

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 986 444**

51 Int. Cl.:

|                    |           |
|--------------------|-----------|
| <b>A61K 31/198</b> | (2006.01) |
| <b>A61K 31/27</b>  | (2006.01) |
| <b>A61K 31/65</b>  | (2006.01) |
| <b>A61K 33/00</b>  | (2006.01) |
| <b>A61P 3/06</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 3/10</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 9/00</b>   | (2006.01) |
| <b>A61M 1/16</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 9/10</b>   | (2006.01) |
| <b>A61P 13/12</b>  | (2006.01) |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.03.2018 PCT/US2018/021053**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2018 WO18165098**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2018 E 18763384 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2024 EP 3592342**

54 Título: **Uso intradialítico de nitrito sódico**

30 Prioridad:

**08.03.2017 US 201762468857 P**

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

**11.11.2024**

73 Titular/es:

**HOPE MEDICAL ENTERPRISES, INC.D.B.A. HOPE  
PHARMACEUTICALS (100.0%)  
16416 N. 92nd Street 125  
Scottsdale, AZ 85260, US**

72 Inventor/es:

**SHERMAN, CRAIG**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 986 444 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

Uso intradialítico de nitrito sódico

**Campo**

5 En el presente documento se proporcionan métodos para mantener las concentraciones fisiológicas de nitrito en un sujeto que se somete a hemodiálisis. También se proporciona en el presente documento nitrito sódico farmacéuticamente aceptable para su uso en métodos de tratamiento de un sujeto que se somete a hemodiálisis.

**Antecedentes**

10 Los pacientes con enfermedad renal crónica (CKD) experimentan deterioro de la función renal que da como resultado una reducción en la excreción de productos residuales metabólicos. La acumulación de productos residuales metabólicos puede llegar a ser potencialmente mortal en días. Los pacientes con poca o ninguna función renal residual se caracterizan por tener "enfermedad renal en etapa terminal". Por lo tanto, tales pacientes necesitan un medio alternativo para excretar los productos residuales para sobrevivir. La diálisis es un medio para excretar productos residuales que implica la transferencia de productos residuales de la sangre a un líquido externo que posteriormente se desecha (Am. J. Kidney Dis. 2002, 39 (Supl. 1), S1-266).

15 La diálisis se define como el movimiento de solutos y agua entre dos líquidos que están separados por una "membrana dializadora" semipermeable. En hemodiálisis, la sangre fluye a través de un lado de la membrana dializadora mientras que una solución a base de agua denominada dializado fluye a través del otro lado. Las membranas dializadoras contienen poros a través de los cuales pueden pasar los solutos. Las concentraciones de solutos que están presentes en estos dos líquidos se equilibran a medida que las fuerzas osmóticas los empujan, a través de los poros de la  
20 membrana dializadora, desde líquido de alta concentración al líquido de baja concentración.

Las membranas dializadoras están diseñadas con diferentes tamaños de poro para limitar los solutos que pueden pasar a través de ellas durante la hemodiálisis. Durante la hemodiálisis, puede ser perjudicial eliminar de la sangre una cantidad excesiva de solutos de moléculas pequeñas, que pueden difundirse a través de la membrana dializadora.

25 La sangre contiene solutos de bajo peso molecular tales como nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ). Los aniones nitrito tienen un peso molecular de 46 Daltons. Se ha determinado que el nitrito es un reservorio fisiológico para el óxido nítrico en seres humanos (Gladwin, documento PCT/US2004/021985, fecha de presentación 9 de julio de 2004). La concentración de nitrito en la sangre de individuos sanos es aproximadamente 300 nanomolar.

30 La Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) estableció un límite de especificación de calidad para el contenido de nitrato en agua que se usa en diálisis (máximo 2 mg por litro, es decir 2 ppm) (#ANSI/AAMI/ISO 13959:2009). La AAMI también especificó que el contenido de nitrato en el agua debe medirse usando el "método de reducción de cadmio". En este método, se hace pasar una muestra a través de una columna que contiene cobre-cadmio granulado para reducir el nitrato a nitrito. El nitrito se determina a continuación por diazotación con sulfanilamida y copulación con dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina para formar un colorante azoico de color elevado, que se mide con un espectrómetro (U.S. Environmental Protection Agency. National Environmental Methods Index. Disponible en línea en [www.nemi.gov/methods/method\\_summary/5121](http://www.nemi.gov/methods/method_summary/5121)). Este método  
35 de ensayo no distingue entre nitrato y nitrito. En su lugar, realmente es una medición tanto de nitrato como de nitrito. Por lo tanto, la especificación de la calidad de AAMI para el nitrato limita la suma de nitrato y nitrito en agua que se usa en diálisis ya que el método de ensayo especificado por AAMI no distingue entre nitrato y nitrito. Por lo tanto, la especificación de la calidad de AAMI para el nitrato es realmente un límite de la suma de nitrato y nitrito en el agua  
40 que se usa en diálisis.

45 El infarto de miocardio se ha asociado con concentraciones reducidas de nitrito en sangre (Kehmeier et al., Free Radic. Biol. Med. 2008, 44, 1945-1950). En la isquemia miocárdica, el nitrito se reduce a óxido nítrico. Puesto que el óxido nítrico es un vasodilatador, la reducción de nitrito a óxido nítrico protege la función cardíaca aumentando el flujo sanguíneo a los tejidos isquémicos. Este efecto beneficioso existe siempre que el nitrito permanezca disponible en la sangre. El agotamiento de nitrito puede ser un factor que contribuye en la progresión de la isquemia tisular al infarto cuando no puede sostenerse la vasodilatación (Landmesser et al., Curr. Opin. Cardiol. 2005, 20, 547-551).

50 La enfermedad cardiovascular representa más de la mitad de todas las muertes de pacientes que requieren hemodiálisis crónica (Go et al., N. Eng. J. Med. 2004, 351, 1296-1305). El riesgo de acontecimientos de muerte súbita aumentó 1,7 veces en el periodo de 12 horas a partir del inicio del tratamiento de diálisis. Los acontecimientos de muerte súbita aumentaron tanto durante el propio procedimiento de diálisis como después del tratamiento (Bleyer et al., Kidney Int. 2006, 12, 2268-2273).

55 De manera coincidente, la concentración de nitrito en el plasma disminuye en más del 60% durante la primera hora de hemodiálisis y permanece significativamente deprimida durante las horas posteriores de una sesión de hemodiálisis de cuatro horas (Bryan et al., Free Radic. Biol. Med. 2013, 58, 46-51). Carlstrom et al., Nitric Oxide 58 (2016), páginas 1-9, describen el efecto de la diálisis peritoneal sobre la homeostasis del óxido nítrico y estrategias de tratamiento para reducir las morbilidades neurológicas.

5 El nitrito sódico puede administrarse a la sangre por inyección intravenosa; sin embargo, sería ineficaz para mantener concentraciones fisiológicas con pacientes de diálisis puesto que se elimina rápidamente durante la hemodiálisis. En este momento, no existe un método eficaz para mantener las concentraciones fisiológicas de nitrito en la sangre de pacientes que se someten a hemodiálisis. Tampoco existe un método satisfactorio para administrar nitrito sódico a pacientes durante la hemodiálisis.

**Sumario**

10 La presente divulgación proporciona métodos para mantener las concentraciones fisiológicas de nitrito en un sujeto sometido a hemodiálisis. La presente divulgación también proporciona métodos para prevenir el infarto de miocardio, la muerte cardíaca súbita, el accidente cerebrovascular, la enfermedad cardiovascular, la presión sanguínea alta, la hipertensión pulmonar y/o la hipertensión renal en un sujeto que se somete a hemodiálisis.

15 En un aspecto, la presente invención se refiere a nitrito sódico para su uso en un método para prevenir el infarto de miocardio, la muerte cardíaca súbita, el accidente cerebrovascular, la presión sanguínea alta, la hipertensión pulmonar, la hipertensión renal o la enfermedad cardiovascular que se caracterizan por isquemia tisular que incluye angina, vasoespasmos cerebrales, claudicación, isquemia crítica de extremidades, enfermedad vascular periférica y crisis de células falciformes, en un sujeto sometido a hemodiálisis, en donde el método comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde una disolución acuosa que comprende el nitrito sódico se añade a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una disolución concentrada de ácido y una disolución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de 7,0.

20 En una realización, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto no es más de 1 micromolar, tal como entre 200 nanomolar y 500 nanomolar, o la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto es 300 nanomolar.

25 En una realización adicional, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito no es más de 1 micromolar, tal como entre 200 nanomolar y 500 nanomolar, o la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito es 300 nanomolar.

En una realización adicional, la solución acuosa que comprende el nitrito sódico comprende no más de 3 mg/L de nitrito sódico, tal como no más de 2 mg/L de nitrito.

30 En una realización adicional, la solución acuosa que comprende el nitrito sódico se añade al dializado no enriquecido a través de una válvula que está unida a un tubo de dializado en una ubicación antes de que el tubo se conecte al dializador.

En una realización adicional, el dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal de entre 500 mL/min y 700 mL/min, o el dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal de 600 mL/min.

35 En una realización adicional, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de la válvula al dializado no enriquecido a un caudal entre 100 mL/h y 550 mL/h, o la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de la válvula al dializado no enriquecido a un caudal de 250 mL/h.

En una realización adicional, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre 7,3 y 7,5, o es 7,4.

40 En una realización adicional, el sujeto es un ser humano con insuficiencia renal crónica, o es un ser humano con insuficiencia renal aguda.

En una realización adicional, el sujeto se somete a hemodiálisis de tres a siete veces por semana.

**Breve descripción de los dibujos**

45 La FIG. 1 es un diagrama esquemático de elementos de la trayectoria de flujo del dializado, la sangre de los pacientes y la solución acuosa que comprende nitrito sódico. (10) Máquina de diálisis; (20) solución concentrada de ácido; (30) solución concentrada de bicarbonato; (40) solución acuosa que comprende nitrito sódico; (50) flujo de solución acuosa que comprende nitrito sódico; (60) tubo de dializado; (70) válvula; (80) dializador; (90) membrana dializadora; (100) punto de detección "pre" membrana dializadora; (110) punto de detección "post" membrana dializadora; (120) punto de detección "V"; (130) punto de detección "A"; (140) dializado usado.

**Descripción detallada**

50 La siguiente descripción detallada no tiene que tomarse en un sentido limitante, sino que se realiza simplemente con el propósito de ilustrar las realizaciones proporcionadas en el presente documento.

Para facilitar la comprensión de la divulgación expuesta en el presente documento, a continuación se definen varios términos.

5 Generalmente, la nomenclatura usada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio en química inorgánica, química analítica, química orgánica, química médica y farmacología descritos en el presente documento son los bien conocidos y comúnmente empleados en la técnica. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento generalmente tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones para un término usado en el presente documento, prevalecen las de esta sección a menos que se indique lo contrario.

10 El término "sujeto" se refiere a un animal, que incluye, un primate (por ejemplo, un ser humano), una vaca, una oveja, una cabra, un caballo, un perro, un gato, un conejo, una rata o un ratón. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento en referencia, por ejemplo, a un sujeto mamífero, tal como un sujeto humano. En una realización, el sujeto tiene o está en riesgo de una enfermedad, trastorno o afección proporcionada en el presente documento. En otra realización, el sujeto tiene o está en riesgo de una enfermedad, trastorno o afección en donde la enfermedad, trastorno o afección, o un síntoma de la misma, puede tratarse, prevenirse o mejorarse mediante la administración de nitrito sódico. En otra realización, el sujeto es un paciente con enfermedad renal en etapa terminal (ESRD) que se somete a hemodiálisis regular. En otra realización, el sujeto es un paciente con alguna o ninguna función renal que experimenta diálisis para reducir los residuos de la sangre a niveles seguros. En otra realización, la concentración en plasma y saliva en estado estacionario de nitrito en el sujeto que se somete a hemodiálisis se reduce significativamente como resultado de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 horas de hemodiálisis. En otra realización, el sujeto tiene concentraciones plasmáticas de nitrito que están por debajo de las concentraciones fisiológicas normales.

Los términos "tratar", "tratando (que trata)" y "tratamiento" pretenden incluir aliviar o anular un trastorno, enfermedad o afección, o uno o más de los síntomas asociados con el trastorno, enfermedad o afección; o aliviar o erradicar la(s) causa(s) del trastorno, enfermedad o afección en sí.

Los términos "prevenir", "previniendo (que previene)" y "prevención" pretenden incluir un método para retrasar y/o excluir el comienzo de un trastorno, enfermedad o afección, y/o su(s) síntoma(s) concomitante(s); impedir que un sujeto adquiera una enfermedad; o reducir el riesgo de un sujeto de adquirir un trastorno, enfermedad o afección.

En general, los dializados convencionales se definen como cualquier formulación conocida hasta ahora, patentada o no, incluyendo las que se han patentado recientemente. Muchos de estos se formulan especialmente para satisfacer las necesidades de un tipo particular. Por ejemplo, la patente de EE.UU. No. 6.436.969 describe composiciones que contienen inhibidores de AGE, la patente de EE.UU. No. 5.869.444 reivindica soluciones que contienen una mezcla osmóticamente efectiva de péptidos, las patentes de EE.UU. Nos. 6.306.836 y 6.380.163 describen una solución de diálisis peritoneal que utiliza aminoácidos para conseguir el equilibrio osmótico.

35 La expresión "solución concentrada de bicarbonato" se refiere a una solución acuosa que comprende una sal de bicarbonato o una mezcla de sales de bicarbonato y agua que cumple o supera los estándares actuales de calidad del agua de hemodiálisis como se enumera en ANSI/AAMI/ISO nº 13959:2009 (en lo sucesivo denominada "agua purificada"). Minntech Renal Systems en Minneapolis, Minnesota, suministra el polvo concentrado de bicarbonato Centrisol® MB-330. Cada bolsa de polvo concentrado de bicarbonato Centrisol® 45X MB-330 contiene aproximadamente 650 gramos de bicarbonato de sodio. El contenido de una bolsa se mezcla con agua purificada para preparar aproximadamente 8 litros de solución concentrada de bicarbonato para dializado.

La expresión "solución concentrada de ácido" se refiere a una solución acuosa que comprende un ácido o una mezcla de ácidos y agua purificada. Ejemplos representativos del ácido incluyen ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico y ácido peracético. Minntech Renal Systems en Minneapolis, Minnesota, suministra polvo concentrado ácido Centrisol® 45X SB-111. Cada bolsa de polvo concentrado ácido Centrisol® 45X contiene acetato, bicarbonato, calcio, cloruro, dextrosa, magnesio y potasio. Una parte en volumen del concentrado ácido debe mezclarse con 1,72 partes en volumen de concentrado de bicarbonato de sodio serie MB-330 mezclado adecuadamente y 42,28 partes en volumen de agua purificada para preparar 45 partes en volumen de solución para dializado.

La expresión "máquina de diálisis" es una máquina que comprende un circuito extracorpóreo y un circuito de dializado. El circuito extracorpóreo comprende además tubos, una bomba de sangre, una bomba de heparina, riñones y monitores para el flujo sanguíneo, la presión sanguínea y las burbujas de aire. El circuito de dializado comprende además tubos de dializado, una bomba de dializado y monitores para el flujo de dializado, la presión de dializado y burbujas de aire. Actualmente, las máquinas de diálisis utilizan un sistema dosificador automático para mezclar la solución concentrada de ácido, la solución concentrada de bicarbonato y el agua purificada en proporciones específicas para generalizar el dializado. Las soluciones concentradas de dializado (ácido y bicarbonato) son suministradas usualmente por el fabricante como un polvo premezclado (como polvo de bicarbonato) que se añade al agua purificada en grandes depósitos o como una solución (como concentrado ácido) lista para usar. Las soluciones concentradas de dializado se bombean a una cámara en la máquina de diálisis donde se mezclan con agua purificada para preparar el dializado.

La expresión "tubo de dializado" se refiere a que el tubo conecta una máquina de diálisis y un dializador.

El término "dializador" pretende incluir un riñón artificial que comprende una membrana semipermeable sintética o semisintética (en lo sucesivo denominada "membrana dializadora") fabricada de materiales químicos que incluyen acetato de celulosa, cuprafano, poli(acrilonitrilo), poli(metacrilato de metilo) o polisulfona. Un flujo constante de sangre en un lado de la membrana y el dializado en el otro permite la eliminación de residuos en la sangre. Se puede usar un riñón artificial para realizar hemodiálisis, durante la cual la difusión es el mecanismo principal para la eliminación de solutos. Por otro lado, la hemofiltración (también denominada hemodiafiltración y diafiltración) se basa en ultrafiltración y transporte convectivo en lugar de difusión para mover solutos a través de una membrana semipermeable de alta porosidad.

- 5
- 10 La expresión "dializado no enriquecido" se refiere a la solución de dializado mezclada por la máquina de diálisis y bombeada al tubo de dializado para fluir a la membrana dializadora antes de que la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añada al tubo de dializado a través de una válvula.

La expresión "dializado enriquecido con nitrito" se refiere a la solución de dializado en el tubo de dializado después de que la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade al tubo de dializado a través de una válvula.

- 15 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende incluir la cantidad de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar en algún grado, uno o más de los síntomas del trastorno, enfermedad o afección que se está tratando. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" también se refiere a la cantidad de un compuesto que es suficiente para provocar la respuesta biológica o médica de una célula, tejido, sistema, animal o ser humano, que está buscando un investigador, veterinario, médico o clínico. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para mantener la concentración de nitrito en sangre de un sujeto a concentraciones aproximadamente fisiológicas.
- 20

El término "aproximadamente" significa un error aceptable para un valor particular como determina un experto en la técnica, que depende en parte de cómo se mide o determina el valor. En algunas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro de 1, 2, 3 ó 4 desviaciones estándar. En algunas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro del 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% ó 0,05% de un valor o intervalo dado. En algunas realizaciones, se contempla que los valores precedidos por el término "aproximadamente" son exactos.

25

La expresión "concentraciones fisiológicas normales" de nitrito significa las concentraciones de nitrito que se producen en un sujeto adulto sano. En una realización, la concentración fisiológica normal de nitrito en un sujeto es aproximadamente 300 nanomolar.

30

#### Nitrito sódico

En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden el uso de formas purificadas de nitrito sódico ( $\text{NaNO}_2$ ), también conocida como sal monosódica del ácido nitroso. En una realización, en el presente documento se proporciona nitrito sódico farmacéuticamente aceptable. En otra realización, en el presente documento se proporcionan formas de nitrito sódico que cumplen uno, más de uno o todos los estándares de la FDA para nitrito sódico para uso farmacéutico. En una realización, el nitrito sódico farmacéuticamente aceptable es el descrito en el documento US 8.568.793 presentada el 10 de febrero de 2010.

35

A continuación, se define con más detalle el nitrito sódico para el uso reivindicado.

En una realización, el nitrito sódico farmacéuticamente aceptable es un sólido de color blanco a blanquecino.

- 40 En una realización, el nitrito sódico farmacéuticamente aceptable tiene un ensayo de identificación positiva para sodio determinado según el método 191 de la USP XXXII (2009).

En una realización, el nitrito sódico farmacéuticamente aceptable tiene un ensayo de identificación positiva para nitrito determinado según el método 191 de la USP XXXII (2009).

- 45 En una realización, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no menos de aproximadamente 97% en peso y/o no más de aproximadamente 101% en peso de nitrito sódico. En algunas realizaciones, la cantidad de nitrito sódico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el ensayo colorimétrico de la USP (USP XXXII (2009)). En algunas realizaciones, la cantidad de nitrito sódico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina mediante cromatografía iónica. En algunas realizaciones, la cantidad de nitrito sódico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina mediante cromatografía iónica acoplada con la detección mediante conductividad suprimida como se describe en el presente documento.
- 50

En otra realización, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento tiene un pH entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 cuando se mide en una solución al 10% a 25 °C. En algunas realizaciones, el pH del nitrito sódico proporcionado en el presente documento se mide usando un medidor de pH. En algunas realizaciones, el pH del nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 791 de la USP XXXII (2009).

- 5 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento tiene una pérdida por secado no mayor que aproximadamente 0,25% en peso. En algunas realizaciones, la pérdida por secado del nitrito sódico proporcionado en el presente documento se cuantifica según el Método 731 de la USP XXXII (2009).

- 10 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento tiene un contenido de agua no mayor que aproximadamente 0,5% en peso. En algunas realizaciones, el contenido de agua en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina por el método de Karl Fischer. En algunas realizaciones, el contenido de agua en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se cuantifica según el Método 921 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el contenido de metales pesados en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no es mayor de aproximadamente 10 ppm de un metal pesado. El contenido de metales pesados en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 231 de la USP XXXII (2009).

- 15 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,4% en peso de nitrato de sodio. En algunas realizaciones, la cantidad de nitrato de sodio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina mediante un método de cromatografía iónica acoplado con detección mediante conductividad suprimida como se describe en el presente documento.

- 20 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,02% en peso de carbonato de sodio. En algunas realizaciones, la cantidad de carbonato de sodio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina mezclando la muestra con un ácido para convertir carbonato en dióxido de carbono y descargando el dióxido de carbono en un detector de infrarrojos no dispersivo para la medición.

- 25 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no más de aproximadamente 0,005% en peso de materia insoluble. En algunas realizaciones, la cantidad de material insoluble en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina disolviendo 10 gramos del nitrito sódico proporcionado en el presente documento en 100 mL de agua, la solución se calienta hasta ebullición durante 1 hora, la solución se filtra, se lava con agua caliente, se seca, se enfría en un desecador y se pesa.

- 30 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,005% en peso de cloruro. En algunas realizaciones, el contenido de cloruro en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 221 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,01% en peso de sulfato. En algunas realizaciones, el contenido de sulfato en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 221 de la USP XXXII (2009).

- 35 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,001% en peso de hierro. En algunas realizaciones, el contenido de hierro en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). En algunas realizaciones, el contenido de hierro en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando espectroscopía de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). En algunas realizaciones, el contenido de hierro en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 241 de la USP XXXII (2009).

- 45 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,01% en peso de calcio. En algunas realizaciones, el contenido de calcio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas realizaciones, el contenido de calcio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando espectrometría de emisión de llama (FES).

- 50 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,005% en peso de potasio. En algunas realizaciones, el contenido de potasio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas realizaciones, el contenido de potasio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando FES.

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no más de aproximadamente 10 ppm, no más de aproximadamente 100 ppm, no más de aproximadamente 500 ppm, no más de aproximadamente 1000 ppm o no más de 5000 ppm de etanol. En algunas realizaciones, el contenido de impurezas volátiles orgánicas se determina según el Método 467 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no más de aproximadamente 10 ppm, no más de aproximadamente 100 ppm, no más de aproximadamente 500 ppm, no más de aproximadamente 1000 ppm o no más de 3000 ppm de metanol. En algunas realizaciones, el contenido de impurezas volátiles orgánicas se determina según el Método 467 de la USP XXXII (2009).

- 5 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene carbono orgánico no volátil total en no más de aproximadamente 2,5 ppm, no más de aproximadamente 6 ppm, no más de aproximadamente 8 ppm, no más de aproximadamente 10 ppm, no más de aproximadamente 20 ppm, no más de aproximadamente 25 ppm o no más de aproximadamente 50 ppm. En algunas realizaciones, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene carbono orgánico no volátil total (NVOC) o carbono orgánico no purgable equivalente (NPOC) en  
 10 no más de aproximadamente 10 ppm. En algunas realizaciones, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene carbono orgánico no volátil total en no más de aproximadamente 7,9 ppm. En algunas realizaciones, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene carbono orgánico no volátil total en no más de aproximadamente 5,6 ppm. En algunas realizaciones, el carbono orgánico no volátil total en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando los métodos descritos en el presente documento.
- 15 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,05 ppm de mercurio. En algunas realizaciones, el contenido de mercurio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas realizaciones, el contenido de mercurio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-OES. En algunas realizaciones, el contenido de mercurio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina  
 20 según el Método 261 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 2 ppm de aluminio. En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,2 ppm de aluminio. En algunas realizaciones, el contenido de aluminio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas  
 25 realizaciones, el contenido de aluminio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-OES. En algunas realizaciones, el contenido de aluminio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 206 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 3 ppm de arsénico. En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 1 ppm de arsénico. En algunas realizaciones, el contenido de arsénico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas realizaciones, el contenido de arsénico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina  
 30 usando ICP-OES. En algunas realizaciones, el contenido de arsénico en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según el Método 211 de la USP XXXII (2009).

35 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no más de aproximadamente 10 ppm (0,001% en peso) de un agente antiapelmazante. En algunas realizaciones, el agente antiapelmazante es alquilnaftalenosulfonato de sodio. En algunas realizaciones, la cantidad de alquilnaftalenosulfonato de sodio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se cuantifica usando un método de cromatografía de líquidos y espectrometría de masas como se describe en el presente documento.

40 En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no contiene más de aproximadamente 0,003% en peso de selenio. En algunas realizaciones, el contenido de selenio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-MS. En algunas realizaciones, el contenido de selenio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina usando ICP-OES. En algunas realizaciones, el contenido de selenio en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se determina según  
 45 el Método 291 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el recuento aeróbico total de carga microbiana en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no es mayor de aproximadamente 100 UFC/g. El recuento aeróbico total de la carga microbiana en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se cuantifica según el Método 61 de la USP XXXII (2009).

50 En otra realización más, el recuento total de levaduras y mohos en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento no es mayor de aproximadamente 20 UFC/g. El recuento total de levaduras y mohos en el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se cuantifica según el Método 61 de la USP XXXII (2009).

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento contiene no más de aproximadamente 0,25 UE/mg de endotoxinas bacterianas. La cantidad de endotoxinas bacterianas en el nitrito sódico proporcionada en el presente documento se cuantifica según el Método 85 de la USP XXXII (2009).

55

## ES 2 986 444 T3

En otra realización más, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento se caracteriza por uno o más de lo que sigue:

- Contiene no menos de aproximadamente 97% en peso y/o no más de aproximadamente 101% en peso de nitrito sódico según el ensayo colorimétrico de la USP (USP XXXII (2009));
- 5 - Tiene un ensayo de identificación positiva del sodio;
- Tiene un ensayo de identificación positiva de nitrito;
- Tiene un pH entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9 cuando se mide en una solución al 10% a 25 °C;
- Tiene una pérdida por secado no superior a aproximadamente 0,25% en peso;
- Tiene un contenido de agua no mayor que aproximadamente 0,5% en peso;
- 10 - Tiene un contenido de metales pesados no superior a aproximadamente 10 ppm;
- Contiene no más de aproximadamente 0,4% en peso de nitrato de sodio;
- Contiene no más de aproximadamente 0,02% en peso de carbonato de sodio;
- Contiene no más de aproximadamente 0,005% en peso de materia insoluble;
- Contiene no más de aproximadamente 0,005% en peso de cloruro;
- 15 - Contiene no más de aproximadamente 0,01% en peso de sulfato;
- Contiene no más de aproximadamente 0,001% en peso de hierro;
- Contiene no más de aproximadamente 0,01% en peso de calcio;
- Contiene no más de aproximadamente 0,005% en peso de potasio;
- Contiene no más de aproximadamente 0,1% en peso de etanol o no más de aproximadamente 10 ppm, no más de aproximadamente 100 ppm, no más de aproximadamente 500 ppm, no más de aproximadamente 1000 ppm, o no más de 5000 ppm de etanol;
- 20 - Contiene no más de aproximadamente 10 ppm, no más de aproximadamente 100 ppm, no más de aproximadamente 500 ppm, no más de aproximadamente 1000 ppm, o no más de 3000 ppm de metanol;
- Tiene un contenido de carbono orgánico no volátil total o equivalente no superior a aproximadamente 2,5 ppm, no superior a aproximadamente 5,6 ppm, no superior a aproximadamente 6 ppm, no superior a aproximadamente 7,9 ppm, no superior a aproximadamente 8 ppm, no superior a aproximadamente 10 ppm, no superior a aproximadamente 20 ppm, no superior a aproximadamente 25 ppm, o no superior a aproximadamente 50 ppm; y en una realización, no superior a aproximadamente 10 ppm;
- 25 - Contiene no más de aproximadamente 0,05 ppm de mercurio;
- 30 - Contiene no más de aproximadamente 2 ppm de aluminio;
- Contiene no más de aproximadamente 3 ppm de arsénico;
- Contiene no más de aproximadamente 10 ppm de un agente antiapelmazante;
- Contiene no más de aproximadamente 0,003% de selenio (ICP-OES o equivalente);
- Tiene un recuento aeróbico total de carga microbiana no superior a aproximadamente 100 UFC/g;
- 35 - Tiene un recuento total de levaduras y mohos no superior a aproximadamente 20 UFC/g;
- Contiene no más de aproximadamente 0,25 UE/mg de endotoxinas bacterianas.

En una realización, en el presente documento se proporciona nitrito sódico que tiene una o más de las características a las que se hace referencia en el presente documento.

Métodos para mantener la concentración fisiológica de nitrito

- 40 En el presente documento se describen métodos para mantener las concentraciones fisiológicas de nitrito en un sujeto que se somete a hemodiálisis, que comprenden poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una



disolución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una disolución concentrada de ácido y una disolución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

- 5 También se describen en el presente documento métodos para mantener las concentraciones fisiológicas de nitrito en un sujeto sometido a hemodiálisis, que comprenden poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una disolución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis a una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

- 15 En una realización, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto no es mayor de aproximadamente 1 micromolar. En otra realización, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 100 nanomolar y aproximadamente 700 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 200 nanomolar y aproximadamente 500 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 250 nanomolar y aproximadamente 400 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto es de aproximadamente 300 nanomolar.

- 20 En una realización, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito no es mayor de aproximadamente 1 micromolar. En otra realización, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 100 nanomolar y aproximadamente 700 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 200 nanomolar y aproximadamente 500 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 250 nanomolar y aproximadamente 400 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito es de aproximadamente 300 nanomolar.

- 25 En algunas realizaciones, la solución acuosa que comprende nitrito sódico comprende no más de aproximadamente 1 mg/L, aproximadamente 2 mg/L, aproximadamente 3 mg/L, aproximadamente 4 mg/L, aproximadamente 5 mg/L, aproximadamente 6 mg/L, aproximadamente 7 mg/L, aproximadamente 8 mg/L, aproximadamente 9 mg/L o aproximadamente 10 mg/L de nitrito sódico.

En algunas realizaciones, el agua comprende no más de aproximadamente 1 mg/L, aproximadamente 2 mg/L, aproximadamente 3 mg/L, aproximadamente 4 mg/L, aproximadamente 5 mg/L, aproximadamente 6 mg/L, aproximadamente 7 mg/L, aproximadamente 8 mg/L, aproximadamente 9 mg/L o aproximadamente 10 mg/L de nitrito.

- 35 En una realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a dicho dializado no enriquecido a través de una válvula que está unida a un tubo de dializado en una ubicación antes de que dicho tubo se conecte al dializador. En otra realización, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 200 mL/min y aproximadamente 1000 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 300 mL/min y aproximadamente 900 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 400 mL/min y aproximadamente 800 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 500 mL/min y aproximadamente 700 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal de aproximadamente 600 mL/min.

- 45 En una realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade al dializado no enriquecido a través de la válvula a un caudal entre aproximadamente 0 mL/h y aproximadamente 750 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 50 mL/h y aproximadamente 650 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 100 mL/h y aproximadamente 550 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 150 mL/h y aproximadamente 450 mL/h, o a un caudal entre aproximadamente 200 mL/h y aproximadamente 350 mL/h. En otra realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade al dializado no enriquecido a través de la válvula a un caudal de aproximadamente 250 mL/h.

- 50 En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,1 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,3 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,3 y aproximadamente 7,5. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito es de aproximadamente 7,4.

En otra realización más, dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal crónica. En otra realización, dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal aguda.

En otra realización más, dicho sujeto se somete a hemodiálisis de una a diez veces por semana. En otra realización más, dicho sujeto se somete a hemodiálisis de tres a siete veces por semana.

En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento devuelven y/o mantienen las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a las concentraciones fisiológicas normales.

5 Nitrito sódico para su uso en métodos de prevención

1. Prevención del infarto de miocardio

10 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir el infarto de miocardio en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

15 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir el infarto de miocardio en un sujeto que se somete a hemodiálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

20 En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

En ciertas realizaciones, la invención proporcionada en el presente documento devuelve y/o mantiene las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a concentraciones fisiológicas normales.

25 2. Prevención de la muerte cardíaca súbita

30 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir la muerte cardíaca súbita en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a dicho dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

35 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir la muerte cardíaca súbita en un sujeto que se somete a hemodiálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre de dicho sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

40 En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

En ciertas realizaciones, la invención proporcionada en el presente documento devuelve y/o mantiene las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a concentraciones fisiológicas normales.

3. Prevención del accidente cerebrovascular

45 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir el accidente cerebrovascular en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a dicho dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

50 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir el accidente cerebrovascular en un sujeto que se somete a hemodiálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

5 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir el accidente cerebrovascular en un sujeto que se somete a hemodiálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

10 En ciertas realizaciones, la invención proporcionada en el presente documento devuelve y/o mantiene las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a concentraciones fisiológicas normales.

#### 4. Prevención de la enfermedad cardiovascular

15 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir enfermedades cardiovasculares que se caracterizan por isquemia tisular que incluyen angina, vasoespasm cerebral, claudicación, isquemia crítica de extremidades, enfermedad vascular periférica y crisis de células falciformes en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a dicho dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

20 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir enfermedades cardiovasculares que se caracterizan por isquemia tisular que incluyen angina, vasoespasm cerebral, claudicación, isquemia crítica de extremidades, enfermedad vascular periférica y crisis de células falciformes en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

30 En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona en el presente documento devuelve y/o mantiene las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a concentraciones fisiológicas normales.

#### 5. Prevención de la presión sanguínea alta, hipertensión pulmonar e hipertensión renal

35 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir la presión sanguínea alta, la hipertensión pulmonar y la hipertensión renal en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a dicho dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

45 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además nitrito sódico para su uso en métodos para prevenir la presión sanguínea alta, la hipertensión pulmonar y la hipertensión renal en un sujeto que se somete a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre de dicho sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

50 En algunas realizaciones, la hipertensión pulmonar es hipertensión pulmonar neonatal, hipertensión pulmonar primaria o hipertensión pulmonar secundaria.

En una realización, el sujeto es un mamífero. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

En ciertas realizaciones, la invención proporcionada en el presente documento devuelve y/o mantiene las concentraciones plasmáticas de nitrito del sujeto a concentraciones fisiológicas normales.

En ciertas realizaciones, las realizaciones de los párrafos [00103] - [00112] (los siguientes 9 párrafos) se aplican a todos los métodos proporcionados en el presente documento.

5 En una realización, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto no es mayor de aproximadamente 1 micromolar. En otra realización, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 100 nanomolar y aproximadamente 700 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 200 nanomolar y aproximadamente 500 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre aproximadamente 250 nanomolar y aproximadamente 400 nanomolar. En otra realización más, la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto es de aproximadamente 300 nanomolar.

15 En una realización, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito no es mayor de aproximadamente 1 micromolar. En otra realización, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 100 nanomolar y aproximadamente 700 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 200 nanomolar y aproximadamente 500 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 250 nanomolar y aproximadamente 400 nanomolar. En otra realización más, la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito es de aproximadamente 300 nanomolar.

20 En algunas realizaciones, la solución acuosa que comprende nitrito sódico comprende no más de aproximadamente 1 mg/L, aproximadamente 2 mg/L, aproximadamente 3 mg/L, aproximadamente 4 mg/L, aproximadamente 5 mg/L, aproximadamente 6 mg/L, aproximadamente 7 mg/L, aproximadamente 8 mg/L, aproximadamente 9 mg/L o aproximadamente 10 mg/L de nitrito.

25 En algunas realizaciones, el agua comprende no más de aproximadamente 1 mg/L, aproximadamente 2 mg/L, aproximadamente 3 mg/L, aproximadamente 4 mg/L, aproximadamente 5 mg/L, aproximadamente 6 mg/L, aproximadamente 7 mg/L, aproximadamente 8 mg/L, aproximadamente 9 mg/L o aproximadamente 10 mg/L de nitrito.

30 En una realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a dicho dializado no enriquecido a través de una válvula que está unida a un tubo de dializado en una ubicación antes de que dicho tubo se conecte al dializador. En otra realización, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 200 mL/min y aproximadamente 1000 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 300 mL/min y aproximadamente 900 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 400 mL/min y aproximadamente 800 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre aproximadamente 500 mL/min y aproximadamente 700 mL/min. En otra realización más, dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal de aproximadamente 600 mL/min.

35 En una realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de la válvula al dializado no enriquecido a un caudal entre aproximadamente 0 mL/h y aproximadamente 750 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 50 mL/h y aproximadamente 650 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 100 mL/h y aproximadamente 550 mL/h, a un caudal entre aproximadamente 150 mL/h y aproximadamente 450 mL/h, o a un caudal entre aproximadamente 200 mL/h y aproximadamente 350 mL/h. En otra realización, la solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de la válvula al dializado no enriquecido a un caudal de aproximadamente 250 mL/h.

40 En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,1 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,3 y aproximadamente 8,0. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre aproximadamente 7,3 y aproximadamente 7,5. En otra realización más, el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito es de aproximadamente 7,4.

45 En otra realización más, dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal crónica. En otra realización, dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal aguda.

50 En otra realización más, dicho sujeto se somete a hemodiálisis de una a diez veces por semana. En otra realización más, dicho sujeto se somete a hemodiálisis de tres a siete veces por semana.

55 En una realización, el dializado enriquecido con nitrito tiene menos de aproximadamente 10%, aproximadamente 9%, aproximadamente 8%, aproximadamente 7%, aproximadamente 6%, aproximadamente 5%, aproximadamente 4%, aproximadamente 3%, aproximadamente 2%, aproximadamente 1%, aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,1% de descomposición de nitrito reflejada por el contenido de nitrato medido en una muestra tomada del Punto de Detección "pre" (100) o del Punto de Detección "post" (110).

Métodos de administración

5 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona la administración de nitrito sódico a un sujeto sometido a diálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a dicho dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

10 En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona además administrar nitrito sódico a un sujeto sometido a hemodiálisis, que comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde se añade una solución acuosa que comprende nitrito sódico a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis hasta una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor de aproximadamente 7,0.

15 En una realización, el dializado enriquecido con nitrito tiene menos de aproximadamente 10%, aproximadamente 9%, aproximadamente 8%, aproximadamente 7%, aproximadamente 6%, aproximadamente 5%, aproximadamente 4%, aproximadamente 3%, aproximadamente 2%, aproximadamente 1%, aproximadamente 0,4%, o aproximadamente 0,1% de descomposición de nitrito reflejada por el contenido de nitrato medido en una muestra tomada del Punto de Detección "pre" (100) o del Punto de Detección "post" (110).

Terapia de combinación

En algunas realizaciones, el nitrito sódico proporcionado en el presente documento también puede combinarse o usarse en combinación con otros agentes terapéuticos útiles en el tratamiento y/o prevención de las enfermedades y afecciones proporcionadas en el presente documento.

25 Como se usa en el presente documento, la expresión "en combinación" incluye el uso de más de una terapia (por ejemplo, uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). Sin embargo, el uso de la expresión "en combinación" no restringe el orden en el cual las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos y/o terapéuticos) se administran a un sujeto con una enfermedad o trastorno. Una primera terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico tal como un compuesto proporcionado en el presente documento) puede administrarse antes de (por ejemplo, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 96 horas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas o aproximadamente 12 semanas antes), simultáneamente con o después de (por ejemplo, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 96 horas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas o aproximadamente 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) al sujeto. También se contempla en el presente documento una terapia triple.

45 Como se usa en el presente documento, el término "sinérgico" incluye una combinación del nitrito sódico proporcionado en el presente documento y otra terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) que se ha usado o se está usando actualmente para tratar, prevenir o gestionar una enfermedad o trastorno, que es más eficaz que los efectos aditivos de las terapias. El efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) permite el uso de dosis más bajas de una o más de las terapias y/o la administración menos frecuente de dichas terapias a un sujeto con un trastorno. La capacidad de utilizar dosis más bajas de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) y/o administrar dicha terapia reduce menos frecuentemente la toxicidad asociada con la administración de dicha terapia a un sujeto sin reducir la eficacia de dicha terapia en la prevención o tratamiento de un trastorno). Además, el efecto sinérgico puede dar como resultado una eficacia mejorada de los agentes en la prevención o el tratamiento de un trastorno. Finalmente, el efecto sinérgico de una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos) puede evitar o reducir efectos secundarios adversos o no deseados asociados con el uso de cualquiera de las terapias solas.

El nitrito sódico proporcionado en el presente documento puede administrarse en combinación o alternancia con otro agente terapéutico. En la terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más agentes se administran juntas, mientras que en la terapia de alternancia o de etapas secuenciales, una dosis efectiva de cada agente se administra en serie o secuencialmente. Las dosis dadas dependerán de las velocidades de absorción, inactivación y excreción

del fármaco, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica. Debe observarse que los valores de dosificación también variarán con la gravedad de la afección que va a aliviarse. Debe entenderse además que para cualquier sujeto particular, los regímenes y pautas de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones.

El nitrito sódico proporcionado en el presente documento puede administrarse en combinación con otras clases de compuestos, que incluyen, inhibidores de la enzima convertidora de la endotelina (ECE), tales como fosforamidona; antagonistas de los receptores del tromboxano, tales como ifetroban; abridores de los canales del potasio; inhibidores de la trombina, tales como la hirudina; inhibidores del factor del crecimiento, tales como moduladores de la actividad de PDGF; antagonistas del factor activador de las plaquetas (PAF); agentes antiplaquetarios, tales como bloqueantes de GPIIb/IIIa (por ejemplo, abciximab, eptifibatida y tirofiban), antagonistas de P2Y(AC) (por ejemplo, clopidogrel, ticlopidina y CS-747) y aspirina; anticoagulantes, tales como warfarina; heparinas de bajo peso molecular, tales como enoxaparina; inhibidores del factor VIIa e inhibidores del factor Xa; inhibidores de la renina; inhibidores de endopeptidasa neutra (NEP); inhibidores de la vasopectidasa (inhibidores dobles de NEP-ACE), tales como omapatrilato y gemopatrilato; inhibidores de HMG CoA reductasa, tales como pravastatina, lovastatina, atorvastatina, simvastatina, NK-104 (a.k.a itavastatina, nisvastatina o nisbastatina) y ZD-4522 (también conocido como rosuvastatina, atavastatina o visastatina); inhibidores de la escualeno sintetasa; fibratos; secuestrantes de ácidos biliares, tales como questran; niacina; agentes antiateroscleróticos, tales como inhibidores de ACAT; inhibidores de MTP; bloqueadores de los canales del calcio, tales como besilato de amlodipina; activadores de los canales del potasio; agentes alfa-adrenérgicos; agentes beta-adrenérgicos, tales como carvedilol y metoprolol; agentes antiarrítmicos; diuréticos, tales como clorotiazida, hidroclorotiazida, flumetiazida, hidroflumetiazida, bendroflumetiazida, metilclorotiazida, triclormetiazida, politiazida, benzotiazida, ácido etacrínico, ticrinafeno, clortalidona, furosenida, muzolimina, bumetanida, triamtereno, amilorida y espironolactona; agentes trombolíticos, tales como el activador del plasminógeno tisular (tPA), tPA recombinante, estreptoquinasa, uroquinasa, prouroquinasa y complejo activador de estreptoquinasa del plasminógeno anisoilado (APSAC); agentes anti diabéticos, tales como biguanidas (por ejemplo, metformina), inhibidores de la glucosidasa (por ejemplo, acarbosa), insulinas, meglitinidas (por ejemplo, repaglinida), sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, gliburida y glipizida), tiozolidindionas (por ejemplo, troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona) y agonistas de PPAR-gamma; antagonistas de los receptores mineralocorticoides, tales como espironolactona y eplerenona; secretagogos de la hormona del crecimiento; inhibidores de aP2; inhibidores de la fosfodiesterasa, tales como inhibidores de PDE III (por ejemplo, cilostazol) e inhibidores de PDE V (por ejemplo, sildenafilo, tadalafilo y vardenafilo); inhibidores de proteína tirosina quinasa; antiinflamatorios; antiproliferativos, tales como metotrexato, FK506 (tacrolimus), micofenolato mofetilo; agentes quimioterapéuticos; inmunosupresores; agentes anticancerosos y agentes citotóxicos (por ejemplo, agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas, etileniminas y triazenos); antimetabolitos, tales como antagonistas de folato, análogos de purina y análogos de pirimidina; antibióticos, tales como antraciclinas, bleomicinas, mitomicina, dactinomicina y plicamicina; enzimas, tales como L-asparaginasa; inhibidores de la farnesil-proteína transferasa; agentes hormonales, tales como glucocorticoides (por ejemplo, cortisona), estrógenos/antiestrógenos, andrógenos/antiandrógenos, progestinas y antagonistas de hormonas liberadoras de hormonas luteinizantes y acetato de octreotida; agentes rompedores de microtúbulos, tales como ecteinascidinas; agentes estabilizantes de los microtúbulos, tales como paclitaxel, docetaxel y epotilonas A-F; productos derivados de plantas, tales como alcaloides de la vinca, epipodofilotoxinas y taxanos; e inhibidores de la topoisomerasa; inhibidores de la prenil-proteína transferasa; y ciclosporinas; esteroides, tales como prednisona y dexametasona; fármacos citotóxicos, tales como azatioprina y ciclofosfamida; inhibidores de TNF-alfa, tales como tenidap; anticuerpos anti-TNF o receptores solubles de TNF, tales como etanercept, rapamicina y leflunimida; inhibidores de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), tales como celecoxib y rofecoxib; y agentes diversos tales como tiosulfato de sodio, hidroxurea, procarbazona, mitotano, hexametilmelamina, compuestos de oro, medicaciones de bajo peso molecular, vitaminas de bajo peso molecular y complejos de coordinación de platino, tales como cisplatino, satraplatino y carboplatino.

El nitrito sódico proporcionado en el presente documento puede administrarse en combinación con otros solutos que están presentes de manera natural en la sangre humana incluyendo cobre, fluoruro, yodo, hierro, manganeso, magnesio, fósforo, selenio, tiosulfato y cinc.

La divulgación se entenderá adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

### Ejemplos

Como se usa en el presente documento, los símbolos y convenciones usados en estos experimentos, procedimientos, esquemas y ejemplos, independientemente de si se define específicamente una abreviatura particular, son consistentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el Journal of the American Chemical Society o el Journal of Biological Chemistry. Específicamente, pero sin limitación, las siguientes abreviaturas se pueden usar en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva: g (gramos); mg (miligramos); mL (mililitros); µL (microlitros); mM (milimolar); µM (micromolar); nM (nanomolar); mmol (milimoles); eq. (equivalentes); h (horas); min (minutos).

Para todos los siguientes experimentos y el siguiente ejemplo, se pueden utilizar métodos de tratamiento y purificación estándar conocidos por los expertos en la técnica. A menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en °C (grados centígrados). Todas las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente a menos que se indique lo contrario. Las metodologías ilustradas en los siguientes ejemplos pretenden ejemplificar la química aplicable a través del uso de ejemplos específicos y no son indicativas del alcance de la invención, que está delimitado por el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

#### Experimentos de estabilidad

Los resultados de los siguientes experimentos de estabilidad (Ejemplos 1 a 4) ejemplifican la inestabilidad del nitrito en solución acuosa cuando se añade un ácido y también la inestabilidad del nitrito cuando se mezcla con una solución que comprende una solución concentrada de un ácido y una solución concentrada de bicarbonato en la preparación de un dializado para diálisis.

La concentración de nitrito en las muestras se ensayó por cromatografía iónica. El cromatógrafo de iones estaba equipado con un detector de conductividad, un sistema de supresión auto-regenerador, un generador de eluyentes y una columna analítica Dionex IonPacAS19. La concentración de nitrito en las muestras se midió y se calculó frente a un patrón de nitrito sódico externo. El patrón de referencia de nitrito sódico USP (número de artículo 1614454) fue el patrón de ensayo (farmacopea de los Estados Unidos. Rockville, Maryland).

#### Ejemplo 1

La Ficha Internacional de Seguridad Química del nitrito sódico indica que el producto químico se descompone al contacto con un ácido para producir humos tóxicos de óxidos de nitrógeno (Programa Internacional de Seguridad Química accedido en línea en [www.ilo.org/dyn/icsc/shovercard.dispay?p\\_card\\_id-1120](http://www.ilo.org/dyn/icsc/shovercard.dispay?p_card_id-1120)).

El Ejemplo 1 se realizó para determinar la estabilidad del nitrito sódico en solución acuosa cuando se añade un ácido. Se ensayó una muestra de 100 mL de solución de nitrito sódico con una concentración de 30 mg/mL para determinar la presencia de gases de óxido de nitrógeno (NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, y N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) usando un electrodo de óxido de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) Orion Modelo 95-46 y un pHímetro. Con agitación constante, se registraron la lectura de mV con el electrodo de NO<sub>x</sub> y la lectura de pH con el electrodo de pH después de adiciones sucesivas de 100 µL de ácido clorhídrico 0,02 N o 1 N. El pH inicial de la solución de nitrito sódico fue de 8,73. Cuando el pH de la solución de nitrito sódico disminuyó a 6,7 junto con la adición sucesiva de ácido clorhídrico, se detectaron óxidos de nitrógeno (límite de detección: 1 ppm de NO<sub>x</sub>). La respuesta del electrodo de óxido de nitrógeno aumentó de 8,0 mV a 99,5 mV cuando el pH de la solución de nitrito sódico disminuyó de 6,7 a 4,9. Estos resultados confirman que el nitrito sódico se descompone cuando se expone a un ácido y que el grado de descomposición es generalmente inversamente proporcional al pH.

#### Ejemplo 2

El Ejemplo 2 se realizó para determinar la estabilidad del nitrito sódico en una solución concentrada de bicarbonato para dializado. A temperatura ambiente, se añadieron 300 mg de nitrito sódico a 7.700 mL de solución concentrada de bicarbonato para dializado. La concentración de nitrito de la solución concentrada de bicarbonato para dializado se analizó mediante cromatografía iónica 1) antes de la adición de nitrito sódico; 2) 5 minutos después de la adición de nitrito sódico; y 3) 2 horas después de la adición de nitrito sódico. Los resultados presentados en la Tabla 1 muestran que el nitrito es estable y no se degrada para formar nitrato cuando se añade a la solución concentrada de bicarbonato para dializado.

Tabla 1. Concentración de nitrito en el concentrado de bicarbonato para dializado

| Muestra   | Concentración esperada de nitrito | Concentración de nitrito por análisis | % de recuperación | Concentración de nitrato |
|---|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------|--------------------------|
| Solución concentrada de bicarbonato para dializado  | 0                                 | Ninguna detectada                     | NA                | Ninguna detectada        |
| Concentrado de bicarbonato para dializado + nitrito sódico después de 5 minutos           | 38,1 mg/L                         | 38,0 mg/L                             | 100%              | Ninguna detectada        |
| Concentrado de bicarbonato para dializado + solución de nitrito sódico después de 2 horas | 38,1 mg/L                         | 38,5 mg/L                             | 101%              | Ninguna detectada        |

40

**Ejemplo 3**

El Ejemplo 3 se realizó para determinar adicionalmente la estabilidad del nitrito en la mezcla de nitrito sódico y solución concentrada de bicarbonato para dializado del Ejemplo 2 cuando se mezcló con una solución concentrada de ácido dentro de una máquina de diálisis.

- 5 Una máquina de diálisis mezcló la solución concentrada de bicarbonato para dializado (con nitrito sódico añadido del Ejemplo 2), una solución concentrada de ácido y agua purificada como la máquina de diálisis mezcla el dializado en la práctica clínica, con la relación de dilución de 1 parte de la solución concentrada de ácido, 1,72 partes de la solución concentrada de bicarbonato y 42,38 partes de agua purificada. La máquina de diálisis usada para este experimento fue una máquina de hemodiálisis Fresenius 2008K (Fresenius Medical Care, Waltham, MA). La máquina se cebó en modo de derivación (los caudales de dializado y ultrafiltración se ajustaron a cero) usando solución salina normal.
- 10 Después del cebado, la máquina de hemodiálisis se puso en funcionamiento en "modo de terapia" con los siguientes ajustes: caudal de sangre 300 mL/minuto, caudal de dializado 600 mL/minuto, caudal de ultrafiltración 0 mL/minuto y tiempo de ultrafiltración 25 minutos. Se recogió una muestra del dializado mezclado a medida que salía de la máquina de diálisis y se analizó mediante cromatografía iónica.
- 15 Los resultados presentados en la Tabla 2 muestran que el nitrito en la solución concentrada de bicarbonato para dializado se descompuso completamente en el proceso de mezcla con una solución concentrada de ácido dentro de la máquina de diálisis.

Tabla 2. Concentración de nitrito en el dializado después de mezclar en la máquina de hemodiálisis

| Muestra                          | Concentración esperada de nitrito | Concentración de nitrito por análisis | % de recuperación |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| Dializado mixto + nitrito sódico | 1,46 mg/L                         | Ninguna detectada                     | 0%                |

**Ejemplo 4**

- El Ejemplo 4 se realizó para determinar la estabilidad del nitrito cuando se añade nitrito sódico al dializado después de que el dializado haya sido preparado en un laboratorio. Usando la relación de dilución de 1 parte de la solución concentrada de ácido, 1,72 partes de la solución concentrada de bicarbonato y 42,38 partes de agua purificada, se preparó un litro de dializado en un laboratorio añadiendo 38,22 mL de solución concentrada de bicarbonato y 22,22 mL de solución concentrada de ácido a 938,56 mL de agua purificada. El pH de la solución de dializado fue 7,34 a 24,9 °C. A la solución premezclada de 1 L de dializado se añadió un mL de solución de nitrito sódico de concentración 3 mg/mL. Después de la adición de la solución de nitrito sódico, el pH de la solución de dializado fue 7,32 a 24,4 °C. Se analizó una muestra de la solución de dializado con nitrito sódico añadido para determinar la concentración de nitrito. Los resultados presentados en la Tabla 3 muestran que el nitrito se descompuso parcialmente después de la adición a una solución de dializado premezclada.
- 20
- 25
- 30

Tabla 3. Concentración de nitrito en el dializado premezclado en un laboratorio

| Muestra                          | Concentración esperada de nitrito | Concentración de nitrito por análisis | % de recuperación |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| Dializado mixto + nitrito sódico | 2,997 mg/L                        | 1,149 mg/L                            | 38%               |

**Ejemplo 5**

- 35 El Ejemplo 5 se realizó para determinar la estabilidad del nitrito cuando se añade nitrito sódico al dializado después de que el dializado se haya preparado dentro de una máquina de hemodiálisis Fresenius 2008K (Fresenius Medical Care, Waltham, MA). Se preparó una solución concentrada de bicarbonato para dializado añadiendo 1 envase de polvo concentrado de bicarbonato sódico de la serie Centrisol® MB-330 (650 g) a 7,7 litros de agua purificada.
- 40 La máquina de hemodiálisis mezcló la solución concentrada de bicarbonato y la solución concentrada de ácido con la relación de dilución de 1 parte de solución concentrada de ácido, 1,72 partes de solución concentrada de bicarbonato y 42,38 partes de agua purificada. La máquina se cebó en modo de derivación (los caudales de dializado y ultrafiltración se ajustaron a cero) usando solución salina normal. Después del cebado, la máquina de hemodiálisis se puso en funcionamiento en "modo de terapia" con los siguientes ajustes: caudal de sangre 300 mL/minuto, caudal de



dializado 600 mL/minuto, caudal de ultrafiltración 0 mL/minuto.

5 Se preparó una solución acuosa de nitrito sódico disolviendo 3 mg de nitrito sódico en 1 litro de agua purificada. Esta solución de nitrito sódico cumplió con la especificación de calidad AAMI para nitrato (y nitrito) ya que la solución de nitrito sódico resultante tenía una concentración de anión nitrito de aproximadamente 2 mg/L. La solución de nitrito sódico se infundió directamente en el tubo de dializado entre la máquina de hemodiálisis y el dializador a través de una válvula (Válvula de Muestra de Dializado Fresenius: pieza nº 650993) usando un bomba de infusión Alaris® IV (Modelo 8100, CareFusion, San Diego, CA). Esta válvula se colocó en el tubo de dializado aproximadamente 20,32 cm (ocho pulgadas) aguas arriba del dializador (prefiltro). Se colocaron dos orificios de muestreo 10,16 cm (cuatro pulgadas) aguas arriba (orificio de muestreo previo al dializador) y 25,4 cm (diez pulgadas) aguas abajo (orificio de muestreo posterior al dializador) del dializador para recoger muestras de dializado para el análisis de nitrato mediante cromatografía iónica.

10 La bomba de infusión infundió la solución de nitrito sódico en el tubo a través de la válvula a un caudal de 250 mL/hora (4,16 mL/minuto).

15 La solución salina normal fluyó hacia el dializador a un caudal de 300 mL/minuto desde la línea arterial y salió del dializador a través de la línea venosa. Se recogieron muestras de solución salina del lado venoso del dializador.

Los resultados presentados en la Tabla 4 muestran que el nitrito es estable cuando una solución de nitrito sódico se mezcla con dializado dentro de un tubo de dializado cuando se infunde dentro del tubo en una ubicación que está entre la máquina de hemodiálisis y la membrana dializadora.

20 Tabla 4. Concentración de nitrito en el dializado antes y después de añadir la solución de nitrito sódico al dializado dentro del tubo de dializado antes de poner en contacto el dializado con la membrana dializadora

| Muestra   | Concentración de nitrito * antes de la adición de nitrito sódico (tiempo = 0 min) | Concentración de nitrito* después de la adición de nitrito sódico (tiempo = 60 min) |
|---|---|---|
| Dializado + solución de nitrito sódico (antes del dializador)   | 0   | 451 nM  |
| Dializado + solución de nitrito sódico (después del dializador) | 0   | 235 nM  |
| Solución salina (después del dializador)                        | 0   | 183 nM  |

\* Resultados medios de dos muestras

Los resultados presentados en la Tabla 4 muestran que el nitrito puede pasar a lo largo o a través de un dializador si el nitrito se añade al dializado no enriquecido de la máquina de hemodiálisis en una ubicación entre la máquina de hemodiálisis y la membrana dializadora.

25 El ejemplo expuesto anteriormente se proporciona para dar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo hacer y usar las realizaciones reivindicadas.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Nitrito sódico para su uso en un método para prevenir el infarto de miocardio, la muerte cardíaca súbita, el accidente cerebrovascular, la presión sanguínea alta, la hipertensión pulmonar, la hipertensión renal o la enfermedad cardiovascular que se caracterizan mediante isquemia tisular que incluye angina, vasoespasmo cerebral, claudicación, isquemia crítica de extremidades, enfermedad vascular periférica y crisis de células falciformes, en un sujeto sometido a hemodiálisis, en donde el método comprende poner en contacto intradialíticamente dicha sangre del sujeto con una membrana dializadora que también está en contacto con un dializado enriquecido con nitrito, en donde una solución acuosa que comprende el nitrito sódico se añade a un dializado no enriquecido a medida que el dializado no enriquecido fluye desde una máquina de diálisis a una membrana dializadora, en donde dicho dializado no enriquecido comprende una mezcla de agua, una solución concentrada de ácido y una solución concentrada de bicarbonato, y en donde dicho dializado enriquecido con nitrito tiene un pH mayor que 7,0.
- 10 2. El nitrito sódico para uso según la reivindicación 1, en donde la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto no es más de 1 micromolar.
- 15 3. El nitrito sódico para uso según la reivindicación 1, en donde la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto está entre 200 nanomolar y 500 nanomolar, o en donde la concentración fisiológica de nitrito en dicho sujeto es 300 nanomolar.
4. El nitrito sódico para uso según la reivindicación 1, en donde la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito no es más de 1 micromolar.
- 20 5. El nitrito sódico para uso según la reivindicación 1, en donde la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito está entre 200 nanomolar y 500 nanomolar, o en donde la concentración de nitrito en dicho dializado enriquecido con nitrito es 300 nanomolar.
6. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 1, en donde dicha solución acuosa que comprende el nitrito sódico comprende no más de 3 mg/L de nitrito sódico.
7. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 1, en donde dicha agua comprende no más de 2 mg/L de nitrito.
- 25 8. El nitrito sódico para uso según la reivindicación 1, en donde dicha solución acuosa que comprende el nitrito sódico se añade a dicho dializado no enriquecido a través de una válvula que está unida a un tubo de dializado en una ubicación antes de que dicho tubo se conecte al dializador.
- 30 9. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 8, en donde dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal entre 500 mL/min y 700 mL/min, o en donde dicho dializado no enriquecido fluye a través de dicho tubo de diálisis a un caudal de 600 mL/min.
10. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 8, en donde dicha solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de dicha válvula a dicho dializado no enriquecido a un caudal de entre 100 mL/h y 550 mL/h, o en donde dicha solución acuosa que comprende nitrito sódico se añade a través de dicha válvula a dicho dializado no enriquecido a un caudal de 250 mL/h.
- 35 11. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 1, en donde el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito está entre 7,3 y 7,5, o en donde el pH de dicho dializado enriquecido con nitrito es 7,4.
12. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 1, en donde dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal crónica, o en donde dicho sujeto es un ser humano con insuficiencia renal aguda.
- 40 13. El nitrito sódico para su uso según la reivindicación 1, en donde dicho sujeto se somete a hemodiálisis de tres a siete veces por semana.

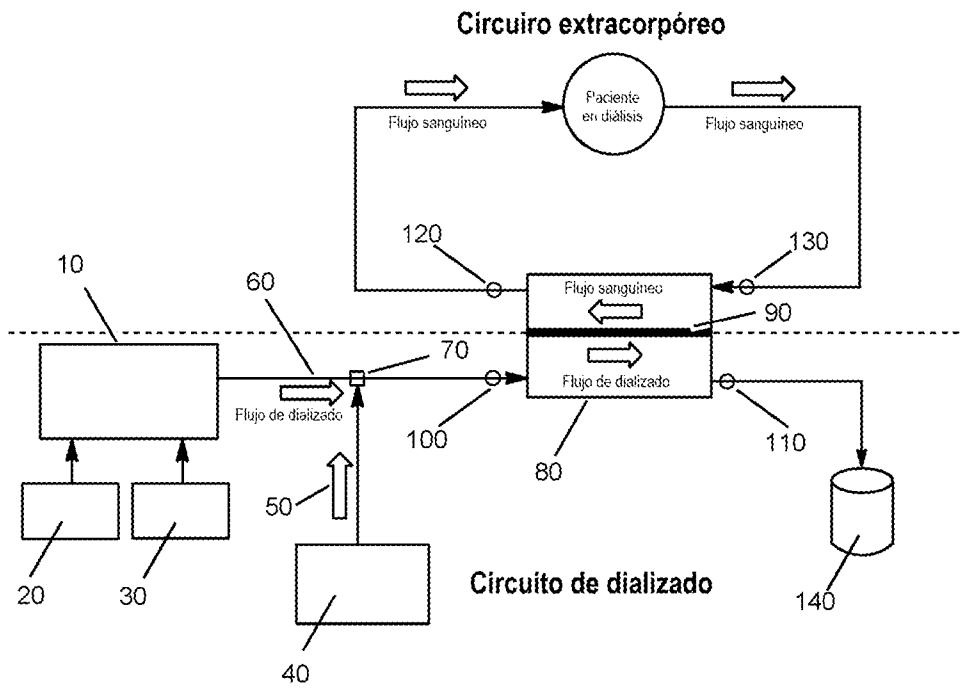


Fig. 1