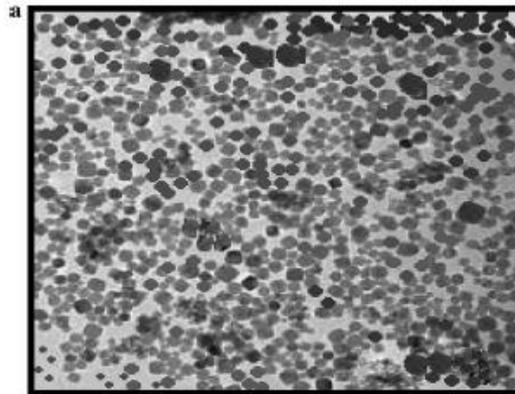


Figura 24. Nanocristales de zeolita observados al microscopio de transmisión electrónica (Narang y cols., 2014).

La figura 25 muestra el proceso de obtención del electrodo de detección, que consiste en un soporte de vidrio de óxido de indio y estaño recubierto por una delgada película de nanocristales de zeolita, a los cuales se añade una capa de quitosán y de glutaraldehído, que permiten la unión de la peroxidasa.

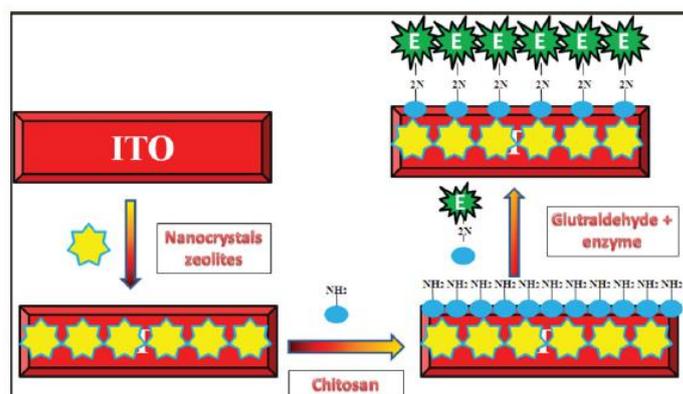


Figura 25. Proceso de obtención del electrodo de detección (Narang y cols., 2014).

Medidas voltamétricas de la actividad del electrodo en una disolución tampón de fosfato con levetiracetam ponen de manifiesto la presencia de una señal electroquímica, lo que

indica la capacidad de los nanocristales de zeolita para transferir electrones en disolución, mientras que con el electrodo sin modificar con zeolita no se detecta ninguna señal electroquímica. La señal obtenida se ve amplificada en presencia del electrodo cargado con nanocristales de zeolita y la enzima peroxidasa (Figura 26).

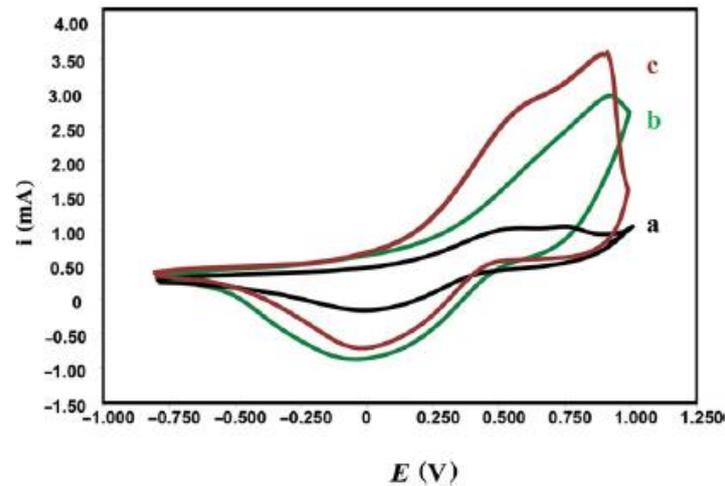


Figura 26. Medidas voltamétricas (a) del electrodo sin modificar (soporte de vidrio de óxido de indio y estaño), (b) electrodo modificado con nanocristales de zeolita y chitosan y (c) electrodo modificado con nanocristales de zeolita, chitosán y enzima peroxidasa en una disolución tampón de fosfato y levetiracetam (Narang y cols., 2014).

Estos datos demuestran que los nanocristales de zeolita aportan una gran superficie de conjugación con la enzima, favoreciendo su reacción con el analito, además de aportar un microambiente biocompatible para su actividad.

Con el fin de corroborar esos resultados, se evalúa la eficacia de detección de levetiracetam en una muestra de suero. Los resultados indican que los nanocristales de zeolita no se ven afectados por la presencia de sustancias interferentes, como las moléculas de glucosa, urea, colesterol, bilirrubina o ácido úrico.

Por otro lado, las pruebas de detección de levetiracetam por el biosensor en muestras de suero enriquecidas con distintas concentraciones de principio activo indican la alta reproducibilidad y sensibilidad de los electrodos, siendo el límite de detección de 0.01 micrometros y el tiempo de respuesta de 2 segundos. Los biosensores modificados con nanocristales de zeolita presentan además larga vida útil (un mes) (Tabla 3).

Matrix/Method	Enzyme	Response Time	Detection Limit (μM)	Linearity (μM)	Stability	References
HPLC–UV/chromatography	Nonenzymatic	NR	0.1	1–75	NR	21
Screen-printed carbon electrodes/cyclic voltammetry	HRP	NR	17.5	100–830	NR	22
Glassy carbon electrode/cyclic and square-wave voltammetry	Non enzymatic	300 s	0.005	0.006–0.5	NR	23
Glassy carbon electrode/cyclic voltammetry	dsDNA-modified electrodes	NR	0.1	0.5–5	NR	24
HRP/nanocrystalline zeolites/CHIT/TTO/impedimetric and SWV	HRP	2 s	0.01	10–500	1 month	Present

NR, not reported.

Tabla 3. Tabla comparativa del biosensor estudiado con otros métodos (Narang y cols., 2014).

Los biosensores modificados con nanocristales de zeolita representan una herramienta muy útil en la detección de los niveles de levetiracetam en el suero humano. Los nanocristales de zeolita confieren al dispositivo de detección una alta superficie de contacto con la enzima, una respuesta rápida (2 segundos), alta estabilidad y sensibilidad y larga vida útil. Esas características hacen que las zeolitas sean la base del desarrollo de una nueva generación de biosensores destinados a la monitorización de fármacos en el ámbito hospitalario. Los biosensores de última generación obtenidos a partir de zeolitas modificadas han permitido la detección simultánea de varios principios activos como la epinefrina, el paracetamol y el ácido fólico (Kaur y cols., 2015), facilitando los procesos de análisis químicos a nivel hospitalario.

5.6. Empleo de materiales zeolíticos como sustancias antivíricas.

Las propiedades de adsorción y de intercambio catiónico que poseen las zeolitas han permitido el desarrollo de nuevas medidas profilácticas para limitar y reducir la transmisión de enfermedades de gran impacto sanitario transmitidas al hombre por animales o por contacto directo con fómites* o aerosoles y causadas por virus altamente patógenos como el virus H5 (Kunitoshi y cols., 2012), el coronavirus humano, el coronavirus felino y el calicivirus felino (Bright y cols., 2009).

Las principales medidas de higiene y bioseguridad consisten en el uso de barreras de protección como guantes, mascarillas y gorros. Varios estudios, como el publicado por Kunitoshi y cols., han demostrado la eficacia antivírica de cationes de cobre (Cu^{2+}) unidos a partículas de zeolita incorporadas en un material textil. Los cationes Cu^{2+}

tienen la capacidad de inactivar al virus H5N1. El empleo de partículas de zeolita permite la incorporación del Cu(II) a materiales textiles, ofreciendo así una nueva alternativa de prevención e higiene para el personal hospitalario expuesto a un alto riesgo de infección (Figura 27)

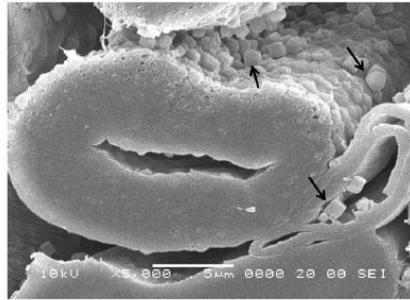


Figura 27. Las flechas indican las partículas de zeolita unidas a las fibras de algodón (Kunitoshi y cols.,2012)

Se emplea una zeolita de tipo A, obtenida mediante síntesis química e incorporada directamente a un material textil de algodón puro. Los cationes Na^+ de la zeolita A son sustituidos por Cu^{2+} mediante un proceso de intercambio catiónico (Figura 28).

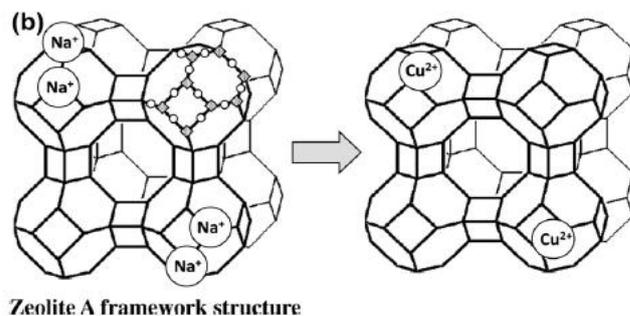


Figura 28. Estructura de la zeolita A, dos cationes Na^+ se sustituyen por un catión Cu^{2+} (Kunitoshi y cols.,2012)

Las pruebas realizadas tienen como objetivo comprobar la capacidad de un material textil de algodón cargado con partículas de zeolita e iones Cu^{2+} para inactivar a los dos subtipos H5N1 y H5N3 del virus influenza y comparar esos resultados con los obtenidos repitiendo la misma prueba con una disolución de CuCl_2 .

La prueba consiste en añadir una alícuota del virus directamente sobre el tejido de algodón cargado con zeolita y cobre, incubarlo durante intervalos de tiempo distintos (30 s, 1 min, 5 min, 10 min) y exprimirlo para recuperar la alícuota, que se inocula a embriones de pollo. Se repite la misma prueba en ausencia de cobre, sobre un textil cargado unicamente con zeolita.

Las técnicas de cuantificación del virus en las alícuotas (titulación, análisis inmunohistoquímico) indican la ausencia de antígenos víricos en las células embrionarias inoculadas con virus procedente del tejido cargado con cobre y zeolita. Este resultado demuestra la capacidad del textil cargado con zeolita y cobre para inactivar al virus, mientras que no se observa ningún efecto antivírico usando un tejido cargado unicamente con partículas de zeolita (Figura 29).

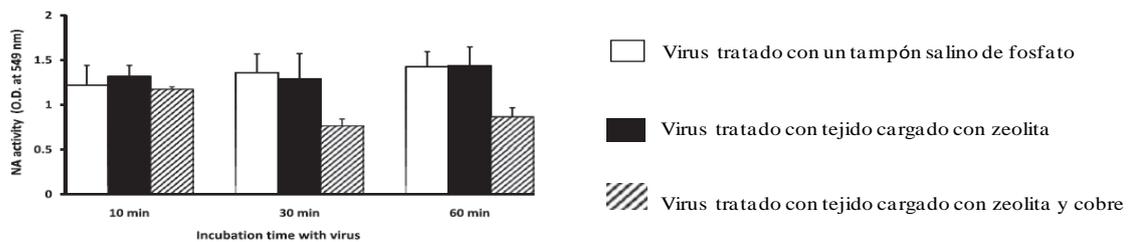


Figura 29. (Kunitoshi y cols.,2012)

Los resultados demuestran claramente que la inactivación del virus no se debe a las partículas de zeolita, sino a la presencia de iones metálicos adsorbidos sobre el mineral. Los iones cobre (Cu^{2+}) y plata (Ag^+) adsorbidos sobre partículas de zeolita en suspensión o incorporados a un material plástico, resultan ser efectivos en la inactivación de otros virus como el coronavirus humano 229E, el coronavirus felino y el calicivirus felino, como lo demuestran los valores obtenidos de reducción de la dosis infecciosa que afecta al 50% de un cultivo celular expuesto (TCID_{50}^*) (Tabla 4).

Virus	Time (h)	Positive control ^a	Zeolite control ^b	Amended zeolite powder (w/w)		
				3.5% Ag 6.5% Cu	20% Ag	0.6% Ag 14% Zn 80% ZnO
229E (human)	1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.24	1.08* ± 0.07	0.43* ± 0.09	0.50 ± 0.24
	4	0.70 ± 0.00	0.26 ± 0.28	2.06* ± 0.18	1.28* ± 0.12	1.30 ± 0.00
	24	0.59 ± 0.14	0.16 ± 0.05	>5.13* ± 0.00 ^c	1.92* ± 0.47	1.45 ± 0.66
FIPV (feline)	1	0.16 ± 0.12	0.08 ± 0.13	1.91* ± 0.31	0.14 ± 0.61	0.50 ± 0.66
	4	0.01 ± 0.20	0.08 ± 0.20	>3.18* ± 0.00 ^c	0.40 ± 0.69	0.42 ± 0.48
	24	0.10 ± 0.36	0.35 ± 0.43	>3.18* ± 0.00 ^c	0.30 ± 1.52	0.53 ± 1.06

Tabla 4a. Potencial antivírico de una zeolita pulverizada y modificada por una mezcla de iones plata (Ag^+) y cobre (Cu^{2+}) en proporción 3,5% y 6,5% respectivamente. La proporción de virus inactivado viene expresada como log10 del TCID50 (Bright y cols., 2009).

Virus	Time (h)	Positive control ^a	5% Zeolite (w/w)	10% Zeolite (w/w)
Coronavirus 229E	1	0.22 ± 0.51	0.93 ± 0.05	0.80 ± 0.00
	4	0.50 ± 0.61	0.52 ± 0.47	0.44 ± 0.24
	24	0.67 ± 0.61	1.84* ± 0.20	1.77* ± 0.24
Feline calicivirus	1	0.04 ± 0.03	0.25* ± 0.06	0.67* ± 0.14
	4	0.17 ± 0.08	0.64* ± 0.19	0.96 ± 1.45
	24	0.40 ± 0.32	3.84 ± 1.02	5.05* ± 0.21

Tabla 4b. Potencial antivírico de un material plástico impregnado con un 5% o un 10% de una disolución de iones Cu^{2+} y Ag^+ incorporados en un polvo de zeolita (Bright y cols., 2009).

Los resultados obtenidos corroboran el papel de los iones metálicos Ag^+ y Cu^{2+} en la inactivación de los virus, mientras que el empleo de partículas de zeolita favorece la capacidad antivírica del cobre puesto que la zeolita pulverizada favorece el contacto directo de los iones metálicos con el virus gracias a su estructura microporosa y a su gran área superficial. Además, se cree que la presencia de partículas de zeolita incrustadas en las fibras de algodón o incorporadas en el material plástico permiten la adsorción e inactivación de las sustancias interferentes presentes en el medio y capaces de reducir la actividad antivírica de los iones metálicos (Kunitoshi y cols., 2012).

De este modo, el empleo de textiles y materiales plásticos incrustados con micropartículas de zeolita modificada con iones cobre y plata para producir uniformes de bioseguridad, gorros, mascarillas, y ropa hospitalaria podría ser una alternativa eficaz en la prevención de la transmisión de virus altamente patógenos en la población, reduciendo su transmisión de animales y fómites a humanos, contribuyendo a la erradicación de algunas enfermedades infecciosas de gran impacto sanitario.



6. CONCLUSIONES

Esta revisión bibliográfica pone de manifiesto el importante trabajo de investigación llevado a cabo a lo largo de los diez últimos años sobre la posible aplicación farmacéutica de los materiales zeolíticos. Las características químicas de estos minerales, su bajo coste de obtención, su total inocuidad y ausencia de toxicidad han hecho posible su empleo como sustancias coadyuvantes en tratamientos antibióticos de aplicación tópica mejorando el efecto de la molécula antibacteriana, su empleo como sustancia adsorbente de antibióticos y otras moléculas orgánicas en aguas residuales reduciendo el riesgo de desarrollo de resistencias en la población, su empleo para la obtención de formas farmacéuticas de liberación controlada como es el caso del diclofenaco sódico, principio activo ampliamente investigado, logrando un mejor perfil farmacoterapéutico y una reducción importante de sus efectos gastrolesivos. Además, los materiales zeolíticos han sido empleados para la obtención de sistemas biosensores que permiten la monitorización de fármacos de estrecho margen terapéutico y para la obtención de sistemas profilácticos de enfermedades infecciosas de gran impacto sanitario.

Las características de estos materiales los hacen buenos candidatos, además, en la mejora de terapias farmacológicas mediante la formulación de principios activos de liberación selectiva y controlada. Esta aplicación resulta de especial interés en el caso de enfermedades cuyo tratamiento supone efectos secundarios desagradables para el paciente, como la terapia anticancerosa.



7. GLOSARIO

Anaerobiosis: ambiente desprovisto de oxígeno.

Análisis inmunohistoquímico: Prueba de laboratorio en la que se usan anticuerpos para identificar antígenos en una muestra de tejido.

Caldo BHI: Es un medio de cultivo nutritivo que contiene infusión de cerebro, tejido de corazón y otros nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de microorganismos en general.

CMI: concentración mínima inhibitoria. Es la menor concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento del microorganismo. Se expresa en mg/L (Andrews JM, 2001).

Concentración micelar crítica: concentración de tensioactivo o surfactante a partir de la cual se forman micelas.

Electrocatalisis: Tipo de reacción catalítica heterogénea que implica la transferencia de una especie cargada a través de una interfase electrolito/catalizador donde el catalizador empleado es un electrodo.

Fómite: Objeto o material inerte capaz de transportar organismos infecciosos (virus, bacterias).

Índice de Carr (o índice de compresibilidad): Parámetro que permite caracterizar la capacidad de flujo de un material pulverulento. Se calcula mediante la ecuación siguiente: $I_c = \frac{V_0 - V}{V_0} \cdot 100$, siendo V_0 el volumen inicial del sólido y V el volumen final obtenido tras la prueba de compresibilidad.

En la tabla se muestran las propiedades de flujo en función del índice de Carr. Cuanto mayor sea el índice de Carr, menor fluidez tendrá el polvo.

Compresibilidad (%) (índice de Carr)	Propiedades de flujo
0-10	Excelentes
11-15	Buenas
16-20	Correctas
21-25	Pasables*
26-31	Pobres*
32-37	Muy pobres
> 38	Extremadamente malas

Micronización: operación galénica que consiste en reducir el tamaño de partículas de una sustancia sólida hasta un diámetro de 50 micras .



Propiedad de flujo: capacidad de un polvo para fluir verticalmente bajo condiciones definidas y en un tiempo determinado (g/s).

TCID 50: dosis infecciosa de virus que afecta al 50% del cultivo celular expuesto.

Tectosilicatos: Son minerales naturales muy abundantes en los suelos. Su estructura tridimensional esta constituida por tetraedros de óxido de silicio. A este grupo de minerales pertenecen las zeolitas.

8. BIBLIOGRAFÍA

-Anghel I, Grumezesc A, Anghel G, Chireac I, Marutescu L, Mihaiescu D, Chifiriuc M. Antibiotic potentiator effect of the natural and synthetic zeolites with well defined nanopores with possible ent clinical applications. *Farmacia*, 2012; (60): 5.

-Braschi I, Blasioli S, Gigli L, Gessa CE, Alberti A, Martucci A. Removal of sulfonamide antibiotics from water: Evidence of adsorption into an organophilic zeolite Y by its structural modifications. *Journal of Hazardous Materials*, 2010; 178: 218–225.

-Bright K, Sicairos-Ruelas E, Gundy E, Gerba C. Assessment of the antiviral properties of zeolites containing metal Ions. *Food Environ Virol* 2009 ;(1):37–41.

-Cappelletti P, Colella A, Langella A, Mercurio M, Catalanotti L, Monetti V, Gennaro B Use of surface modified natural zeolite (SMNZ) in pharmaceutical preparations Part 1. Mineralogical and technological characterization of some industrial zeolite-rich rocks. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2015; 1-13.

-Cerri G, De Gennaro M, Bonferoni MC, Caramella C. Zeolites in biomedical application: Zn-exchanged clinoptilolite-rich rock as active carrier for antibiotics in anti-acne topical therapy. *Applied Clay Science*. 2004; 27: 141– 150.

-Costafreda Mustelier JL. Tectosilicatos con características especiales: las zeolitas naturales. Editorial, Fundación Gómez-Pardo Madrid 2011. Disponible en http://oa.upm.es/32548/1/Tectosilicatos_Costafreda.pdf.

-Egger S, Lehmann R, Murray J, Loessner MJ, Schuppler M. Antimicrobial Properties of a Novel Silver-Silica Nanocomposite Material. *Applied and environmental microbiology*, 2009; 75 (9) 2973–2976.

-Gennaro B, Catalanottia L, Cappelletti P, Langellac A, Mercurio M, Serrid C, Biondie M, Mayol L. Surface modified natural zeolite as a carrier for sustained diclofenac release: A preliminary feasibility study colloids and surfaces B: *Biointerfaces* 130, 2015; 130: 101–109.

-Georgiev D, Bogdanov B, Angelova K, Markovska I, Hristov Y. Synthetic zeolites - structure, clasification, current trends in zeolite synthesis review. *International Science*



conference 4th - 5th June 2009, Stara Zagora, BULGARIA "Economics and Society development on the Base of Knowledge".

-Imai K, Ogawa H, Nghia V, Inoue H, Fukuda J, Ohba M, Yamamoto Y, Nakamura K. Inactivation of high and low pathogenic avian influenza virus H5 subtypes by copper ions incorporated in zeolite-textile materials. *Antiviral Research*, 2012; 93: 225–233.

-Inoue Y, Kogure M, Matsumoto K, Hamashima H, Tsukada M, Endo K, Tanaka T. Light irradiation is a factor in the bactericidal activity of silver-loaded zeolite. *Chem. pharm. Bull*, 2008; 56 (5) 692-694.

-Kaur B, Srivastava R. Simultaneous determination of epinephrine, paracetamol, and folic acid using transition metal ion-exchanged polyaniline–zeolite organic–inorganic hybrid materials. *Sensors and Actuators B*, 2015; 211: 476-488.

-Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. *Dental Materials* 2000; (16): 452–455.

-Krajsnik D, Dakovi A, Milojevi M, Malenovi E, Kragovi M, Bogdanovi DB, Dondur V, Mili J. Properties of diclofenac sodium sorption onto natural zeolite modified with cetylpyridinium chloride. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 83, 2011; 165–172.

-Krajsnik D, Dakovic A, Malenovic A, Djekic L, Kragovic, Dobric V, Milic J. An investigation of diclofenac sodium release from cetylpyridinium chloride-modified natural zeolite as a pharmaceutical excipient *Microporous and Mesoporous Materials*, 2013; 167:94-101.

-Krajsnik D, Dakovic A, Malenovic A, Milojevic M, Dondur V, Radulovic Z., Milic J. Investigation of adsorption and release of diclofenac sodium by modified zeolites composites *Applied Clay Science*, 2013; 322–326.

-Krishnani K,a, Zhang Y, Xiong L, Yushan Y, Boopathy R, Mulchandani A. Bactericidal and ammonia removal activity of silver ion-exchanged zeolite. *Bioresource Technology*, 2012; 117: 86–91.

-Martucci A, Pasti L, Marchetti N, Cavazzini A, Dondi F, Alberti A. Adsorption of pharmaceuticals from aqueous solutions on synthetic zeolite *Microporous and Mesoporous Materials*, 2012; 148: 174–183.

-Nagy A, Harrison A, Sabbani S, Munson RS, Dutta PK, Waldman JW. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *International Journal of Nanomedicine* 2011; 6: 1833–1852.

-Narang J, Chauhan N, Malhotra N, Pundir CS. Nanocrystals of zeolite act as enhanced sensing interface for biosensing of Leviteracetum. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015; 104: 1153-1159.

-Quiroz Castillo JM. Adsorción de trihalometanos en solución acuosa sobre zeolita natural modificada. Tesis digital disponible en <http://www.bidi.uson.mx/TesisIndice.aspx?tesis=18918>.



-Shameli K, Bin Ahmad M, Zargar M, Wan Yunus W, Ibrahim NA. Fabrication of silver nanoparticles doped in the zeolite framework and antibacterial activity. *International journal of nanomedicine*, 2011; 6:331–341.

-Serri C, Gennaro B, Catalanotti L, Cappelletti P, Langella A, Mercurio M, Mayol L, Biondi M. Surfactant-modified phillipsite and chabazite as novel excipients for pharmaceutical applications. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2016; 224:143-148.

-Rodas M, Tectosilicatos, zeolitas. Disponible en <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-15563/Tecto%206.pdf>.