

171284



P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I Ó N

171284

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE SOLUCIONES ESTABLES DE TROMBINA", a favor de la razón social suiza F. HOFFMANN-LA ROCHE & Cie., S.A., domiciliada en Basilea (Suiza).-

- . -

MEMORIA DESCRIPTIVA

- La trombina preparada a partir del plasma sanguíneo según diferentes procedimientos (Ergebnisse der Physiologie 28 /1929/ p. 512 y siguientes, Acta Physiologica Scandinavica 2 /1941/ p.22), es una proteína que tiene el carácter de un fermento (Ergebnisse der Physiologie 43 /1940/ p.343). Esta sustancia que favorece la coagulación de la sangre, es, en estado puro, fácilmente soluble en el agua, pero insoluble, en razón de su naturaleza proteínica, en los solventes orgánicos, tales como el alcohol, la acetona, el éter (Ergebnisse der Physiologie 28 /1929/ p. 509).

- En solución acuosa, la trombina apenas es estable, a la temperatura ambiente, 24 horas; aún si se la conserva a 0°, se nota después de pocos días, una disminución considerable de su actividad. La trombina es prácticamente inactivada por un calentamiento de 5 minutos a 56°C. (Acta Physiol. Scan. 2 /1941/ p.36)

171284



Esta es la razón por la cual ha sido introducida en terapéutica, bajo forma de un polvo seco (Lancet 233 /1937/ p. 890), para preparar soluciones inmediatamente antes de su empleo. Bajo esta forma, la trombina es poco conveniente para ciertos fines, como por ejemplo, para detener las hemorragias de pequeñas heridas. Esta forma no es práctica, difícilmente dosificable y, además, se corre el riesgo de una infección bacteriana después de haber abierto varias veces el frasco.

5. Se ha hecho una observación sorprendente: la trombina purificada, teniendo una actividad de aproximadamente 80'000 unidades Mellanby por gramo (Journ. Physiol. 38 /1909/ p. 28), se disuelve en la glicerina, dando una solución límpida y puede ser conservada bajo esta forma durante años, sin que se note una disminución apreciable de la actividad.

10. Se pueden también obtener soluciones glicerinadas muy activas, empleando preparaciones de trombina menos puras. Para este fin, se hace digerir una preparación de trombina correspondiente a aproximadamente 30.000 unidades Mellanby por gramo, con una cantidad correspondiente de glicerina, y se separan los cuerpos accesorios insolubles por centrifugación rápida. Estos últimos no tienen ninguna acción de trombina, mientras que se puede precipitar una trombina muy activa añadiendo acetona después de haber diluído la solución glicerinada con agua.

15. Esta posibilidad de separación, prueba que la glicerina es un solvente muy específico para estas proteínas fisiológicamente activas.

20. En el cuadro que se expresa a continuación, se ha comparado la estabilidad de una solución de trombina en la glicerina con una solución en el agua.

171284



Fecha	1 cc. de solución glicerinada corresponde a:	1 cc. de solución acuosa corresponde a:
4.4.1942	2000 unidades Mellanby	2000 unidades Mellanby
10.4.1942	2000 " "	900 " "
1.5.1942	2000 " "	0 " "
5. 16.6.1943	2000 " "	0 " "
1.9.1944	2000 " "	0 " "

EJEMPLO 1.

25 gramos de una preparación de trombina, teniendo una actividad de 80.000 unidades Mellanby por gramo, son pasadas a través de un tamiz fino e introducidas en 1 litro de glicerina, previamente calentada a 35°C. (Glicerinum concentratum, Ph.Helv. V). Cuando la solución está terminada, se centrifuga durante una hora, a 6000 vueltas, lo que permite separar una pequeña cantidad de proteína insoluble en la glicerina. La solución que sobrenada es incolora y límpida. 1 cc. de la solución contiene 2000 unidades Mellanby de trombina. Se puede, según las necesidades, llevarla fácilmente al titrado deseado con el agua.

EJEMPLO 2.

67 g. de una preparación de trombina, teniendo una actividad de 30.000 unidades Mellanby por gramo, son trituradas con 500 cc de glicerina. Se prensa la masa bastante espesa a través de un tamiz fino, que se lava enseguida con 500 cc. de glicerina. Los cuerpos accesorios inactivos son separados por centrifugación, a 6000 vueltas, mientras que la solución glicerinada contiene por cc. 2000 unidades Mellanby de trombina. La solución presenta una ligera opalescencia, que persiste después de dilución en el agua.

Dentro de su esencialidad, el invento no queda limitado a las formas de ejecución práctica indicadas a título de ejemplo

171284



en la descripción, pues la protección se extiende a todas aquéllas formas equivalentes de ejecución basadas en la solución lograda por el invento.

N O T A

5. Hecha la descripción del presente invento, se hace constar que esta solicitud se acoge a la prioridad de la patente de invención Nº 96.551, depositada en Suiza, el 27 de Septiembre de 1944, y se declaran como nuevas y de propia invención, las siguientes reivindicaciones:

10. 1ª.- Procedimiento para la preparación de soluciones estables de trombina, caracterizado esencialmente por el hecho de disolver la trombina purificada, en glicerina.

2ª.- Procedimiento según la anterior reivindicación, en el cual los constituyentes inactivos de la solución de la trombina en la glicerina, son eliminados por centrifugación.

15. 3ª.- Procedimiento para la preparación de soluciones estables de trombina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva, que consta de cuatro hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

20. Madrid, a 19 de Octubre de 1945.

F. HOFFMANN-LA ROCHE & Cie., S.A.

p.a.