

203825

PATENTE DE INVENCION  
=====

Le. 1045.  
=====



MEMORIA

DESCRIPCIÓN

sobre:

"Procedimiento para la obtención de la hormona circulatoria Kallicroina".

=====

SOLICITANTES: FARBENFABRIKEN B A Y E R, residentes en  
Leverkusen-Bayerwerk, Alemania.

=====

Forma objeto de la presente invención un procedimiento para la obtención de la hormona circulatoria Kallicroina a partir de glándulas que la contienen, y dicho procedimiento está caracterizado porque se someten las glándulas, convenientemente en suspensión acuosa- a una termolisis a una temperatura entre los 38 y los 65° C. separando a continuación la fase acuosa, que contiene Kallicroina, de los compuestos indisolubles.

Se prestan en concepto de materias primas para la realización del procedimiento según la invención en primer término las glándulas pancreáticas y submaxilares, preferentemente procedentes del cerdo.



15. Se realiza la termolisis, calentando la materia prima kallikreínica, convenientemente presente en forma de suspensión, agitando, a una temperatura que cae dentro del alcance de la invención.

20. Dicha temperatura, en su valor óptimo, se encuentra para glándulas pancreáticas a unos 55° C., separándose a esta temperatura la mayor parte de la albúmina en forma de copos, mientras que se disuelve cuantitativamente la kallikreína. En este caso queda terminada la termolisis al alcanzarse la temperatura de 55° C. Partiendo de 1 kilo de glándulas pancreáticas del cerdo, se pueden obtener de esta manera, según la proporción grasienta de las glándulas, 25.000 hasta 44.000 unidades de Kallikreína.

25. Si se elige una temperatura más baja para la realización de la termolisis según la invención, no se alcanzará el rendimiento máximo hasta una mayor duración de calentamiento, por ejemplo a 48° C. solo al cabo de una hora aproximadamente.

30. Si se elige una temperatura superior a 55° C., se obtiene aún a una temperatura de la termolisis de 60° C., un buen rendimiento; pero dicho rendimiento desciende prácticamente a 0% para una temperatura de 65° C.

35. Se realiza la termolisis adecuadamente en medio ácido, siendo más conveniente efectuarla a un valor pH = 4'6.

Si se pasa con pH el valor de 4'0, el rendimiento desciende a 0%, mientras que en la zona alcalina la Kallikreína quedará en su mayor parte destruida más allá de una concentración de iones de hidrógeno en el pH = 8'5.

40. Una vez terminada la termolisis, se separan los componentes indisolubles, que se componen de grasa, tejido conjuntivo y albúmina en copos, mediante simple centrifugación



o decantación, de la solución clara, acuosa, de Kallitreina.

45. Por medio del procedimiento según la presente invención, se consigue obtener, en brevisimo tiempo y de una manera sencilla, a más de óptimo rendimiento, soluciones de Kallitreina pobres en albúmina, de un grado relativamente elevado de pureza. Asimismo se consigue mediante este procedimiento la ventaja de que las bacterias, cuyo crecimiento resulta inevitable con otros procedimientos - por ejemplo en la conocida autólisis de varios días del material kallitreínico - no puedan desarrollarse. Y en su consecuencia, el producto obtenido según el presente procedimiento resulta exento de toxinas bacterianas.

55. Hasta ahora reinaba la opinión de que la obtención de Kallitreina a partir de glándulas solo podría realizarse por vía fermentativa, a las temperaturas en este caso usuales entre 20° y 37° VC. Resultó por tanto sorprendente el hecho de que se obtuviera Kallitreina a partir de glándulas por medio de una simple termólisis a mayor temperatura. No se pudo esperar que fuese posible encontrar un procedimiento, ya que, conocida la sensibilidad de la Kallitreina en soluciones acuosas, hacia evitar escrupulosamente todo calentamiento a mayores temperaturas (comparese por ejemplo, Kraut, Frey & Werle, Zeitschrift physiol.Chemie 189, pág.98 y 104-1930).

#### E J E M P L O

70. 2 kgs. de glándulas pancreáticas del cerdo, no preparadas y de reciente matanza, se pican finamente en una máquina trituradora, se mezclan con 5 litros de agua bidestilada y se acidulan con ácido clorhídrico a un valor pH = 4'6. A continuación se calienta la suspensión, agitando, sobre el baño María a 55° C., pasando luego la mezcla a un embudo



75. separador. La grasa fundida sube con las fibras del tejido conjuntivo y con los copos de albúmina hacia arriba y acto seguido se puede salir la capa inferior compuesta de solución clara de Kallitreina. También puede centrifugarse la solución caliente, inmediatamente después de terminar la termolisis. Se obtiene una solución acuosa, de color amarillo claro, conteniendo unas 70.000 unidades de Kallitreina.
80. Se puede proceder eventualmente a otra purificación según los métodos usuales para Kallitreina, como se citan por ejemplo, en Frey, Kraut & Werle, "Kallikrein", Stuttgart, 1950, pág. 121-130.

N O T A

85. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el
90. invento corresponde a una patente presentada en Alemania con fecha 16 de agosto de 1951, nº F 6988 Iva/30h, accogiéndose, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente
95. de Invención, por 20 años en España: "Procedimiento para la obtención de la hormona circulatoria Kallitreina"; caracterizándose por lo siguiente:
100. 1º.- Procedimiento para la obtención de la hormona circulatoria Kallitreina, a partir de glándulas que la contienen, caracterizado porque se someten las glándulas - convenientemente en suspensión acuosa - a una termolisis a una temperatura entre los 38 y los 65º C., separando a continuación

203825

- 5 -



la fase acuosa, que contiene Kallitreina, de los componentes indisolubles.

105. 2ª.= Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado porque se realiza la termolisis mediante calentamiento de la materia prima a 55º C. interrumpiéndola inmediatamente después de alcanzar la temperatura elegida.

110. 3ª.= Procedimiento, según reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizándose porque se realiza la termolisis a un valor pH entre 4 y 7.

115. 4ª.= Procedimiento para la obtención de la hormona circulatoria Kallitreina; tal y como queda substancialmente descrito en la presente memoria, que consta de cinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

- 3 JUN. 1952

FARBENFABRIKEN B A Y E R .

P.P. de J. GOMEZ ACEBO y MODET