

417517



Fe 30-6-75

Ex. Co. C07G//A61K

417517

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a una PATENTE DE INVENCION
por "Procedimiento para la obtención de al-
búmina humana", a favor de Laboratorios Hub-
ber, S.A., entidad española, domiciliada en
Barcelona, calle Berlín, 38.

. . .

**POOR
QUALITY**

2.

417517



Conforme se indica en el enunciado, la presente invención hace referencia a un procedimiento para la obtención de albúmina humana, y más concretamente a albúmina electroforéticamente pura, obtenida de las mezclas proteicas propias de las denominadas Fracciones IV de Cohn, basado en la mayor estabilidad térmica de la albúmina frente a las demás proteínas presentes en las mencionadas Fracciones IV de Cohn.

Las Fracciones IV obtenidas por el método de Cohn de fraccionamiento de plasma humano, son una muy completa mezcla de proteínas, mayoritariamente alfa globulina, con profusión de lípidos y minoritaria presencia de betaproteínas y albúmina.

Los métodos de fraccionamiento plasmático basados en el sistema de Cohn, extraen la albúmina pura de la Fracción V, y suelen desechar las denominadas fracciones IV, dado que la compleja presencia de proteínas impurificantes hace difícil la obtención de la cantidad de albúmina existente en una forma lo suficientemente pura como para poder darle una ulterior aplicación clínica.

Los métodos generales basados en el sistema de Cohn, han sido ya suficientemente descritos en la literatura general, por lo que no son objeto aquí de más especificación, anotando tan sólo que la actual invención va encaminada única y exclusivamente a la extracción, a partir de la indicada Fracción IV, de la mayor cantidad posible de una proteína tan escasa y valiosa mundialmente como es la albúmina humana.

En la iniciación del procedimiento conforme la presente invención, la pasta componente de las mencionadas Fracciones, puede o no liofilizarse y disolverse luego en agua destilada a 1°C, en la proporción de 35 a 40 litros de agua por cada kilo de pasta de fracción IV liofilizada.

Una perfecta suspensión de las proteínas se consigue con una buena agitación durante 4 a 6 horas, a temperatura de 1°C.

Se procede a aumentar la concentración alcohólica de la suspensión hasta un máximo del 40% al tiempo que se disminuye la temperatura hasta -6°C, manteniendo un pH entre 5,5 y 6,5.

Terminada la precipitación, se mantiene en las mismas condiciones,



agitando al menos durante dos horas.

Se centrifuga en centrífuga tipo Sharples a 16.000 rpm., a un caudal medio de 500 a 600 ml/minuto, manteniendo la temperatura entre $-5,5^{\circ}$ y $-6,5^{\circ}$ durante todo el proceso de centrifugación.

5. El líquido lechoso resultante se calienta a 2° , añadiéndole al propio tiempo algún tipo de tierras absorbentes, como por ejemplo Celitas, en cantidad aproximada de 5 a 10 gramos por litro. En estas condiciones, se obtiene una primera, y parcial, desnaturalización de alguna de las proteínas impurificantes de la albúmina.

10. Este líquido se filtra por placas clarificantes de tipo asbestos, por los tamaños decrecientes de poros necesarios, hasta obtener una solución clara y transparente. Finalmente, se filtra por placas esterilizantes, también de tipo asbestos.

15. Manteniendo la concentración alcohólica en un 40%, se baja el pH entre 4,6 y 4,9 al tiempo que se disminuye la temperatura hasta -8° . Se deja el producto en agitación, por lo menos 12 horas, antes de proceder a la centrifugación.

20. La centrifugación para separación del precipitado, se realiza en centrífugas tipo Sharples, a 16.000 rpm, con un caudal de centrifugación entre 300 y 600 ml/minuto.

La pasta obtenida contiene gran cantidad de albúmina, bastantes alfa globulinas y trazas de beta globulinas.

25. Para la purificación de la albúmina, se disuelve dicha pasta centrifugada en agua destilada, en la proporción de 1,250 litros de agua por cada kilo de pasta.

Se deja 24 horas en cámara a 2° , iniciándose la precipitación de impurezas. Se filtra por placas clarificantes tipo asbestos.

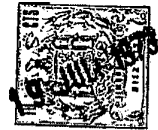
Se coloca el filtrado entre 37° y 40° durante unas 20 a 30 horas, bajando después la temperatura a 2° por espacio de 10 a 12 horas.

30. Se filtra nuevamente, añadiendo al filtrado glucosa anhidra en la proporción de 1/5 de peso de la albúmina pura, y se liofiliza.

Se obtiene una albúmina en polvo que contiene a lo sumo muy li-

4.

417517



geros indicios de alfa globulina.

Se procede a adicionar estabilizadores usuales en este caso, como pueden ser ácido caprílico y acetil triptofano, y a fin de purificarla aún más, se somete a nuevo tratamiento térmico durante al menos

5. 10 horas a 60°.

Se filtra por placa tipo asbestos clarificante, y finalmente, por filtro de membrana esterilizante (0,22 micras).

El procedimiento habrá obtenido albúmina humana, estable en solución, y electroforéticamente pura, estéril, atóxica, y exenta de pirógenos, apta para su aplicación clínica.

10.

Para un mejor entendimiento de cuanto antecede, seguidamente se hace referencia a un caso concreto de realización para el actual procedimiento, partiendo de 10 kilos de Fracción IV, obtenida por el método de Cohn de fraccionamiento plasmático.

15.

Se suspenden los 10 kilos de Fracción IV en 100 litros de agua destilada a 1°, manteniendo la agitación durante 5 horas, procurando que no varíe la temperatura. Se añade alcohol etílico de 96° a la suspensión hasta un 40%. Se controla el pH antes, durante y después de la adición alcohólica, de modo que tenga un valor de 5,80 más/menos

20.

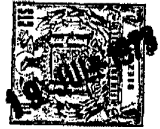
0,5. Se mantiene 2 horas en estas condiciones. Se centrifuga en centrífuga tipo Sharples a 16.000 rpm. a un caudal medio de 550 ml/min, manteniéndose la temperatura del sobrenadante entre 5,5° y 6,5° durante todo el proceso de centrifugación. Se calienta el sobrenadante a 2° al tiempo que se añaden 1000 gramos de Celite, manteniendo en agitación

25.

al menos toda la noche. Se filtra por placas tipo asbestos, por ejemplo Filtrox D₃ y D₅, y finalmente por placa Filtrox tipo esterilizante Estéril S. Sin variar la concentración alcohólica, se baja el pH hasta 4,8 más/menos 0,1 por adición de ácido acético 1N, en una cantidad variable que suele ser de unos 2 litros. Se enfría a -8° y se deja

30.

en agitación, en estas condiciones, al menos 12 horas. Se centrifuga en centrífuga tipo Sharples a 16.000 rpm., a un caudal medio de 550 ml/min a -8°. Se disuelve en agua la pasta centrifugada, en la proporción de



5.

1,250 litros de agua por cada kilo de pasta obtenida, húmeda y sin liofilizar. Se lleva a cámara 2ª por 24 horas. Se obtiene un muy abundante residuo no soluble, que se desecha. Se filtra el sobrenadante por placas clarificantes, primero, y esterilizantes después, tipo Fil-

5. trox D₃, D₅, S. Se coloca el filtrado a 40° durante 24 horas en estufa. Se saca y baja la temperatura a 2°, durante 12 horas. Se filtra nuevamente, por los mismos tipos de placas que antes. Se añade glucosa en la proporción de 1/5 de peso de la albúmina pura, y se liofiliza: la cantidad de glucosa no puede determinarse con exactitud por cuanto la concentración de albúmina en cada ensayo puede variar. Se liofiliza normalmente. Se prepara solución al 30% de albúmina en fórmula usual cualquiera. Se somete por 10 horas a 60°. Se filtra por placas clarificantes tipo asbestos y, finalmente, por esterilizante de membrana: 0,22 µ.
- 10.

15. El líquido resultante es una solución de albúmina electroforéticamente pura, atóxica, estéril, apirógena y estable, utilizable a la concentración que se desee, para uso clínico.

- Cuanto se deja expuesto no debe suponer inconveniente para que el procedimiento objeto de la actual invención, pueda ser realizado con variación de alguna de las condiciones expresadas, siempre que no se altere o modifique su esencialidad, que es la que se describe en la reivindicación que sigue.
- 20.

N O T A.

- Se declara de novedad y propiedad, para España y sus territorios, las siguientes
- 25.

REIVINDICACIONES.

1. Procedimiento para la obtención de albúmina humana, caracterizado por partir de la Fracción IW de Cohn, presentada en pasta que es susceptible de liofilización y ulterior disolución en agua destilada a una temperatura de un grado, en la proporción de treinta y cinco a cuarenta litros de agua por cada kilo de pasta liofilizada, y sometiendo a agitación durante cuatro a seis horas para conseguir una adecuada sus-
- 30.

6.

417517



- pensión de las proteínas, procediéndose a aumentar la concentración alcohólica hasta un máximo del cuarenta por ciento, al tiempo que se disminuye la temperatura hasta menos seis grados, manteniéndose un pH entre cinco y medio y seis y medio, y sometiendo a precipitación, en las mismas condiciones, agitando durante al menos dos horas, para luego centrifugarse a un caudal medio de quinientos a seiscientos mililitros por minuto, manteniendo la temperatura entre menos cinco y medio y menos seis y medio durante toda la centrifugación, obteniéndose un líquido lechoso que se calienta a dos grados, añadiéndole tierra absorbente en la proporción de cinco a diez gramos por litro, en cuyas condiciones se logra un líquido que es filtrado por placas clarificantes hasta conseguir una solución clara y transparente, sometiendo luego a filtraje por placas de tipo asbestos, manteniéndose la concentración alcohólica en un cuarenta por ciento, bajando el pH entre cuatro con seis y cuatro con nueve al tiempo que se disminuye la temperatura hasta menos ocho grados, dejando el producto en agitación por lo menos doce horas, antes de proceder a su centrifugación para separar el precipitado, en un caudal de trescientos a seiscientos mililitros por minuto, consiguiéndose así una pasta que se purifica disolviéndola en agua destilada, en proporción de 1,250 litros de agua por kilo de pasta, dejándolo veinticuatro horas en cámara a dos grados, para luego filtrarse por placas clarificantes, manteniéndose el filtrado entre treinta y siete y cuarenta grados durante veinte a treinta horas, bajando después la temperatura a dos grados por espacio de diez a doce horas, para filtrarse de nuevo, añadiendo al filtrado glucosa anhidra en la proporción de un quinto del peso de la albúmina pura, liofilizándose para obtener una albúmina en polvo a la que se adicionan estabilizadores que consiguen una mayor estabilización, sometiendo después a nuevo tratamiento térmico a sesenta grados durante al menos diez horas, para finalmente filtrarse, obteniéndose una albúmina electroforéticamente pura.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.

2. Procedimiento para la obtención de albúmina humana.

Todo ello, tal y como se describe y reivindica en la presente me-

7.

417517



moria, que consta de siete hojas foliadas y mecanografiadas por una sola cara.

Barcelona a diez y nueve de julio de mil novecientos setenta y tres.

LABORATORIOS HUBBER, S. A.
Director General