



30 DE

AGIK

422767

PATENTE DE INVENCION

que por veinte años se solicita, a favor de la firma BAXTER LABORATORIES, INC., de nacionalidad estadounidense, con domicilio en Morton Grove, Illinois 60053 (Estados Unidos), y que ha de recaer sobre "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE FRACCIONES TERAPEUTICAS DE SANGRE Y DE PERFUSATOS ORGANICOS, A PARTIR DE SUERO O PLASMA SANGUINEO DESPROVISTOS DE FACTORES DE COAGULACION".

10

Memoria Descriptiva

El registro de patente de invencion que se solicita tiene por objeto garantizar la explotación exclusiva en todo el territorio nacional y sus posesiones, de un procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, conforme se describe a continuación.



Extracto de la descripción

Se describe un método de fraccionación del suero o del plasma de sangre, desprovisto de factores de coagulación, mediante una precipitación selectiva con copolimeros en bloque de óxido de etileno y polimero de polioxi-
5 propileno, para proporcionar preparaciones de inmunoglobulina, fracciones que contienen albúmina y perfusatos orgánicos.

Descripción general del invento

10 El invento está relacionado con un método de separación de materiales protéidos y lípidos procedentes del suero y del plasma sanguíneo. Más particularmente el invento se refiere a la obtención de fracciones de suero y de plasma sanguíneo exentos de factores de coagulación.

15 La sangre está constituida por un fluido que contiene los glóbulos rojos y blancos así como las plaquetas de sangre. El plasma, o parte fluída de la sangre, contiene aproximadamente 90% de agua y 10% de sólidos. Estos sólidos consisten esencialmente entre alrededor de 7% y 9%
20 de proteínas y 1% de sales, estando el resto constituido por lípidos y otras sustancias. La sangre recién extraída coagula en cuestión de minutos. La formación de los coagulos es un proceso complejo en el cual la proteína, el fibrinógeno, se transforma en fibrina insoluble. El
25 suero de sangre es plasma del cual se ha retirado esta fibrina.

El fraccionamiento del plasma y del suero de la sangre y la utilización en laboratorio y en clínica de los componentes separados de la sangre es una práctica corriente hoy en día. Entre los varios componentes separados de
30



la sangre se hallan la albúmina, las α_1 globulinas, las α_2 globulinas, las β globulinas, las γ globulinas, el fibrinógeno, la protrombina, la globulina antihemofílica, las lipoproteínas, la tromboplastina, los componentes complementarios, las isoaglutininas, el colesterol, los fosfatidos y numerosas enzimas, por ejemplo la amilasa, la fibrinolizina, la esterasa y la fosfatasa. Hasta la fecha se han desarrollado varios métodos para separar y purificar los componentes de la sangre mencionados más arriba, así como otros. Estos métodos incluyen generalmente uno o varios de los procesos siguientes:

- (a) precipitación parcial con sulfato de amonio y sales similares;
- (b) precipitación en disolvente orgánico con etanol o acetona fría y otras sustancias, tales como alcoholes y cetonas;
- (c) adsorción selectiva en geles de fosfato de calcio o con sulfato de bario;
- (d) precipitación isoeléctrica mediante el reglaje del pH en el punto en el cual no hay carga neta en una proteína dada; y
- (e) cromatografía, mediante la utilización de adsorbentes tales como CM- ó DEAE-celulosa o mediante filtración en gel "Sephadex".

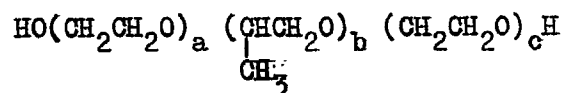
Otros procedimientos desarrollados en fechas más recientes para fraccionar y purificar selectivamente las proteínas de la sangre incluyen la utilización de aminoácidos, tales como glicina y beta-alanina, polímeros orgánicos solubles en agua, tales como polietilenglicol y polipropilenglicol, y polímeros polielectrolitos insolu-



bles en agua que contienen grupos aminobásicos, tales como el grupo dimetilaminopropilimida.

De acuerdo con el invento, se proporciona un método nuevo y mejorado para el fraccionamiento del suero y del plasma de sangre en fracciones desprovistas de factores de coagulación. El método consiste en una precipitación selectiva con ciertos copolímeros en bloque que son productos de condensación del etileno oxido-propileno glicol. Se ha comprobado que la separación de los varios componentes de la sangre con estos copolímeros en bloque es sustancialmente y significativamente mejor que con el glicol de polietileno polimero. Estas mejoras consisten en un mayor rendimiento y una pureza más elevada de las sustancias protéicas precipitadas, una mayor claridad y una mejor estabilidad de los productos de suero líquidos resultantes, y una separación más rápida de los componentes deseados.

Los productos de cendensación de etileno oxido-propilenglicol utilizados según la invención pueden ser preparados condensando el óxido de etileno con polimero de polioxipropileno. En la Patente de los Estados Unidos número 2.674.619 se encuentra una descripción más completa de la preparación de estos copolímeros en bloque. Estos copolímeros en bloque pueden representarse mediante la siguiente fórmula estructural:



Para las necesidades del invento, estos copolímeros en bloque contienen, convenientemente, por lo menos 50% de óxido de etileno en la molécula y tienen un peso



molecular de base hidrofóbica de polioxipropileno de por lo menos 950. Los materiales que contienen menos de 50% de óxido de etileno no están suficientemente exentos de toxicidad y los productos que tienen un peso molecular de base hidrofóbica inferior a 950 no presentan las características de solubilidad deseadas. Al respecto, los copolímeros en bloque utilizados en el invento están relacionados con, e incluyen materiales utilizados como, sustitutos del plasma sanguíneo y para alimentar los aparatos corazón-pulmón según se describe en las Patentes de los Estados Unidos números 3.450.502; 3.577.522 y 3.590.125, que se incorporan aquí a título de referencia.

Unos ejemplos ilustrativos de copolímeros en bloque adecuados son los polioles F-38 y F-68 "Pluronic" comercializados por Wyandotte Chemicals Corp. El F-38 contiene 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950. El F-68 contiene también 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula, pero la base hidrofóbica tiene un peso molecular de 1.750. El peso molecular total de estos dos polioles "PLURONIC" es respectivamente de 4.750 y 8.750. En el boletín de la Wyandotte Chemicals Corp. "The Pluronic Grid" 6ª. edición, que se incorpora aquí a título de referencia, se encuentra una descripción más detallada de estos polioles.

El suero y el plasma de sangre desprovistos de factores de coagulación, según el invento, son suero y plasma de sangre a partir de los cuales se han retirado esencialmente todos los factores de coagulación, en particular el fibrinógeno (factor I), el factor antihemofílico (factor



VIII) y los factores complejos de protrombina (factores II, VII, IX y X). Se conocen y describen, por ejemplo en las Patentes de los Estados Unidos números 3.415.804; 3.560.475; 3.631.018; 3.652.530 y 3.682.881 unos métodos para retirar estos factores del suero^o del plasma de la sangre.

De acuerdo con el invento, el fraccionamiento del suero o del plasma de sangre desprovisto de factores de coagulación se realiza para obtener preparaciones mejoradas de inmunoglobulina, fracciones que contienen albúmina, y perfusatos orgánicos. Las preparaciones de inmunoglobulina incluyen el complejo de inmunoglobulina (I_gM, I_gA, α_2 -macroglobulina, y plasminógeno), globulina de suero inmune y la globulina gamma intravenosa descrita en la Memoria copendiente número de serie 309.841, con fecha del 27 de noviembre de 1.972, y concedida al mismo concesionario. Las fracciones que contienen albúmina incluyen albúmina de suero normal, fracciones de proteína de plasma (conteniendo 83-90% de albúmina y el resto α y β -globulinas), y agentes de dilución de plasma. Los perfusatos orgánicos son soluciones prótidas adecuadas para mantener y preservar los órganos en caso de trasplante.

La precipitación selectiva objeto de la invención se realiza mediante la siguiente secuencia de fases:

El suero o el plasma de sangre de partida, desprovisto de factores de coagulación, se diluye con agua u otro medio acuoso para obtener una concentración de proteína incluída entre 0,5% y aproximadamente 2,5%. El pH de la sustancia diluida se ajusta entre 7 y 8 aproximadamente y la materia se mezcla cuidadosamente con el copo-



limero en bloques hasta obtener una concentración incluida
entre 10% y 20% aproximadamente. El precipitado resultan-
te es fraccionado todavía más para proporcionar las pre-
paraciones de inmunoglobulina definidas más arriba, y el
5 material flotante se fracciona ulteriormente para propor-
cionar las fracciones mencionadas más arriba que contienen
albúmina. En una variante, el material iniciado constituido
por suero o plasma diluido desprovisto de factores de coa-
gulación puede ser fraccionado de la manera descrita en
10 lo que sigue para obtener un perfusato orgánico.

El precipitado recogido del fraccionamiento inicial
con el copolimero en bloque a una concentración de 10% a
20% puede contener cantidades residuales de protrombina y/o
albúmina que se eliminan en primer lugar. Se retira la
15 protrombina residual diluyendo el precipitado con una so-
lución salina fisiológicamente normal (0,9% de NaCl), con
el fin de obtener una concentración de proteína de 0,5% a
2,5% aproximadamente. El material diluido se ajusta para
obtener un pH de 6,7 a 7,7 aproximadamente y se mezcla
20 cuidadosamente con un adsorbente adecuado, tal como fosfa-
to de calcio, a una concentración incluida entre 0,5 y
1,5% aproximadamente. El precipitado resultante se separa
del material/flotante y se desecha. A continuación se re-
tira la albúmina residual, ajustando el pH del material
25 flotante a un valor incluido entre 6,5 y 7,5 aproxima-
damente, y se mezcla cuidadosamente con el copolimero en
bloques hasta obtener una concentración incluida entre
9% y 19% aproximadamente. Se conserva el precipitado re-
sultante para tratamiento ulterior con el fin de obtener
30 preparaciones^{de} inmunoglobulina de acuerdo con el invento



y se desecha el material flotante.

5 El precipitado obtenido del tratamiento de eliminación de la protrombina y de la albúmina residuales se diluye con una solución salina normal hasta obtener una concentración de proteína incluida entre 0,5% y 2,5% aproximadamente. El pH del material diluido se ajusta entre 4 y 5 aproximadamente y este material se mezcla cuidadosamente con el copolimero en bloques, hasta conseguir una concentración de 3% a 13% aproximadamente. El precipitado
10 resultante se recoge y se conserva, ya que constituye el complejo de inmunoglobulina deseado, y se conserva el material flotante para su tratamiento ulterior con el fin de obtener globulina de suero, inmune y productos de globulina gamma intravenosos.

15 El material flotante procedente de la separación del complejo de inmunoglobulina se ajusta en un pH de 4,5 a 5,5 aproximadamente y se mezcla cuidadosamente con el copolimero en bloque hasta obtener una concentración de 4 a 14% aproximadamente. El precipitado resultante se
20 desecha. Se ajusta el pH del material flotante a un valor incluido entre 6,5 y 7,5 aproximadamente y se mezcla este material flotante con el copolimero en bloque, hasta conseguir una concentración incluida entre 10% y 20% aproximadamente. El precipitado resultante se recoge y se
25 conserva como fracción que contiene más de 90% de globulina gamma. Puede realizarse con él una nueva suspensión en una solución tampón acuosa con una concentración de proteína de 15,5% a 17,5%, constituyendo globulina de suero inmune para uso intramuscular o a una concentración de
30 proteína de 5-7% para uso intravenoso.



El material flotante que contiene albúmina recogida a partir del fraccionamiento inicial con el copolimero en bloque a una concentración de 10%-20%, manteniendo en un pH de 7 a 8 aproximadamente, se mezcla cuidadosamente con el copolimero en bloque hasta obtener una concentración de 17% a 27% aproximadamente. Se desecha el precipitado resultante. El material flotante se ajusta para que tenga una temperatura incluida entre 0°C. y 10°C. aproximadamente y para que presente un pH incluido entre 4 y 5 aproximadamente, y se mezcla cuidadosamente con un tampón de acetato (4 mol de ácido acético, 0,8 mol de acetato de sodio, pH de 4,0). El precipitado resultante se recoge y se conserva para un tratamiento ulterior destinado a proporcionar fracciones de albúmina de suero y de proteína de plasma, y se desecha el material flotante.

Puede prepararse una solución de albúmina de suero purificada para uso terapéutico en primer lugar tratando térmicamente el precipitado recogido para eliminar las globulinas alfa y beta de la manera descrita por ejemplo en la Patente de los Estados Unidos 2.765.299. El precipitado se disuelve en una solución salina normal hasta conseguir una concentración de proteínas de 4% a 8% aproximadamente. Se añade caprilato de sodio hasta conseguir una concentración incluida entre 0,0075 y 0,02 mol y el pH se ajusta entre 5 y 5,2 aproximadamente. Esta suspensión se calienta durante 1 a 4 horas aproximadamente a una temperatura que puede variar entre 65° y 75°C aproximadamente, bajo agitación constante. A continuación se retiran las proteínas desnaturalizadas mediante centrifugación y/o filtración y se ajusta la concentración de proteína entre



0,5% y 2,5% aproximadamente, mediante mezcla con solución salina normal.

Después de este tratamiento térmico, se añade copo-
limerio en bloque con una concentración de 15% a 35%, se
5 enfria la suspensión hasta una temperatura incluida entre
0° y 10° C aproximadamente, se ajusta el pH entre 4 y 5
aproximadamente con un tampón de acetato (según se descri-
birá más adelante) y se mezcla cuidadosamente la suspensión.
Se conserva el precipitado resultante y se desecha el mate-
10 rial flotante. Se prepara una solución de albumina de suero
normal al 5% ó 25% mediante una nueva suspensión del pre-
cipitado en solución salina normal hasta la concentración
de proteína apropiada. La concentración iónica se ajusta
en 154meq./l. Na⁺, 124meq./l. Cl⁻, y 0,04meq./l. K⁺, o cual-
15 quier otro nivel iónico adecuado.

En una variante, puede prepararse una fracción de
proteína de plasma realizando una nueva suspensión del
precipitado recogido en un medio acuoso con una concentra-
ción de proteína incluida entre 6% y 7% aproximadamente.
20 La suspensión se calienta durante 2 horas a 55°-65°C y a
continuación se clarifica mediante centrifugación y/o fil-
tración. La concentración iónica se ajusta a 100-120meq/l.
Na⁺, 45-55meq./l Cl⁻ y no superior a 2meq./l. K⁺, y el con-
tenido de proteínas se ajusta entre 5% y 5,6%. Este mate-
25 rial puede ser utilizado como agente de incremento de vo-
lumen del plasma primario.

Se prepara un perfusato orgánico a partir del ma-
terial inicial a base de suero o plasma de sangre exento
de factores de coagulación diluido del tipo descrito más
30 arriba, de la siguiente manera.



El material diluido puede contener cantidades re-
siduales de protrombina. La protrombina residual se retira
ajustando en primer lugar el pH a un nivel incluido entre
5,5 y 6,5, aproximadamente. A continuación se mezcla ínti-
5 mamente fibrinógeno con la suspensión hasta obtener una
concentración de 0,1% a 1,5%. El pH se ajusta hasta un ni-
vel incluido entre 6,7 y 7,7 aproximadamente y a continua-
ción se mezcla íntimamente la suspensión con un agente ad-
sorbente adecuado, por ejemplo fosfato de calcio, hasta
10 una concentración de 0,5% a 1,5% aproximadamente. El pre-
cipitado resultante se separa del material flotante y se
desecha.

El material flotante conservado se ajusta para que
presente un pH incluido aproximadamente entre 4 y 5, y el
15 copolimero en bloque se mezcla cuidadosamente con él hasta
obtener una concentración incluida entre 2% y 12% aproxi-
madamente. El precipitado resultante, que es rico en lipo-
proteínas, se separa del material flotante y se desecha.
Se retira una cantidad suplementaria de prótidos del
20 material flotante restante, mediante una mezcla cuidadosa
con el copolimero en bloque, hasta una concentración de
14% a 24% aproximadamente, enfriando la suspensión a una
temperatura de 0° a 10°C aproximadamente, y ajustando el
pH a un nivel incluido entre 4 y 5 aproximadamente, con
25 una solución tampón de acétato (tal y como se ha descrito
más arriba). El precipitado resultante se separa del ma-
terial flotante que se desecha. El precipitado se pone
nuevamente en suspensión en un medio acuoso, para obte-
ner una concentración de proteínas de 4% a 8%, con el
30 fin de proporcionar el perfusato orgánico deseado.



Los siguientes ejemplos ilustrarán más completamente el invento, aunque éste no ha de considerarse limitado a los mismos.

EJEMPLO 1

5 Se retiran los factores de coagulación de una cierta cantidad de plasma humano normal congelado, por el siguiente procedimiento. En este ejemplo el copolimero en bloque es "PLURONIC" F-38.

10 (a) El plasma congelado se descongela rápidamente y se ajusta su pH en 6,88. Se añade una cantidad suficiente de glicina, para que la concentración molar sea de 2,3, y se agita mecánicamente la mezcla durante una a cuatro horas a 2°C y a continuación se centrifuga. Se conserva el precipitado y se trata éste para la producción del factor antihemofílico (AHF), (Factor VIII) y de fibrinógeno,
15 y se trata el material flotante para extraer el complejo de protrombina en la fase (b).

(b) El material flotante procedente de la fase (a) se diluye al doble de su volumen con una solución salina normal y se ajusta su pH en 6. Se añade copolimero
20 en bloque hasta una concentración de 35% (en peso) y se agita mecánicamente la mezcla durante 1 a 2 horas a la temperatura ambiente (20°C). Se centrifuga la suspensión y se desecha el material flotante. A continuación se pone
25 en suspensión el precipitado en una solución salina normal, hasta una concentración de proteínas de 5% y se ajusta el pH en 7,2. Se añade fosfato de calcio tribásico ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) con una concentración de 0,5% y se agita mecánicamente la mezcla durante una hora a 20°C, y a continuación
30 se centrifuga. Se conserva el precipitado y se trata éste



para la producción de complejo de protrombina, y el material flotante se trata para la producción de preparaciones de inmunoglobulina, de fracciones que contienen albúmina y de perfusatos orgánicos.

5 (c) Una parte del material flotante procedente de la fase (b) se diluye con agua destilada, hasta una concentración de proteínas de 1%, ajustándose su pH en 7,5. Se añade copolímero en bloque hasta una concentración de 15% y se agita mecánicamente la mezcla durante una a dos
10 horas y a continuación se centrifuga. Se conserva el precipitado bajo la forma de una fracción de proteína de peso molecular elevado, para la separación de las macroglobulinas y de globulina de suero inmune. El material flotante se conserva bajo la forma de una fracción de proteína
15 de peso molecular reducido, para la separación de las fracciones que contienen albúmina.

(d) El precipitado procedente de la fase (c) se pone en suspensión en una solución salina normal con una concentración de proteínas de 1%. A continuación se añade
20 fosfato de calcio tribásico a la suspensión, hasta obtener una concentración de 0,5% y se ajusta su pH en 7,2. Se agita mecánicamente la mezcla durante 1 hora después de lo cual se centrifuga. Se desecha el precipitado y el material flotante se ajusta a un pH de 7, después de lo
25 cual se añade un copolímero en bloque hasta una concentración de 14%. Se efectúa agitación mecánica durante una a dos horas a 20°C, después de lo cual se efectúa la centrifugación. El material flotante, que contiene trazas de albúmina, se desecha, y el precipitado se pone en suspen
30 sión en una solución salina normal de manera que la con



centración de proteínas sea del 1%. Se ajusta el pH en 4,5, después de lo cual se añade copolimero en bloque hasta una concentración del 8%. Se agita mecánicamente la mezcla durante una o dos horas a la temperatura ambiente, después de lo cual se efectúa la centrifugación. Se conserva el precipitado bajo la forma de complejo de inmunoglobulina bruto que contiene α_2 -macroglobulina, IgM, IgA, y plasminógeno.

(e) El material flotante procedente de la fase (d) se ajusta a un pH de 5 y el copolimero en bloque se añade hasta obtener una concentración de 9%. La mezcla se agita mecánicamente durante una a dos horas a la temperatura ambiente, después de lo cual se filtra. El precipitado, que contiene factores complementarios, se desecha. Se ajusta el pH del material flotante en 7 y el copolimero en bloque se añade hasta obtener una concentración de 16%. Se agita mecánicamente la mezcla durante una a dos horas, después de lo cual se efectúa una centrifugación, y se desecha el material flotante resultante. Se pone en suspensión el precipitado en una solución salina de glicina (0,3 mol de glicina/1% de NaCl) para obtener los niveles de 6% de proteína y 16,5% de proteína, respectivamente. Se ha demostrado que muestras de globulina gamma preparadas por este procedimiento presentan las características de la globulina de suero inmune preparadas por el método de fraccionamiento de etanol de Cohn, tal y como puede determinarse mediante ultracentrifugación, electroforesis de Tiselius, inmunolectroforesis y contenido de anticuerpos. Sin embargo, el producto preparado por este procedimiento presenta de manera adecuada una concentración anticomple-



mentaria sustancialmente más reducida en comparación con el producto fraccionado de Cohn.

(f) El material flotante procedente de la fase (c) se mantiene a un pH de 7,5 y se mezcla con el copolimero en bloque hasta una concentración de 22% de copolimero. La mezcla se agita mecánicamente durante una a dos horas a la temperatura ambiente, después de lo cual se somete a centrifugación. El precipitado, que contiene rastros de IgG así como de globulinas α y β se desecha. El material flotante se mezcla con una solución salina normal hasta una concentración de 0,9% de NaCl, se refrigera a 5°C, se ajusta su pH en 4,5 con una solución tampón de acetato (0,8 mol de acetato de sodio, 4 mol de ácido acético, pH = 4) y se agita durante una a dos horas, después de lo cual se somete a centrifugación. El material flotante se desecha y una parte del precipitado se vuelve a poner en suspensión en una solución salina normal hasta una concentración de proteínas de 5%. Este material puede ser conservado como fracción de proteína de plasma o puede ser tratado ulteriormente para obtener albúmina pura.

(g) Otra parte del precipitado obtenido en la fase (f) se pone en suspensión en agua destilada ajustándose su pH en 5,1 y se trata térmicamente a 70°C, bajo agitación durante una a cuatro horas en presencia de 0,012 mol de caprilato de sodio. Se desecha el precipitado resultante. El material flotante se mezcla con una solución salina normal hasta una concentración de 0,9% de NaCl y se mezcla a continuación con el copolimero en bloque hasta una concentración de 19% de copolimero. Después de enfriar el material a 5°C, se ajusta el pH a 4,5 con una solución



tampón de acetato, se agita mecánicamente la mezcla durante una a dos horas y a continuación se centrifuga. El material flotante se desecha, y el precipitado se pone en suspensión en una solución salina, para obtener concentraciones de proteína del 5% y del 25% respectivamente. Se ha demostrado que las muestras de soluciones de albúmina obtenidas por este procedimiento presentan las mismas características fisicoquímicas que la albúmina obtenida mediante fraccionamiento de etanol de Cohn, tal y como puede determinarse mediante ultracentrifugación, electroforesis de Tiselius, inmunolectroforesis y osmolaridad.

(h) Otra parte del material flotante procedente de la fase (b) se diluye con una solución salina normal hasta una concentración de proteína de 1% ajustándose su pH en 6. A continuación se añade fibrinógeno, hasta una concentración de 0,5 gramos por kilogramo de material flotante. La mezcla se agita mecánicamente durante dos horas a temperatura ambiente y se ajusta el pH de la mezcla en 7,2. Se añade fosfato de calcio tribásico con una concentración de 0,5%. Después de mezclar durante una a dos horas, la mezcla se centrifuga y se desecha el precipitado. El pH del material flotante se ajusta en 4,5 y se añade copolímero en bloque hasta una concentración de 7%. Se agita la mezcla durante una a dos horas, después de lo cual se efectúa una centrifugación. El precipitado resultante se desecha y el material flotante se mezcla con el copolímero en bloque, hasta obtener una concentración de 19%. Se enfría la suspensión a 5°C y se ajusta su pH en 4,5 con una solución tampón de acetato. Después de agitar durante dos horas, se centrifuga la mezcla y se desecha el material



flotante. El precipitado se pone en suspensión en agua hasta una concentración de proteína de 6% y se ajustan los electrolitos a la concentración del plasma. Este producto es útil para perfusión orgánica a 5°C sin formación de materia en forma de partículas.

EJEMPLO 2

Se repite el proceso del ejemplo 1, salvo que en lugar de "PLURONIC" F-68 se utiliza una cantidad equiva - lente de "PLURONIC" F-38, con resultados sustancialmente similares.

Los peritos en la materia podrán idear varios otros ejemplos y modificaciones de los ejemplos expuestos después de leer la descripción que antecede. Todos los ejemplos y modificaciones que entren dentro del espíritu y del alcan ce del invento están incluidos en las Reivindicaciones ad juntas.

Los términos en que se ha redactado esta memoria deberán tomarse siempre en sentido amplio, no limitativo.

NOTA DE REIVINDICACIONES

Se reivindica como de propia y nueva invención, a favor de la firma BAXTER LABORATORIES, INC., con domici - lio en Morton Grove, Illinois (Estados Unidos), lo espe - cificado en las siguientes reivindicaciones:

1.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, caracterizado en que el suero o plasma se pre cipita selectivamente mediante mezcla con copolímeros en bloque de óxido de etileno y polímero de polioxipropileno que contenga por lo menos aproximadamente 50% de óxido

30

me



de etileno en la molécula y que presenten un peso molecular de la base hidrofóbica de polioxipropileno de por lo menos 950.

5 2.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 1, caracterizado porque el copolimero en bloque contiene aproximadamente 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950 aproximadamente.

10 3.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 1, caracterizado por que la concentración de copolimero en bloque utilizada está incluida entre 10% y 20% aproximadamente y el pH está incluido entre 7 y 8 aproximadamente.

15 4.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 3, caracterizado por que el copolimero en bloque contiene aproximadamente 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950 aproximadamente.

20 5.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 3, caracterizado porque

30

AGE

30 ENE.



5 el precipitado resultante del fraccionamiento con una concentración de 10% a 20% del copolímero en bloque se fracciona ulteriormente con una concentración incluida entre 3% y 13% aproximadamente de dicho copolímero, con un pH incluido entre 4 y 5 aproximadamente, para proporcionar un complejo de inmunoglobulina.

10 6.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 5, caracterizado por que el copolímero en bloque contiene aproximadamente 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950 aproximadamente.

15 7.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 3, caracterizado por que el material flotante resultante del fraccionamiento con
20 una concentración de 10% a 20% del copolímero en bloque se fracciona ulteriormente con una concentración de 17% a 27% aproximadamente de dicho copolímero con un pH incluido entre 7 y 8 aproximadamente y a continuación se ajusta el material flotante resultante para obtener un pH incluido
25 entre 4 y 5 aproximadamente, manteniendo el copolímero a esta concentración para proporcionar una fracción que contiene albúmina concentrada.

30 8.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de

ME



coagulación, según la reivindicación 7, caracterizado por que el copolimero en bloque contiene aproximadamente 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950 aproximadamente.

9.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 1, caracterizado por que la concentración de copolimero en bloque utilizada está incluida entre 2% y 12% aproximadamente y el pH es de 4 a 5 aproximadamente, y a continuación se ajusta la concentración de dicho copolimero en el material flotante resultante entre 14% a 24% aproximadamente, para proporcionar un precipitado para reconstitución de un perfusato orgánico.

10.- Procedimiento para la obtención de fracciones terapéuticas de sangre y de perfusatos orgánicos, a partir de suero o plasma sanguíneo desprovistos de factores de coagulación, según la reivindicación 9, caracterizado porque el copolimero en bloque contiene aproximadamente 80% de unidades hidrofílicas de polioxietileno en la molécula y la base hidrofóbica de polioxipropileno tiene un peso molecular de 950 aproximadamente.

11.- PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE FRACCIONES TERAPEUTICAS DE SANGRE Y DE PERFUSATOS ORGANICOS, A PARTIR DE SUERO O PLASMA SANGUINEO DESPROVISTOS DE FACTORES DE COAGULACION.

Tal y como se deja descrito en la memoria precedente, que consta de veintiuna hojas foliadas y mecanografiadas

me

30 ENE



por una sola de sus caras.

Madrid, 30 de enero de 1.974

P.A. de BAXTER LABORATORIES, INC.

Victor Gil Vega:

ME