

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 523**

51 Int. Cl.:

A01N 1/02 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61K 31/375 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.12.2013 PCT/US2013/078064**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO14106091**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.12.2013 E 13868525 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2938187**

54 Título: **Solución para la conservación de conductos vasculares**

30 Prioridad:

31.12.2012 US 201261848349 P

31.12.2012 US 201261848350 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.01.2018

73 Titular/es:

SOMAH LUTION, LLC (100.0%)
225 Chimney Corner Lane
Jupiter, FL 33458, US

72 Inventor/es:

SURYAN, MAHENDRA y
MENON, SATISH

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 648 523 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

Solución para la conservación de conductos vasculares

Aplicación relacionada

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de y la prioridad para las Solicitudes Provisionales en trámite solicitadas con anterioridad Nos. 61/848,350 y 61/848,349, ambas presentadas el 31 de diciembre de 2012.

Campo

La presente invención se refiere a formulaciones para conservar la función de los tejidos y órganos y más particularmente a formulaciones estables en almacenamiento para conservar la función de los tejidos y órganos, en particular la función de los conductos vasculares, antes de la implantación.

10 Antecedentes

Los tejidos y órganos para implantación o trasplante en un sujeto se almacenan extracorporalmente en formulaciones líquidas que conservan la función de los tejidos y órganos hasta la implantación. Las formulaciones conservadoras de tejidos y órganos son conocidas. Una formulación de interés se describe en la patente de los Estados Unidos No. 7,981,596, que se incorpora como referencia en su totalidad. La formulación conservante de tejidos y órganos descrita en la patente de los Estados Unidos No. 7,981,596 generalmente se denomina en la literatura como la formulación GALA, que hace referencia a glutatión, ácido ascórbico y L-arginina. La formulación GALA se basa en la solución salina balanceada de Hank (HBSS), una solución salina fisiológica disponible comercialmente que contiene 1 g/l de D-glucosa, 0,14 g/l de cloruro de calcio (anhidro), 0,4 g/l de cloruro de potasio, 0,06 g/l de fosfato de potasio, 0,1 g/l de hexahidrato de cloruro de magnesio, 0,1 g/l de heptahidrato de cloruro de magnesio, 8 g/l de cloruro de sodio, 0,35 g/l de bicarbonato de sodio, y 0,048 g/l de fosfato de sodio. Como se describe en la patente '596, se añaden al HBSS ácido ascórbico (vitamina C), glutatión reducido, L-arginina y heparina. Esta solución proporciona eliminadores de radicales libres, antioxidantes, un sustrato de óxido nítrico (NO), un agente reductor, una fuente de energía (glucosa), un anticoagulante y concentraciones fisiológicas de electrolitos y reguladores.

25 Los documentos US 2012/264103 y WO 01/76364 también describen la formulación de GALA. En el documento de Estados Unidos 2012/026410, la formulación también incluye citrulina, adenosina, creatina, glucosa y carnitina, y/o insulina.

30 La vida útil de la formulación de GALA es limitada debido a la inestabilidad de diversos componentes de la formulación. La vida útil relativamente corta de la formulación GALA puede limitar su utilidad. Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar la formulación de GALA para mejorar la estabilidad de sus componentes y de ese modo alargar su vida útil.

35 En un documento titulado "Kinetic studies on Decomposition of Glutathione. II. Anaerobic Decomposition in Aqueous Solution" en Chem. Pharm. Bull, 1 January 2980, páginas 514-520, Aruga Masaoyshi demuestra que la descomposición del glutatión reducido tiene lugar rápidamente en una solución ácida. La rata de descomposición mostró un mínimo a un pH de 5-6, y un máximo a un pH de 8,5 y una meseta en el intervalo de pH de 10-12.

G. B. Golubitskii et al, describe en "Stability of ascorbic acid in aqueous and aqueous-organic solution for quantitative determination", Journal of Analytical Chemistry, vol. 62, no. 8, 1 de agosto de 2007, páginas 742-747, la estabilidad del ácido ascórbico a diferentes pH. En el intervalo de pH de 1,0 a 4,4, la rata de descomposición aumenta, mientras que a un pH de 5,4-7,2 disminuye.

40 Resumen

Se describen aquí mejoras a la formulación de GALA que tiene estabilidad mejorada y vida útil aumentada con respecto a la formulación original. También se describen métodos para usar las formulaciones mejoradas.

45 La presente invención se basa en la realización de que la estabilidad de las formulaciones de conservación de tejidos, particularmente la formulación de GALA, puede mejorarse separando la formulación en una primera solución que tiene un pH de al menos 7 y una segunda solución con un pH inferior a 7. La primera solución incluye componentes con estabilidad mejorada cuando se almacena a un pH de 7,0 o superior y la segunda solución incluye componentes con estabilidad mejorada cuando se almacena a un pH inferior a 7,0. La primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar tal como D-glucosa y L-arginina a un pH de al menos 7,0 y preferiblemente a un pH que varía desde pH 7,0 a pH 8,5. La segunda solución incluye agua, ácido ascórbico y glutatión reducido a un pH de menos de 7,0 y preferiblemente desde pH 6,9 a pH 2,8. En el punto de uso, la primera y la segunda solución se mezclan para formar una formulación final que se puede usar a un pH fisiológico de pH 7,4 para conservar la función del tejido u órgano.

De acuerdo con la invención, se proporciona un kit para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:

un primer recipiente que contiene una primera solución, en el que la primera solución está compuesta de agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;

- 5 un segundo recipiente que contiene una segunda solución, en el que la segunda solución consiste en agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0.

En un segundo aspecto de la invención proporciona un método para preparar una formulación para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:

proporcionar una primera solución en la que la primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;

- 10 proporcionar una segunda solución, en la que la segunda solución consiste en agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0; y

mezclando la primera solución con la segunda solución para formar la formulación completa para conservar la función de un tejido o función.

- 15 Un aspecto adicional de la invención proporciona un método para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:

proporcionar una primera solución en la que la primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;

proporcionar una segunda solución, en la que la segunda solución incluye agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0;

- 20 mezclar la primera solución con la segunda solución para formar la formulación completa para conservar la función de un tejido o función; y

contactar un tejido u órgano con la formulación completa.

Breve descripción de los dibujos

- 25 Los dibujos adjuntos, que se incorporan en y constituyen una parte de esta memoria descriptiva, ilustran varias realizaciones de la invención y, junto con una descripción general de la invención dada anteriormente y la descripción detallada de las realizaciones dadas a continuación, sirven para explicar las realizaciones de la invención.

La figura 1 es una vista en perspectiva de una bolsa de cámaras múltiples de acuerdo con las realizaciones de la invención.

- 30 La figura 2 es una vista en perspectiva de un kit que tiene un primer recipiente y un segundo recipiente de acuerdo con las realizaciones de la invención.

Descripción detallada

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona de experiencia ordinaria en la técnica a la que pertenece esta invención.

- 35 Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí se pueden usar en la práctica o prueba de la presente invención, se describen los métodos y materiales preferidos. Para los fines de la presente invención, los siguientes términos se definen a continuación.

Como se usa aquí, "órgano" incluye, pero no se limita a, el corazón, las venas, las arterias, los pulmones, el hígado, el páncreas y los riñones. También se contemplan porciones de órganos.

- 40 Como se usa aquí, "agua estéril" incluye, pero no se limita a, (a) agua estéril para inyección, USP, (b) agua desionizada destilada estéril, y (c) agua estéril para irrigación.

Como se usa aquí, "antioxidante" es una sustancia que, cuando está presente en una mezcla o estructura que contiene una molécula biológica de sustrato oxidable, retrasa o evita la oxidación de la molécula biológica del sustrato. Por ejemplo, el ácido ascórbico es un antioxidante.

- 45 Como se usa aquí, "solución salina balanceada" se define como una solución acuosa que está equilibrada osmóticamente para evitar daño celular o tisular agudo.

Como se usa aquí, la "solución fisiológica" se define como una solución salina acuosa que es compatible con el tejido normal en virtud de ser isotónica con el fluido intersticial normal.

Como se usa aquí, "injerto" se define como tejido que se trasplanta o implanta en parte del cuerpo para reparar un defecto.

5 Como se usa aquí, "cardioplegia" incluye, pero no se limita a, parálisis del corazón.

Como se usa aquí, el "agente reductor celular" se define como una sustancia que pierde electrones fácilmente provocando de este modo que se reduzca químicamente otra sustancia.

10 La presente invención proporciona un kit de preservación de tejidos de dos partes que finalmente forma una solución de GALA, que incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar, L-arginina, ácido ascórbico y un agente reductor celular tal como glutatión reducido.

La estabilidad de la formulación GALA se puede mejorar separando la formulación en una primera solución que tiene un pH de al menos 7 y una segunda solución que tiene un pH inferior a 7. La primera y la segunda solución se mezclan para formar una formulación final GALA isotónica que puede usarse a un pH fisiológico de alrededor de pH 7,4 para conservar la función del tejido u órgano.

15 La primera solución incluye componentes con estabilidad mejorada cuando se almacena a un pH de 7,0 o superior. La primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar como D-glucosa, fructosa o manosa y L-arginina. La solución salina balanceada incluye sales seleccionadas de las siguientes: de cloruro de calcio anhidro, cloruro de potasio, fosfato de potasio monobásico, hexahidrato de cloruro de magnesio, heptahidrato de sulfato de magnesio, cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, heptahidrato dibásico de fosfato de sodio y combinaciones de los
20 mismos. La solución de sal equilibrada se proporciona a una concentración que dará como resultado una solución isotónica cuando la primera y la segunda solución se mezclan. En una realización de ejemplo, la solución salina balanceada de 0,14 gramos/litro de cloruro de calcio anhidro, 0,4 gramos/litro de cloruro de potasio, 0,06 gramos/litro de fosfato de potasio monobásico, 0,1 gramos/litro de hexahidrato de cloruro de magnesio, 0,1 gramos/litro de heptahidrato de sulfato de magnesio, 8 gramos/litro de cloruro de sodio, 0,35 gramos/litro de bicarbonato de sodio y
25 0,05 gramos/litro de heptahidrato de fosfato de sodio dibásico.

La primera solución tiene un pH de al menos pH 7,0 y preferiblemente un pH que varía desde pH 7,0 a pH 8,5. En una realización preferida, la primera solución tiene un pH de al menos pH 8,0 y preferiblemente el pH está en un intervalo desde pH 8,0 a pH 8,5.

30 La segunda solución incluye componentes con estabilidad mejorada cuando se almacena a un pH inferior a 7,0. La segunda solución consiste en agua, ácido ascórbico y glutatión reducido. Los componentes de la segunda solución se proporcionan en concentraciones relativas para dar como resultado una formulación final isotónica cuando la primera solución se mezcla con la segunda solución. En una realización de ejemplo, la segunda solución incluye 0,3106 gramos de L-glutatión reducido, por 50 mililitros de agua y 0,09 gramos de ácido L-ascórbico por 50 mililitros de agua. El pH de la segunda solución es inferior a 7 y preferiblemente desde pH 6,9 a pH 2,7. En otra realización
35 preferida, el pH de la segunda solución es menor que pH 4 y preferiblemente desde pH 4 a pH 2,7. En otra realización, el pH de la segunda solución está en un intervalo de pH 3,3 a pH 2,7 y preferiblemente pH 3.

En una realización de ejemplo, la proporción volumétrica entre la primera solución y la segunda solución es 19:1. En una realización preferida, se mezclan 950 ml de la primera solución con 50 ml de la segunda solución para dar como resultado la formulación final para conservar la función de un tejido u órgano.

40 La primera o segunda formulaciones pueden incluir opcionalmente un anticoagulante en una cantidad suficiente para ayudar a prevenir la coagulación de la sangre dentro de la vasculatura de un tejido u órgano. Los ejemplos de anticoagulantes incluyen heparina e hirudina, pero pueden usarse otros anticoagulantes. Una realización de ejemplo incluye heparina en intervalos de concentración de aproximadamente 50 unidades/litro a aproximadamente 250 unidades/litro.

45 Durante el uso, la primera y la segunda solución se mezclan entre sí para formar una formulación final que puede usarse a un pH fisiológico en un intervalo entre pH 7,2 y aproximadamente pH 7,6 y preferiblemente pH 7,4, para conservar la función del tejido u órgano. Si la mezcla de las soluciones primera y segunda no tiene un pH fisiológico en un rango entre pH 7,2 y pH 7,6, el pH de la mezcla se puede ajustar al pH fisiológico con una base o ácido.

50 Las realizaciones de la invención pueden proporcionarse en un kit en el que la primera y la segunda solución se proporcionan en compartimentos o recipientes separados que se pueden mezclar en el punto de uso para dar como resultado la formulación final.

55 La figura 1 ilustra un kit que incluye un contenedor 10 de ejemplo que tiene un primer compartimento 12 separado de un segundo compartimento 14 por una división extraíble que incluye un miembro 16 macho y un miembro 18 hembra. La primera solución se mantiene en uno del primero 12 o segundo 14 compartimentos y la segunda solución se mantiene en el otro del primero 12 o segundo 14 compartimentos. La primera y la segunda solución se

pueden mezclar eliminando la partición extraíble, lo que da como resultado que el primer y el segundo compartimentos formen ahora un único compartimento que contenga la formulación final para conservar la función del tejido. La mezcla puede entonces usarse cuando sea necesario.

5 La figura 2 ilustra un kit alternativo que tiene un primer recipiente 22 y un segundo recipiente 24. La primera solución se proporciona en el primer recipiente 22 y la segunda solución se proporciona en el segundo recipiente 24. Durante el uso, la segunda solución se transfiere desde el segundo recipiente 24 al primer recipiente 22 donde la primera y la segunda solución se mezclan para formar la formulación final para conservar la función de un tejido u órgano. El kit puede incluir opcionalmente un conservante, tal como un absorbedor de oxígeno 26, y una bolsa 28 para proteger y opcionalmente almacenar uno o ambos de los primeros 22 y segundos 24 recipientes. El kit también puede incluir 10 opcionalmente un dispositivo, tal como una jeringa (no mostrada), para transferir los contenidos de uno de los recipientes al otro recipiente.

En la realización mostrada en la Figura 2, la primera solución se llena asépticamente en el primer recipiente 24, tal como una botella Nalgene preesterilizada, que luego se asegura con un tapón de rosca de HDPE preesterilizado. El primer recipiente puede etiquetarse como Botella A.

15 La segunda solución se llena asépticamente en el segundo recipiente 26, tal como un vial de vidrio borosilicato preesterilizado, Tipo I, que se asegura con un septo Stelmi preesterilizado, que se mantiene en su lugar con un sello desprendible. El sello desprendible se sella por encogimiento en la botella utilizando un proceso de encogimiento validado como la configuración de encogimiento recomendada por el fabricante. El segundo recipiente puede etiquetarse como botella B. La botella B se desgasifica con gas de Argón durante el proceso de mezclado y llenado 20 para reducir la presencia de oxígeno. El frasco B se coloca luego en una bolsa 28, tal como una bolsa Mylar rellena con gas argón y un absorbedor 28 de oxígeno, para reducir la exposición al oxígeno durante su vida útil. La botella y la bolsa se etiquetan.

El primer recipiente 22 que contiene la primera solución y la bolsa 28 que contiene el segundo recipiente que contiene la segunda solución se colocan luego en un paquete, tal como una caja preimpresa de cartulina. El folleto 25 también se coloca en el paquete y la caja es sellada y etiquetada para su distribución.

Las realizaciones a modo de ejemplo del kit producirán aproximadamente 1 litro de la formulación final y estarán en aproximadamente 950 mililitros de la primera solución y aproximadamente 50 mililitros de la segunda solución. Si bien se espera que la mezcla de la primera y la segunda solución proporcionada en el kit dé como resultado una mezcla que tenga el pH fisiológico deseado, los kits podrían incluir opcionalmente un dispositivo para medir el pH de la mezcla, como papel de tornasol, y un conjunto de agentes de ajuste del pH, es decir, una base (por ejemplo, solución acuosa al 84% de NaHCO₃) y un ácido (por ejemplo, 4N HCl), para ajustar el pH de la mezcla para dar como resultado una formulación final que tiene el pH fisiológico deseado.

La siguiente tabla proporciona una formulación a modo de ejemplo para la primera y segunda soluciones.

TABLA 1: PRIMERA SOLUCIÓN (1x)

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
Cloruro de calcio anhidro	0,14
Cloruro de potasio	0,4
Fosfato de potasio, monobásico	0,06
Cloruro de magnesio, hexahidrato	0,10
Sulfato de magnesio, heptahidrato	0,1
Cloruro de sodio	8,0
Bicarbonato de sodio	0,35
Fosfato de sodio, heptahidrato dibásico	0,050
D-Glucosa	1,0

COMPONENTE	CANTIDAD (g/L)
L-Arginina	0,15
pH	8,30±0,2
Color	transparente

Se pueden usar otras sales para proporcionar los iones activos siempre que la formulación final formada a partir de la mezcla de la primera y segunda soluciones sea isotónica.

TABLA 2: SEGUNDA SOLUCIÓN (20x)

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN (g/50mL)
L-Glutatona reducida	0,3106
Ácido L-Ascórbico	0,09
Agua para Inyección	45
gas argón estéril	Sat*
pH	3,0±0,2
Color	transparente

5

Las formulaciones y métodos descritos aquí no están limitados al uso con un tejido, órgano o tipo de célula particulares. Por ejemplo, las realizaciones de la invención se pueden usar con venas safenas recolectadas, arterias epigástricas, arterias gastroepiploicas y arterias radiales usadas en el injerto de puente coronario. Las realizaciones de la presente invención también pueden usarse para mantener órganos y tejidos durante las operaciones de trasplante. Se contempla que las realizaciones de la invención se pueden usar con órganos y tejidos que incluyen, pero no se limitan a, corazón, pulmón, riñón, cerebro, músculo, injertos, piel, intestino, hueso, dientes, apéndices, ojos y porciones de los mismos. Las realizaciones de la invención se pueden usar como un conservante de tejido u órgano in situ. Las realizaciones de la invención también se pueden usar para lavar o bañar tejidos y órganos que no se han eliminado de un sujeto. Por ejemplo, las realizaciones de la invención pueden usarse para mantener tejidos y órganos durante la cardioplegia. Las realizaciones de la invención también se pueden usar en procedimientos de emergencia en los que un tejido u órgano necesita ser bañado en las formulaciones para conservar su función hasta que se pueda obtener cirugía u otra atención médica. En este respecto, las realizaciones de la invención pueden estar disponibles para el personal médico de emergencia tanto en entornos hospitalarios como "en el campo" (es decir, en ambulancias o instalaciones médicas de emergencia temporales).

20 Ejemplo 1

La primera y la segunda solución se prepararon y se evaluó la estabilidad de las formulaciones.

La primera solución fue una solución acuosa que incluía componentes que son estables a un pH de 7 o superior. La primera solución tenía un volumen final de 950 mililitros e incluía una solución salina balanceada y 1 gramo por litro de D-glucosa, 0,15 gramos por litro de L-arginina y 950 mililitros de agua estéril que se habían saturado con gas argón. La solución salina balanceada incluye 0,14 gramos/litro de cloruro de calcio anhidro, 0,4 gramos/litro de cloruro de potasio, 0,06 gramos/litro de fosfato de potasio monobásico, 0,1 gramos/litro de hexahidrato de cloruro de magnesio, 0,1 gramos/litro de heptahidrato de sulfato de magnesio, 8 gramos/litro de cloruro de sodio, 0,35 gramos/litro de bicarbonato de sodio y 0,05 gramos/litro de heptahidrato de fosfato de sodio dibásico. El pH final de la primera solución fue pH 8,3 ± 0,2.

30 La segunda solución era una solución acuosa que incluía componentes que son estables a un pH inferior a 7. La segunda solución tenía un volumen final de 50 mililitros e incluía 0,3106 gramos de L-glutatión (reducido) y 0,09 gramos de ácido L-ascórbico y 50 mililitros de agua estéril. El pH final de la segunda solución fue pH 3,0 ± 0,2.

La primera y la segunda solución se mezclaron juntas y el pH se ajustó con una solución acuosa de NaHCO_3 al 84% o 4 N HCl a pH 7,4 para formar 1 litro de la formulación final.

Ejemplo 2

5 Se analizaron una segunda solución y la formulación final del Ejemplo 1 para evaluar la estabilidad del ácido ascórbico y el glutatión reducido durante un periodo de tiempo a temperatura ambiente.

La formulación final se formó mezclando juntas la primera y la segunda solución y su pH se ajustó a 7,4. Se preparó un volumen separado de la segunda solución, que tenía un pH de 3,0, según el procedimiento del Ejemplo 1. La estabilidad del ácido ascórbico y la estabilidad del glutatión reducido se determinaron durante un periodo de tiempo en ambas soluciones. Tanto la formulación final como la segunda solución se almacenaron a temperatura ambiente.

10 El método de cromatografía desarrollado y empleado para este estudio separó el ácido ascórbico y el glutatión de forma reproducible y sin ninguna interferencia mutua entre los componentes o sus productos de descomposición. Se detectaron dos componentes usando espectrometría de electroaspersión en el modo +ve de monitoreo de iones seleccionado. Además, el ácido L-ascórbico y el L-glutatión también se detectaron mediante la absorción de la matriz de diodos fotoeléctricos en el intervalo de 190-400 nm. Las intensidades cromatográficas integradas de cada uno de los picos componentes fueron una medida de su cantidad molar en solución analizada. El pH, la conductividad y las osmolalidades también se midieron para cada muestra.

15 Las propiedades indicadoras de estabilidad de GALA se evaluaron a: $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}/75\%$ de $\text{RH} \pm 5\%$ de Humedad Relativa (HR). Se usó una cámara de estabilidad calificada con temperatura uniforme y constante y humedad relativa para almacenar los contenedores del producto. El termómetro de la cámara y la lectura digital se registraron diariamente. Las muestras recibidas para el estudio de estabilidad propuesto se registraron y rastrearon en un registro de recepción de muestra y almacenamiento y se mantuvieron a $2\text{-}8 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta el comienzo del estudio. Se colocaron un mínimo de veintiún recipientes del dispositivo de cada lote representativo de las soluciones primera y segunda en la cámara de estabilidad mantenida a $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}/75\%$ de $\text{RH} \pm 5\%$ de RH. Esta fecha se registró como el punto de tiempo cero. Se extrajeron tres recipientes de cada una de las soluciones primera y segunda a intervalos de 0, 5, 9, 15, 30, 50 y 80 días desde la cámara de estabilidad para la prueba.

25 La rata de deterioro del ácido ascórbico en la segunda solución que tenía un pH de 3,0 era de aproximadamente 3 mg por día, mientras que la rata de deterioro del ácido ascórbico en la formulación final que tenía un pH de 7,4 era de aproximadamente 15 mg por día. La rata de deterioro del glutatión reducido en la segunda solución que tiene un pH de 3,0 era de aproximadamente 3 mg por día, mientras que la rata de deterioro del glutatión reducido en la formulación final que tenía un pH de 7,4 era de aproximadamente 6 mg por día. Estos datos demuestran que las estabildades tanto del ácido ascórbico como del glutatión reducido aumentan significativamente cuando se almacenan en una solución separada que tiene un pH de 3,0 en comparación con la estabilidad de estos compuestos cuando se almacenan en una solución acuosa que tiene un pH de 7,4.

30

REIVINDICACIONES

1. Un kit para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:
un primer recipiente que contiene una primera solución, en el que la primera solución está compuesta de agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;
- 5 un segundo recipiente que contiene una segunda solución, en el que la segunda solución consiste en agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0.
2. Un kit de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la solución salina balanceada incluye sales seleccionadas del grupo que consiste en cloruro de calcio anhidro, cloruro de potasio, fosfato de potasio monobásico, hexahidrato de cloruro de magnesio, heptahidrato de sulfato de magnesio, cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, heptahidrato de fosfato de sodio dibásico y combinaciones de los mismos.
- 10 3. Un kit de acuerdo con la reivindicación 1 de la reivindicación 2, en el que la solución de sal equilibrada incluye 0,14 gramos/litro de cloruro de calcio anhidro, 0,4 gramos/litro de cloruro de potasio, 0,06 gramos/litro de fosfato de potasio monobásico, 0,1 gramos/litro de hexahidrato de cloruro de magnesio, 0,1 gramos/litro de heptahidrato de sulfato de magnesio, 8 gramos/litro de cloruro de sodio, 0,35 gramos/litro de bicarbonato de sodio y 0,05 gramos/litro de heptahidrato de fosfato de sodio dibásico.
- 15 4. Un kit de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el kit incluye un único recipiente que comprende un primer compartimento y un segundo compartimento, en el que el primer compartimento es el primer recipiente que contiene la primera solución y el segundo compartimento es el segundo recipiente que contiene la segunda solución, en el que los compartimientos primero y segundo se mantienen como compartimentos separados mediante una partición que se puede eliminar para permitir que la primera y la segunda solución se mezclen para formar una formulación final para conservar la función de un tejido u órgano.
- 20 5. Un kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la segunda solución incluye 0,3106 gramos de L-glutatión reducido, por 50 mililitros de agua y 0,09 gramos de ácido L-ascórbico por 50 mililitros de agua.
- 25 6. Un kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la proporción volumétrica de la primera solución a la segunda solución es 19:1.
7. Un kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el pH de la primera solución está en un intervalo desde pH 8 a pH 8,5.
- 30 8. Un kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el pH de la segunda solución está en un intervalo desde pH 2,7 a pH 3,3.
9. Un kit de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el pH de la mezcla de la primera solución con la segunda solución está en un intervalo desde pH 7,2 a pH 7,6.
10. Un método para preparar una formulación para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:
proporcionar una primera solución en la que la primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;
- 35 proporcionar una segunda solución, en la que la segunda solución consiste en agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0; y
mezclando la primera solución con la segunda solución para formar la formulación completa para conservar la función de un tejido o función.
- 40 11. Un método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la solución salina balanceada incluye sales seleccionadas del grupo que consiste en cloruro de calcio anhidro, cloruro de potasio, fosfato de potasio monobásico, hexahidrato de cloruro de magnesio, heptahidrato de sulfato de magnesio, cloruro de sodio, bicarbonato de sodio, heptahidrato de fosfato de sodio dibásico y combinaciones de los mismos.
- 45 12. Un método de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en el que la solución salina balanceada incluye 0,14 gramos/litro de cloruro de calcio anhidro, 0,4 gramos/litro de cloruro de potasio, 0,06 gramos/litro de fosfato de potasio monobásico, 0,1 gramos/litro de hexahidrato de cloruro de magnesio, 0,1 gramos/litro de heptahidrato de sulfato de magnesio, 8 gramos/litro de cloruro de sodio, 0,35 gramos/litro de bicarbonato de sodio y 0,05 gramos/litro de heptahidrato de fosfato de sodio dibásico.
13. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, que comprende además:

- proporcionar un recipiente que tiene un primer compartimento y un segundo compartimento que se mantiene como compartimentos separados mediante una partición, en el que el primer compartimento incluye la primera solución y el segundo compartimento incluye la segunda solución;
- 5 eliminar la partición para permitir que la primera y la segunda solución se mezclen para formar una formulación completa para conservar la función de un tejido u órgano.
14. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, que comprende además:
- proporcionar un primer recipiente que incluye la primera solución;
- proporcionar un segundo recipiente que incluye la segunda solución;
- 10 mezclar los contenidos del segundo recipiente con los contenidos del primer recipiente para formar una formulación completa para conservar la función de un tejido u órgano.
15. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en el que la segunda solución incluye 0,3106 gramos de L-glutación reducido, por 50 mililitros de agua y 0,09 gramos de ácido L-ascórbico por 50 mililitros de agua.
- 15 16. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en el que la proporción volumétrica de la primera solución a la segunda solución es 19:1.
17. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 16, en el que el pH de la primera solución está en un intervalo desde pH 8 a pH 8,5.
18. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 17, en el que el pH de la segunda solución está en un intervalo desde pH 2,7 a pH 3,3.
- 20 19. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 18, en el que el pH de la mezcla de la primera solución con la segunda solución está en un intervalo desde pH 7,2 a pH 7,6.
20. Un método para conservar la función de un tejido u órgano que comprende:
- proporcionar una primera solución en la que la primera solución incluye agua, una solución salina balanceada, un azúcar y L-arginina y tiene un pH de al menos 7,0;
- 25 proporcionar una segunda solución, en la que la segunda solución incluye agua, glutatión reducido y ácido ascórbico y tiene un pH inferior a 4,0;
- mezclar la primera solución con la segunda solución para formar la formulación completa para conservar la función de un tejido o función; y
- poner en contacto un tejido u órgano con la formulación completa.

30

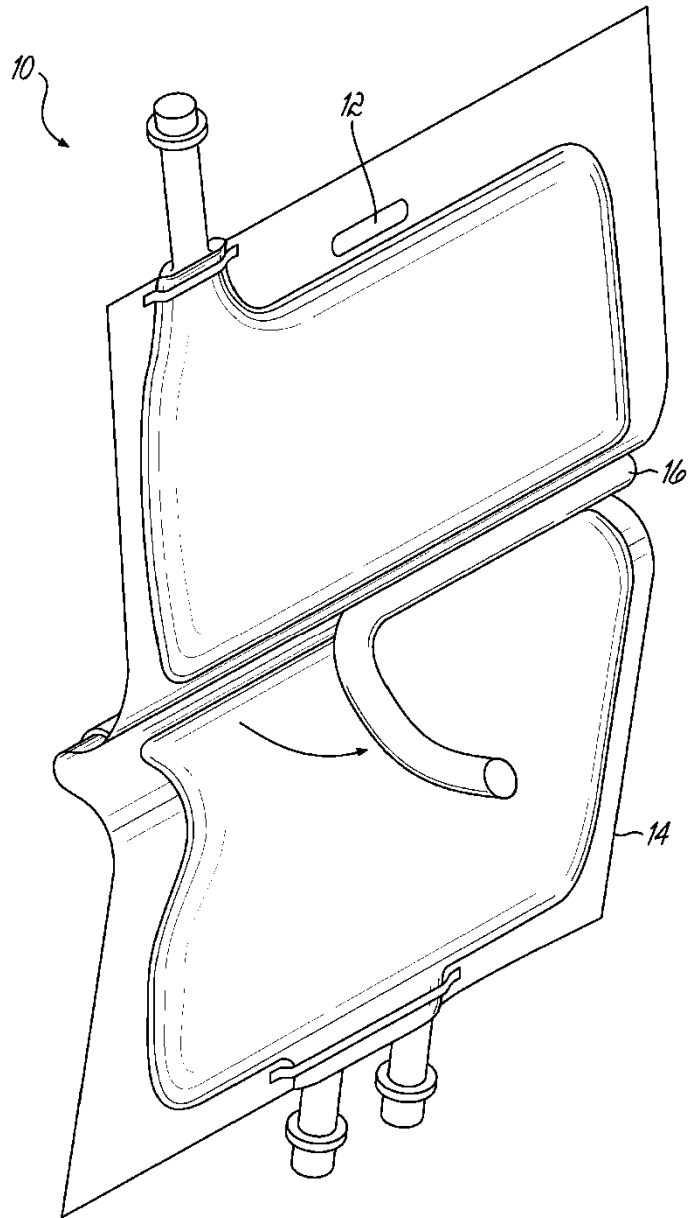


FIG. 1

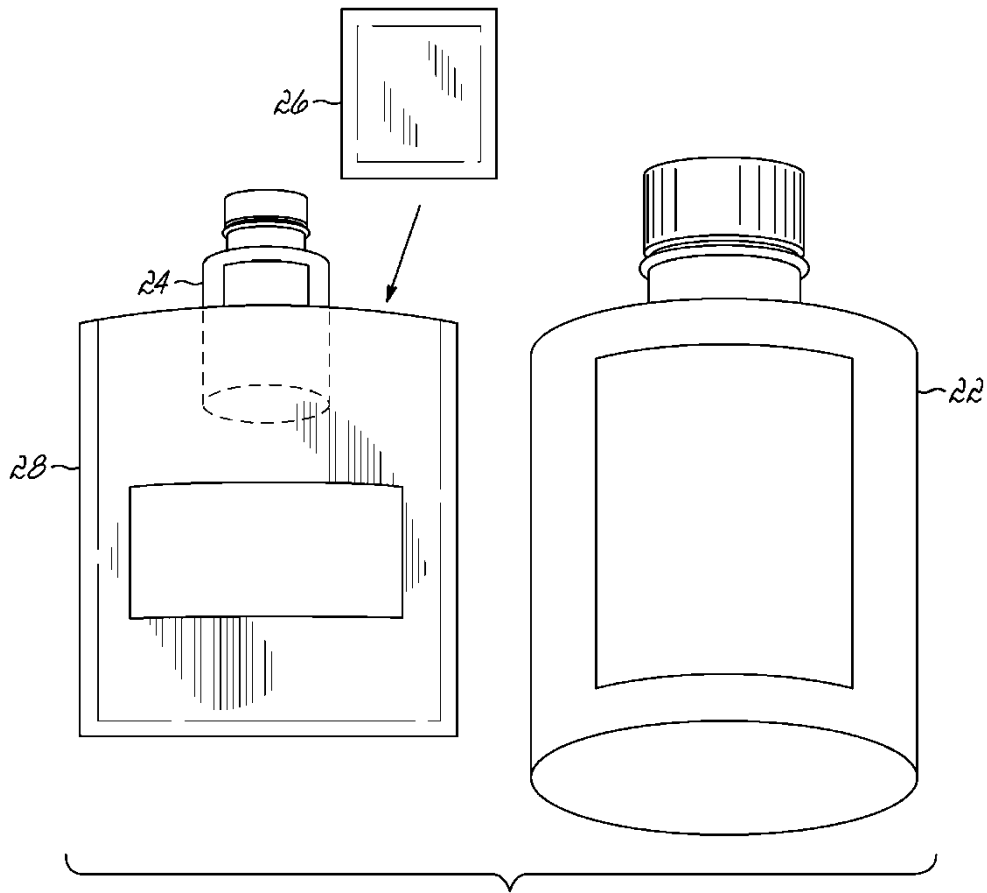


FIG. 2