

'142988'

M E M O R I A   D E S C R I P T I V A

de una patente de invención en España por: PROCEDIMIENTO  
PARA LA OBTENCION DE UNA SUBSTANCIA ACTIVA QUE DESCOMPONGA  
UNA DETERMINADA PROTEINA EXTRAÑA EN UN ORGANISMO ANIMAL.

=====

A nombre de: HENRY CONNELL RESEARCH FOUNDATION LIMITED.

Residente en: QUEEN'S UNIVERSITY KINGSTON, ONT. (CANADA)

(A.G.3.003)



5 Se refiere, la presente invención, a un método para la obtención de sustancias activas en la naturaleza de las enzimas o antigenas, con el objeto de tratar enfermedades que presuponen en el organismo animal, la presencia de nuevos tejidos celulares ó de proteínas extrañas de cualquier clase.

10 Más particularmente, la referida invención trata, de un método para la obtención de sustancias específicamente activas, las cuales al ser introducidas en el organismo animal, irán a descomponer una determinada proteína extraña, sin producir sobre el conjunto del organismo ningún efecto nocivo.

15 De acuerdo con la presente invención, se extrae del organismo una muestra de la proteína extraña del tipo a descomponer, y se cultiva en ella un micro-organismo proteolítico, preferentemente no-patógeno. Durante el desarrollo del referido micro-organismo, la proteína es descompuesta, y una vez que su descomposición ha sido llevada a cabo, el conjunto resultante es tratado por métodos bioquímicos, con el objeto de obtener un líquido especial, 20 cuyas sustancias específicamente activas irán a descomponer una determinada proteína extraña igual a la muestra de proteína donde su cultivo se verificó.

25 El método para la obtención de las sustancias específicamente activas, es, en detalles el siguiente:



La muestra de proteína extraña, contra la cual se desea obtener una sustancia específicamente activa es colocada en un líquido conveniente, siendo entonces el conjunto utilizado como un medio de cultivo, en el cual es sembrado un micro-organismo proteolítico. Mientras se verifica el desarrollo del referido micro-organismo, la temperatura es mantenida a 37 grados y medio C, de acuerdo con los procedimientos usuales de incubación.

Quando la descomposición de la proteína ha finalizado completamente, (determinada por medio de una observación microscópica) cuya duración oscila regularmente entre 24 y 48 horas, la masa resultante es un líquido que contiene la estructura de las células, los cuerpos grasos y los micro-organismos. Este conjunto es centrifugado o no, según los casos, estableciendo entonces diferentes capas: la capa superior, conteniendo los cuerpos grasos, la capa media, el líquido traslúcido, y la capa inferior los sólidos, y por consiguiente, la estructura de las células y de los micro-organismos. El líquido traslúcido de la capa media, es separado y esterilizado por filtración, siguiendo, por ejemplo, el proceder de Berkefeld. Este líquido, esterilizado y filtrado, es el que contiene las sustancias específicamente activas, y el que, por consiguiente, debe ser introducido en el organismo. Si el líquido no va a utilizarse inmediatamente, debe conservarse en un lugar frío, porque las altas temperaturas destruirían rápidamente su actividad.



Aunque es preferible que los micro-organismos sean no-pat6genos, pueden encontrarse algunos casos, en los cuales, un micro-organismos, pat6genos hasta cierto punto, origina la producci6n de una substancia mucho m6s activa contra una proteina determinada, estando asi m6s que compensada la desventaja que pudiera producir su estado pat6geno, por el beneficio obtenido en el aumento de la actividad en las substancias especificas. Como ejemplo de micro-organismos convenientes, puede citarse el *B. Subtilis*; *Prodigiosis*, *Histoliticus* y *Proteus*. Puede preferirse en algunos casos, el empleo de una mezcla de dos o m6s micro-organismos.

Actualmente se ha encontrado que si la mezcla de proteina extraña es extraida del cuerpo de un paciente, en el cual el liquido debe ser introducido posteriormente, la substancia activa es m6s especifica en el referido cuerpo a esa proteina extraña, que si el liquido hubiese sido producido por el empleo del mismo tipo de proteina proveniente de otro organismo, y por consiguiente, que si el liquido fuese, lo que puede denominarse, "soluci6n de reserva o abasto". Existen, por supuesto, muchos casos, en los cuales, las referidas soluciones de "reserva o abasto" pueden ser usadas, pues se ha encontrado que dan muy buenos resultados.

Si el liquido empleado como medio de cultivo, no es una soluci6n salina normal (0.85% soluci6n acuosa de cloruro de sodio) puede ser necesaria alguna acidulizaci6n



80 o alcalinización del líquido resultante que contenga la  
substancia activa, para eliminar algún efecto nocivo sobre  
el organismo, que pudiera derivarse del uso de líquidos  
no tratados.

85 Esta invención ha sido desarrollada particularmente  
con respecto a los tejidos sarcoma y carcinoma de cánceres  
humanos, habiendo sido observado, que de 100 casos aproxima-  
damente que han sido tratados, casi su totalidad ha ma-  
nifestado una retrocesión de su desarrollo, en los cuatro  
primeros meses de su empleo en pacientes humanos, sin que  
90 se hayan notado manifestaciones aparentes de efectos no-  
civos. Algunos trabajos han sido hechos con respecto a  
la catarata y a la tuberculosis, y la invención puede, to-  
do parece indicarlo, ser aplicada al tratamiento de éstas  
y otras enfermedades, originadas por la presencia en el  
95 organismo de una proteína extraña.

La invención es ilustrada más adelante, con el ejem-  
plo que sigue, aplicada a la obtención de una sustancia  
específicamente activa en el tejido carcinoma. No se in-  
tenta, sin embargo, en manera alguna, que la invención sea  
100 limitada a este ejemplo.

EJEMPLO.-

105 10 gramos de tejido carcinoma humano, despojado de  
todo tejido normal, es lavado y librado de la sangre, has-  
ta donde sea posible. 1 gramo del dicho tejido es enton-  
ces colocado en un tubo de ensayo previamente esteriliza-  
do, con 10 cm. cúbicos de una solución de ClNa al 0.85%



El contenido del tubo es inoculado o sembrado con cultivo puro de *B. histolyticus*, cubierto con gelatina de petróleo a la manera anaerobia usual, e incubado a 37 grados y medio C. durante cuatro o cinco días. Cuando el fluido contenido en el tubo de ensayo, revela, por medio de una observación microscópica, ser, no coloidal, se centrifuga o no, según los casos. Después de centrifugado, si es preciso, los cuerpos grasos, y los tejidos fibrosos, son separados, y el líquido restante es filtrado siguiendo el procedimiento de Berkefeld. Terminada esta operación, el líquido es ensayado, y si conserva sus cualidades características, es guardado en ampollas o frascos perfectamente cerrados, que hayan sido esterilizados previamente. Mientras el referido líquido se mantenga estéril, puede ser usado en cualquier momento.

En el tratamiento de desarrollos cancerosos, el líquido es usualmente administrado al paciente en dosis intramusculares relativamente pequeñas, experimentando siempre al paciente en el transcurso del tratamiento cierta sensación que puede ser una mera punzada o una molestia o dolor, pero el cual, siempre desaparece pronto. Debido a esto, el producto de la invención puede ser usado, no solamente en el tratamiento de desarrollos de proteínas extrañas cuya presencia se conozca en un paciente, sino también, para indagar la existencia de otro desarrollo insuspechado en el organismo.



N O T A

=====

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta patente de invención en España son los siguientes:

135 1º.-Método para obtener una substancia específica activa para la descomposición de una proteína extraña en el organismo animal, caracterizado por el cultivo de un microorganismo proteolítico en una proteína del tipo de la que debe descomponer y por la extracción, del producto de tal cultivo, de un líquido que contiene la sustancia específicamente activa.

145 2º.- Para la realización de lo reivindicado en el punto anterior un procedimiento para la realización del invento que consiste en la obtención de las substancias específicamente activas, colocando una muestra de la proteína extraña en presencia de un líquido conveniente, utilizándose el conjunto como medio de cultivo en el cual se siembra un micro-organismo proteolítico y mientras se desarrolla dicho micro-organismo se mantiene la temperatura a  $27\frac{1}{2}^{\circ}$  C y cuando ha terminado la descomposición de la proteína, para lo cual se efectúa una observación microscópica y cuya descomposición oscila entre 24 y 48 horas, la masa resultante es un líquido que contiene la estructura de las células, los cuerpos grasos y los micro-organismos. A continuación se centrifuga o no el conjunto

150

155



obteniendo distintas capas: a saber:

160 La capa superior que contiene los cuerpos grasos,  
la capa media que contiene el liquido traslúcido y la cap-  
pa inferior que contiene los sólidos y por consiguiente  
la estructura de las células y de los micro-organismos.  
El liquido traslúcido, que ocupa la capa media es separa-  
do y esterilizado por filtración, empleando por ejemplo  
165 el procedimiento de Berkefeld, esterilizándose y fil-  
trándose el liquido que puede introducirse en el organis-  
mo por inyección intramuscular y si ha de conservarse se  
puede envasar en ampollas, conservándolas en lugar frio.

170 3º.- "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UNA SUBS-  
TANCIA ACTIVA QUE DESCOMPONGA UNA DETERMINADA PROTEINA EX-  
TRAÑA EN UN ORGANISMO ANIMAL", todo tal y conforme se des-  
cribe en la presente memoria la cual consta de 171 líneas.

Madrid, 10 Julio 1.936.

P. A.