



ESPAÑA

19 ES	11 21	NUMERO 446.944	10 A1
	22	FECHA DE PRESENTACION 12-4-1976	

P.- 62.765

HOE 75/B  
011

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
569.476	18-4-75	EE.UU.

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C04G	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO PARA LA PURIFICACION DE LA $\beta_1$ -GLUCOPROTEINA ESPECIFICA DEL EMBARAZO"
--

71 SOLICITANTE (S) BEHRINGWERKE AKTIENGESELLSCHAFT
---

DOMICILIO DEL SOLICITANTE Marburg/Lahn, República Federal Alemana
--

72 INVENTOR (ES) Hans Bohn y Ferdinand Stutzinger
--

73 TITULAR (ES)
-----------------

74 REPRESENTANTE DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ
---

P.- 62.765

En la solicitud de patente alemana 21 57 610 está descrita una glucoproteína existente en la placenta, a la que corresponde la designación " $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo" ( $SP_1$ ). Además, en la mencionada solicitud de patente está descrito un procedimiento para el aislamiento de esta glucoproteína.

Objeto de la presente invención es un procedimiento de adsorción que permite purificar adicionalmente y obtener prácticamente en estado puro la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo que, en el procedimiento mencionado, se produce con una pureza de 60 hasta 95%.

El procedimiento está caracterizado porque se pone en contacto con hidroxilapatito, una solución acuosa que contiene fosfatos y que contiene la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo se separa el hidroxilapatito de la solución, y de ésta se obtiene la  $SP_1$ .

En tal caso, las condiciones de adsorción son elegidas de modo que la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo no sea adsorbida, sino que únicamente sean fijadas en hidroxilapatito las impurezas aún existentes junto a ella.

La adsorción se lleva a cabo en un medio acuoso que contiene fosfatos, ventajosamente en un tampón que contiene fosfatos, tal como un tampón de fosfato de potasio o un tampón de fosfato de sodio, en un margen de pH de 5 - 8,5, de preferencia de 6-8, y una molaridad de los fosfatos de 0,001 a 0,01, de preferencia de 0,005.

La adsorción de las impurezas puede ser llevada a cabo tanto en un procedimiento discontinuo como también en una cromatografía de columna.

Con mantenimiento de las condiciones antes mencionadas, se obtiene según este procedimiento la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo con una pureza  $> 99\%$ .

La pureza del preparado se determina ventajosamente por procedimientos inmunológicos con utilización de antisueros, que contienen tanto anticuerpos contra la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo como también contra algunos o varios de los antígenos existentes en el extracto de placentas, en la sangre o en la orina de mujeres embarazadas.

#### Ejemplo

Para la purificación elevada de  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo se disuelven 50 mg del preparado con una pureza de 60-95%, en 10 ml de tampón de fosfato de sodio 0,005 m (pH 6,0) y se aplican sobre una columna (de 2 x 8 cm) rellena con hidroxilapatito (fabricante Serva, Heidelberg), que previamente había sido equilibrado con un tampón de fosfato 0,005 m de pH 6,8. En la elución de la columna con tampón de fosfato 0,005m, la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo se desplaza a través de la columna, mientras que por el contrario las impurezas son adsorbidas en el hidroxilapatito. El eluato que contiene proteínas, contiene también  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo en forma pura; para la eliminación de las sales, es dializado frente a un volumen 10 veces mayor de agua, y a continuación es liofilizado. Rendimiento, aproximadamente 40 mg de  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo. La pureza es  $> 99\%$ , es decir, según procedimientos inmunológicos no es reconocible ninguno de los subproductos identificados antes de la operación de purificación.

1

5

REIVINDICACIONES

10

Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

15

1ª.- Procedimiento para la purificación de la  $\beta_1$ -glucoproteína específica del embarazo, caracterizado porque una solución que contiene la  $\beta_1$ -glicoproteína específica del embarazo, en un tampón que contiene fosfatos, con un valor de pH de 5 a 8,5 y una molaridad del fosfato de 0,001 a 0,01, se pone en contacto con hidroxilapatito, se separa el hidroxilapatito de la solución y se recupera de ésta la glicoproteína.

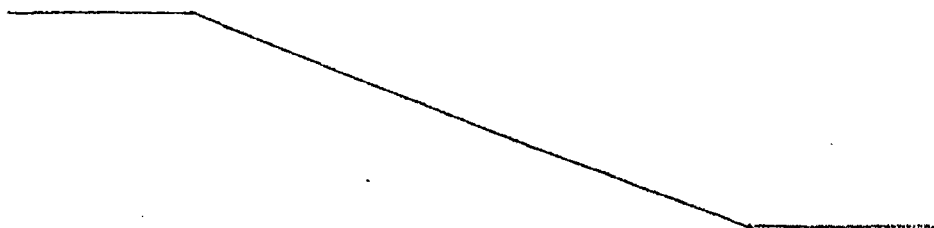
20

2ª.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PURIFICACION DE LA  $\beta_1$ -GLUCOPROTEINA ESPECIFICA DEL EMBARAZO".

25

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y con los fines que se han especificado.

30



1                    Esta Memoria consta de cinco hojas escritas a  
máquina por una sola cara.

14 JUN. 1977

Madrid,

P.A.

Alberto de Elzaburu  
For Poder



5

10

15

20

25

30