



ESPAÑA

20 JUL 1978

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

NUMERO	466.385
FECHA DE PRESENTACION	26-1-78

AI

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
934/77	26-1-77	Suiza
1859/77	17-3-77	Austria

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	A61K	

54 TITULO DE LA INVENCION

UN PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UN PREPARADO DE SEROALBUMINA.

71 SOLICITANTE (S)

PLASMESCO AG.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Hänibühl 8, ZUG, Suiza.

72 INVENTOR (ES)

Markus RADOWITZ, de nacionalidad alemana.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU

1 El invento se refiere a un procedimiento para
producir un preparado de proteínas de suero, por el que,
partiendo de una solución de proteínas de sangre humana,
se consigue un preparado estabilizado de uso universal,
5 que contiene disueltas proteínas en una solución acuosa
isotónica, en las que la relación de globulinas y albú-
minas es prácticamente la misma que la del suero sangui-
neo natural.

10 Los preparados de proteínas de suero son pro-
ductos valiosos derivados de la sangre. La albúmina con-
tenida en ellos actúa de proteína de transporte. Los pre-
parados contienen además otras proteínas funcionales como
la transferrina, la ceruloplasmina, la α_1 -antitripsina y
especialmente las inmunoglobulinas. Significativos son los
15 anticuerpos que están contenidos en la γ -globulina. Por
la inmunización pasiva causada por ellos, son útiles en
las profilaxis y apoyan al organismo debilitado por la
pérdida de sangre.

20 Un preparado de proteínas de suero debe cumplir
dos importantes requisitos para poder ser aplicable al -
hombre intravenosamente:

1. La preparación debe conducir a un producto
almacenable por largo tiempo.

25 2. Agentes infecciosos (virus o bacterias) deben
ser neutralizados de manera segura. Esto vale en especial
para los causantes de la hepatitis vírica.

30 Los preparados de proteínas de suero son pue-
tos a la disposición generalmente en forma de solución
acuosa de las proteínas estables en una solución de conte-
nido electrolítico compatible con el organismo. El conte-

1 nido proteínico total es generalmente de 5 % en peso (es decir 5000 mg por 100 ml).

5 De la literatura se conoce un procedimiento para producir un preparado de proteínas de suero aplicable intravenosamente. Se gana directamente de la sangre humana a través de varios pasos (W. Stephan; "Hepatitis-Free and Stable Human Serum for Intravenous Therapy"; XXIV th Sc. Meeting of the Blood Research Institute, Vox Sanguin., V. 20; (pág. 442 ... 457)).

10 Este procedimiento, que se conoce, consta de - los siguientes pasos:

- 15 a) Extracción del suero natural de la sangre de los donadores eliminando los componentes sólidos (glóbulos, trombocitos) y preparación de un suero de una concentración de proteínas de aproximadamente 7,5 % y de un pH de 7,2 a 7,8.
- 20 b) Para retirar las lipoproteínas fácilmente desnaturables se añaden 2,0 g Aerosil 2491/380 por cada 100 ml de suero (Aerosil: marca registrada de la empresa Degussa de un ácido silícico coloidal). La suspensión se agita a 45°C 4 horas. Las lipoproteínas se han unido "cuantitativamente" al Aerosil y han sido retiradas del suero sanguíneo.
- 25 c) Filtración, con un filtro fino, para retirar las partículas flotantes aún presentes.
- d) Para esterilizarla, se le añade a la solución a 50°C 0,3 g de β -propiolactona por cada 100 ml (pH 8,0) y se irradia con luz ultravioleta.

30 El suero así ganado revela la siguiente composición (en relación a los 5000 mg contenidos en 100ml):

	<u>Sustancia</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Función</u>
1	Albúmina	3060	Función oncótica, transporte de sustancias alimenticias, vitaminas, hormonas, medicamentos
5	IgG	820	Anticuerpos contra virus y bacterias
	IgA	185	Anticuerpos protectores de mucosas
10	IgM	75	Anticuerpos contra bacterias y toxinas
	prealbúmina	17	Producción de tiroxina
	α_1 -antitripsina	162	Inhibidores de
	α_2 -macroglobulina	141	enzimas proteolíticas
15	haptoglobina	110	Unión y transporte de hemoglobina libre
	hemopexina	75	Unión y transporte de hemina libre
	transferrina	195	Transporte de Fe^{++}
20	ceruloplasmina	14	Transporte de Cu^{++} como poroxidasa
	colinestarasa	3,0 E/ml	Disociación de succinilcolina

25 De la tabla se infieren las funciones de las componentes del preparado de proteínas de suero.

El preparado, realizado según procedimiento bien conocido, se consigue en el comercio y es aplicable libre de complicaciones.

30 Se considera desventajoso, tanto en la preparación como en la aplicación, que a causa del alto valor de

1 la materia prima, la sangre humana, el preparado sea muy
constoso y no se encuentre en cantidad suficiente, y que,
además, el contenido de los anticuerpos especialmente
efectivos IgG, IgA, IgM sea relativamente bajo en rela-
5 ción con el de la sangre humana.

Es por esto que la tarea reside en especificar
un procedimiento para producir un preparado de proteínas
de suero de aplicación intravenosa en el que las materias
primas sean menos costosas y escasas. El procedimiento debe
10 permitir el uso de sustancias primarias que no hayan sido
tratadas, o sólo de manera insuficiente, para producir -
los valiosos preparados de proteína de suero; la tarea re-
side, además, en elevar el contenido de anticuerpos efec-
tivos y de otras proteínas del suero sin incrementar noto-
riamente los costos de producción.
15

La solución del problema se hace posible porque
en el procedimiento mencionado se utilizan como material
de partida, fracciones de plasma de sangre humana, que se
ganan aplicando uno o varios pasos de fraccionamiento,
20 dedicados a concentrar o aislar las diferentes componen-
tes proteínicas de la sangre, manteniéndose estas últimas,
en esencia, en su forma natural y además porque en él se
les da a las fracciones del material de partida, por medio
de la regulación de la mezcla, de estabilización, purifi-
cación, concentración o dilución, una composición de albú-
25 minas y globulinas como la del suero sanguíneo. El proce-
dimiento es caracterizado por los pasos a - d de reivindi-
cación 1.

La formulación generalizada de la solicitud de
30 patente enuncia que aunque el material de partida sea la

1 sangre humana, la preparación de proteínas de suero, según
el proceso conforme al invento no se realiza directamente
del suero natural sino que se utilizan otros productos in-
5 termedios que se presentan en el fraccionamiento de la san-
gre. Un fin del invento es aprovechar productos de proce-
so hasta ahora no utilizados, aplicar pasos de proceso no
complicados e incrementar la explotación de productos úti-
les componentes de la sangre.

10 En especial en el proceso conforme al invento
se aprovecha que en el fraccionamiento de la sangre según
COHN resultan ciertas fracciones que hasta ahora, o bien
no se han podido seguir tratando, o solo de manera imper-
fecta.

15 El procedimiento según COHN se basa en el frac-
cionamiento del plasma sanguíneo con etanol como agente
precipitante y bajo condiciones de temperatura, de pH, de
fuerza iónica y de contenido de etanol establecidas con
precisión. El procedimiento de COHN está descrito por ejem-
plo en:

20 COHN, E.J. et al.; J.Amer.Chem.Soc. 72 (1950); 465... 474
COHN, E.J. et al.; J.Amer.Chem.Soc. 68 (1946); 459... 475
US-pat. 2 390 074 y US-pat. 2 469 193

25 En el diagrama del proceso del apéndice adjunto
está representado cada paso del proceso. En él se entien-
de por "% etanol" el porcentaje en volumen a 25°C. El plas-
ma de partida se gana de sangre de donadores. 500 ml de
sangre humana se vierten en 50 ml de solución de citrato
de sodio al 4%. Primero se separan los componentes sólidos
de la sangre; la sangre de muchos donadores se acumula.

30 En el paso a del diagrama se separa el fibrinóge-

1. no crudo del plasma añadiendo etanol de 53,3% hasta llegar a una concentración de 8%. La temperatura se mantiene entre -2,5 y -3,0°C. El precipitado -fibrinógeno- se retira por centrifugación. El sobrenadante S 1 se sigue tratando.

5 De la misma manera el paso b consiste en dar etanol de 53,3% al sobrenadante S 1 que había quedado, hasta conseguir una concentración entre 18% y 25% de etanol en el líquido. La temperatura se mantiene a -5°C y el pH se pone al valor 5,8. Cae el precipitado P 2 que se llama fracción
10 II/III o fracción γ -globulina. Este precipitado contiene las inmunoglobulinas y otras proteínas de importancia fisiológica. El precipitado P 2 se retira por centrifugación a -5°C. El sobrenadante S 2 restante se sigue tratando.

15 El paso c consiste en seguir tratando el S 2. La concentración de etanol se pone a 40%. De manera similar como en el paso b se regulan la temperatura y el pH a -7°C y 5,8 respectivamente. Centrifugando se gana el precipitado P 3, también llamado fracción IV, el cual contiene α -globulina y β -globulina. Luego se sigue tratando el sobrenadante S 3. Para esto se mantienen las condiciones temperatura -7°C, pH 4,8 y concentración de etanol 40%. Aparece
20 el precipitado P 4, la llamada albúmina cruda, la que, como es conocido, se purifica y se esteriliza. El sobrenadante que resta, S 4, se deshecha.

25 La fracción γ -globulina II/III se sigue tratando con los siguientes pasos:

30 El precipitado P 2 se introduce en un tampón citratofosfato con un pH entre 7,0 y 7,4. La temperatura es de 15°C. Se añaden 3% polietilenglicol 4000 o bien 2,5% PEG 6000.

1 El PEG usado en la práctica es una mezcla de polientilenglicoles no volátiles, que son solubles tanto en agua
5 como en disolventes orgánicos y que tienen un peso molecular en el ámbito de 4000 a 20000. Una mezcla de tales polie
tilenglicoles con un peso molecular medio de 4000 se deno
mina PEG 4000.

Después de agitar asiduamente un tiempo de reacción
de 1/2 a 4 horas se centrifuga la mezcla. Surgen el sobre
10 nadante S 5 y la fracción III-1 (precipitado P 5). El sobre
nadante S 5 se vuelve a tratar bajo condiciones modificadas
(pH 4,6; PEG 4000 hasta aprox. 5,5%; T 15°C) y se vuelve a
fraccionar. Surgen la fracción III-2 (precipitado P 6) y el
sobrenadante S 6, el cual contiene principalmente la inmu
15 noglobulina IgG. Las globulinas de la fracción III-1 y III-2
están en esencia dotadas de las inmunoglobulinas IgG, IgA e
IgM. Además están la α_1 -antitripsina, la α_2 -haptoglobina,
la ceruloplasmina, la transferrina y la hemopexina ricamen
te presentes.

20 Las fracciones III-1 y III-2 generalmente no se siguen
tratando. Están a disposición en gran cantidad ya que de la
sangre sobre todo se extrae la albúmina y las γ -globulinas
juegan un papel secundario.

25 Se usan como productos de partida del procedimiento -
conforme al invento en especial las fracciones IV, así como
las III-1 y III-2 del procedimiento de fraccionación des-
crito (precipitados P 3, P 5, P 6).

30 Estas se mezclan en determinadas proporciones, regulan
do las proporciones, en base a la proteína total, de albú
mina a 50...70% y de globulina a 50...30% respectivamente.
Aquí es posible dentro de las proporciones citadas alcanzar

1 los mismos valores que los que se encuentran en la proteína del suero natural.

5 Por otro lado es posible también, elevando la dosis de las componentes de globulina, es decir de las fracciones III-1 y III-2, incrementar el contenido específico de las globulinas de las formas IgM e IgA.

10 Según un método de especial preferencia se parte de la suspensión, en una solución salina o en una solución tampón adecuada, de las fracciones IV, III-1 y III-2 (sedimentos), racionando como sigue:

Fracción IV	entre 30 y 80 % en peso,
Fracción III-1	entre 0 y 70 % en peso,
Fracción III-2	entre 0 y 70 % en peso,

15 en relación a un contenido proteínico total de 100 % respectivamente.

20 También es posible ganar el preparado de proteínas de suero de la fracción III-1, de la III-2 o de la IV por separado y producirlo en forma de solución como preparado para enriquecimiento de proteínas de plasma específicas. De igual modo, de los productos finales de la producción por separado a partir de la fracción III-1, III-2 o bien IV, se pueden lograr por combinación de porcentajes las relaciones de mezcla deseadas.

25 Las sustancias mezcladas en una proporción determinada y suspendidas en una solución tampón adecuada, o en una solución salina, se someten a una prepurificación. En la prepurificación se retiran los factores lípidos de la zona de las α -globulina y β -globulina por absorción con absorbentes adecuados (Aerosil, Bentonit u otros complejos con ácido silícico).

30

1 Para concluir se ultrafiltra y se dializa el producto
y luego se concentra. Una esterilización especial no es ne-
cesaria en general, pero se puede realizar, como se sabe,
para eliminar los virus se usan, por ejemplo, estos dos
5 métodos:

- a) Pasteurizar por calentamiento de 10 horas a 60°C. Este
procedimiento tiene la desventaja de que muchas proteí-
nas del suero se desnaturalizan bajo estas condiciones.
b) Combinación de un tratamiento con β -propiolactona con
10 irradiación ultravioleta (método de LoGrippto; Fed. Pro-
ceedings 15, pag. 518, 1959). Este método permite la es-
terilización de sueros y plasmas sin maltratarlos, pero
no mejora la estabilidad en caso de almacenamiento.

15 En esencia, según procedimiento conforme al invento,
se somete la mezcla de las componentes de partida, después
de lograr un contenido proteínico determinado y una rela-
ción determinada de las proteínas, a un proceso similar al
conocido para el suero (W. Stephan, en el lugar citado).
De esta manera es posible ganar, de manera sorprendente,
20 un preparado de proteínas de suero que supera su efectivi-
dad a los preparados conocidos, debido entre otras cosas,
al más alto contenido de inmunoglobulinas IgM e IgA.

25 Desde luego es posible librar cada una de las frac-
ciones de las componentes que tienden a desnaturalizarse
y luego mezclar las sustancias purificadas, concentrarlas
y estabilizarlas. También es posible usar de material de
partida un producto de fraccionamiento con Rivanol. Apro-
piadas para esto son las fracciones II, III y IV de Steinbuch
descritas en Vox Sanguin (V. 23; pag. 92 ... 106).

30 El trabajo con los absorbentes se realiza preferente-

1 mente con una concentración de 200 a 500 mg de ácido silícico por gramo de proteínas y en una temperatura de 50°C. Las sustancias se mezclan profundamente y finalmente se separa el absorbente cargado de las lipoproteínas.

5 Según ha sido encontrado, los mejores valores se logran a temperaturas entre 20°C y 50°C y a valores de pH entre 6,5 y 8.

Los ejemplos siguientes sirven para aclarar el procedimiento:

10 Ejemplo 1

En 300 l de solución salina (agua destilada con un 1,7 % en peso de NaCl puesta a un pH de 4,6 con HCl 0,2n) -aquí se llamará solvente- se vierten y suspenden 10 kg de fracción IV de COHN cuyo análisis da:

15

55 %	Albúmina
10 %	α_1 -globulinas
8 %	α_2 -globulinas
15 %	β -globulinas
12 %	γ -globulinas

20 La fracción IV contiene aproximadamente 50% de sustancias sólidas (proteínas, sales) y 50% humedad restante (H₂O, etanol).

25 Luego se añaden 5 kg de la fracción III-1 de COHN (subfracción) con el siguiente análisis de sus componentes (% en peso):

30

15 %	Albúmina
2 %	α_1 -globulinas
13 %	α_2 -globulinas
17 %	β -globulinas
53 %	γ -globulinas

1 y se suspenden 5 kg de fracción III-2 (subfracción) con
COHN con el análisis:

	8 %	Albúmina
	3 %	α_1 -globulinas
5	9 %	α_2 -globulinas
	25 %	β -globulinas
	55 %	γ -globulinas

La relación entre sustancias sólidas y humedad restan-
te es en todas las fracciones prácticamente la misma.

10 Los 20 kg de fracciones "húmedas" se suspenden en el
solvente y se agitan manteniendo el pH a 4,6. Las sustan-
cias solubles contenidas en las fracciones son recibidas
por el solvente, las compomtes presentes no solubles ori-
ginan turbiedad. Las sustancias no solubles forman un 12%
15 en peso del contenido total de sustancias sólidas. Entre -
las sustancias no solubles están en especial globulinas des-
naturalizadas, inclusive lipoprótidós, que ya no se necesi-
tan en el transcurso del proceso, por eso se retiran por
medio de un centrifugado.

20 El líquido restante tiene una ligera turbiedad y un
color amarillo.

Añadiendo NaOH 0,2n se regula el pH a 7,4. A la solu-
ción se la añade ácido silícico coloidal hasta una concen-
tración de 5% en peso el cual se revuelve. El líquido se
25 calienta a 45°C (aprox. 1°C por minuto) y el pH se mantiene
constante. Después de lograr la temperatura final de 45°C
se agita el líquido 4 horas. Durante este paso las proteí-
nas no estables para el almacenamiento se ligan al ácido
silícico y forman un precipitado que se retira por centri-
30 fugado.

1 El líquido que queda del centrifugado se somete a una
filtración clarificante sobre un filtro de carbón activo.
(filtro marca Seitz AKS). El filtrado es un líquido claro
de un amarillo ámbar. El líquido se concentra por medio de
5 un proceso de diaconcentración (sistema de cassettes Milli-
pore, tamaño de los poros de la membrana 10000 Dalton) has-
ta un 25 % del volumen original. Después de este paso la
solución muestra una concentración total de proteínas de
3,4 a 4,5 % en peso.

10 Un análisis muestra que por el paso de diaconcentra-
ción, en esencia, todas las componentes sanguíneas con un
peso molecular menor de 10000 fueron retiradas del concen-
trado. Entre ellas especialmente las que no son deseables
en una conserva de proteínas; por ejemplo, los oligo-pép-
15 tidos con efecto vasoactivo.

El concentrado se somete luego, para retirar final-
mente las llamadas "impurezas" y para dosificar los elec-
trolitos, a una diálisis frente al triple volumen de una
solución de NaCl de 0,9 % en peso. La diálisis se realiza
20 en los mismos aparatos y con las mismas membranas que se
usaron para la concentración.

A continuación un paso de concentrado más, al final
del cual habrá una concentración de proteínas total del
6 al 10 %. Finalmente se regulan las condiciones fisioló-
25 gicas de isotonía con la sangre humana, por medio de una
solución de NaCl y la concentración de proteínas total se
lleva a 5 % en peso.

El análisis de las proteínas ganadas según un ejemplo
30 l revela los siguientes valores:

1 Tabla 2 (en relación a 100 ml)

	Proteína	5000 mg
	Albúmina	2925 mg
	IgG	1500 mg
5	IgA	380 mg
	IgM	285 mg

10 La solución, una vez regulada, se filtra otra vez con un filtro antimicrobiano (EKS II; Seitz, Kreuznach). La filtración esterilizante se realiza con un filtro de membrana.

El preparado, ya embotellado y listo, es aplicable intravenosamente.

Ejemplo 2

15 En 300 l de solvente como en el ejemplo 1 se disuelven

- 7,5 fracción IV de COHN
- 4 fracción III-1 de COHN
- y 8,5 fracción III-2 de COHN

20 Las composiciones de las fracciones corresponden a las del ejemplo 1. Las fracciones se revuelven con el solvente, el pH se mantiene a 4,6.

25 Se le añaden a la solución 60 g de Aerosil 2491/380 por cada litro y el pH se regula a 7,6. La mezcla se agita cuatro horas a 47°C, luego se enfría a 18°C y se somete a una filtración aluvial. La filtración aluvial se realiza con un filtro aluvial tipo CHF-S de la firma Schenk Filterbau, Schwáb. Gmünd, en posición vertical. Como agente filtrante se pone Hyflo Super Cel en una concentración de 8 % en peso en relación a la cantidad de filtro. Como agente filtrante se puede usar también Kieselgur Celite 545 en
30 concentración de 5 %.

1 Ejemplo 3

Después de purificar se unen las diferentes soluciones y se someten a un proceso de diaconcentración como en el ejemplo 1. Pueden también, por otro lado, ser tratadas a discreción, hasta ganar el concentrado final, como se ha descrito en el ejemplo 1 y finalmente pueden, según elección, dejarse separadas o reunirse a discreción.

5 Ejemplo 4

10 En 200 litros de una solución tampón de fosfato-citrato (0,066 mol fosfato-citrato) se disuelven 10 kg de fracción III-1 y 10 kg de fracción III-2 en aprox. 3 horas. El pH se regula a 7,50 y después de otra dilución con solución tampón citada hasta alcanzar 300 litros, se agita 4 horas a 45°C añadiendo 100 g por litro de Aerosil y Bentonit
15 (2:1). Después de enfriarla, se filtra la suspensión en un filtro aluvial prebañado con 1,0 kg Kieselgur Celite 545 por m² de área filtrante. Sigue una filtración clarificante con filtro Seitz AKS₄ y una diaconcentración como en los ejemplos 1 a 3. La concentración final se regula a 5 %
20 de proteína. Aquí resulta una composición media:

Tabla 5

25	Proteína	5000 mg
	Albúmina	1800 ... 2000 mg aprox.
	Globulinas	3000 ... 3200 mg
	IgG	1450 mg aprox.
	IgA	700 mg aprox.
	IgM	500 mg aprox.

Ejemplo 5

30 En lugar de una precipitación fraccionada se pueden precipitar las fracciones I ... III y IV-1 de COHN en un

1 solo paso con una concentración de etanol de 40 % y un pH
de 5,8. Por fracción IV-1 se entiende una subfracción de
la fracción IV (ver por ejem. US-PS 2 710 293). El preci-
5 pitado se aísla. 20 kg del precipitado se vierten en 300 l
del solvente según ejemplo 1 y se siguen tratando como en
el ejemplo 1.

Ejemplo 6

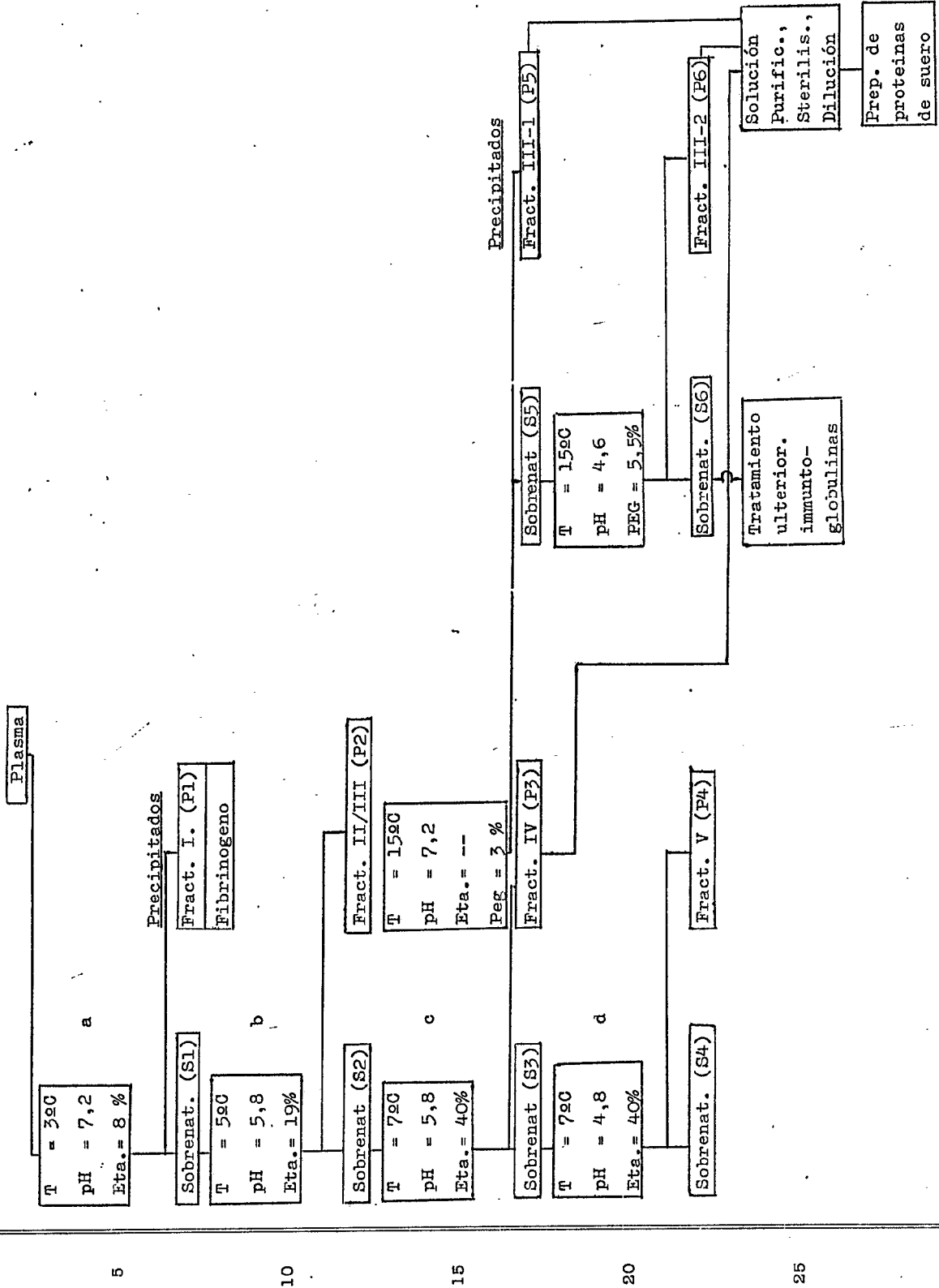
Se conoce una precipitación fraccionada del plasma
humano con Rivanol (2-etoxi 6, 9-diamino-acidínil-acetato),
10 (STEINBUCH; Vox Sanguin 23, 92...106). Según el procedi-
miento descrito en esta publicación resultan los precipi-
tados II, III y IV. Estos precipitados pueden ser tratados,
conforme al invento, hasta un preparado de proteína de sue-
ro. Cada 10 kg de precipitados II, III y IV, acumulados
15 30 kg, son vertidos en 300 l de solvente según ejemplo 1
y tratados según el método del ejemplo 1.

20

25

30

EJEMPLO GRAFICO



1

5

10

15

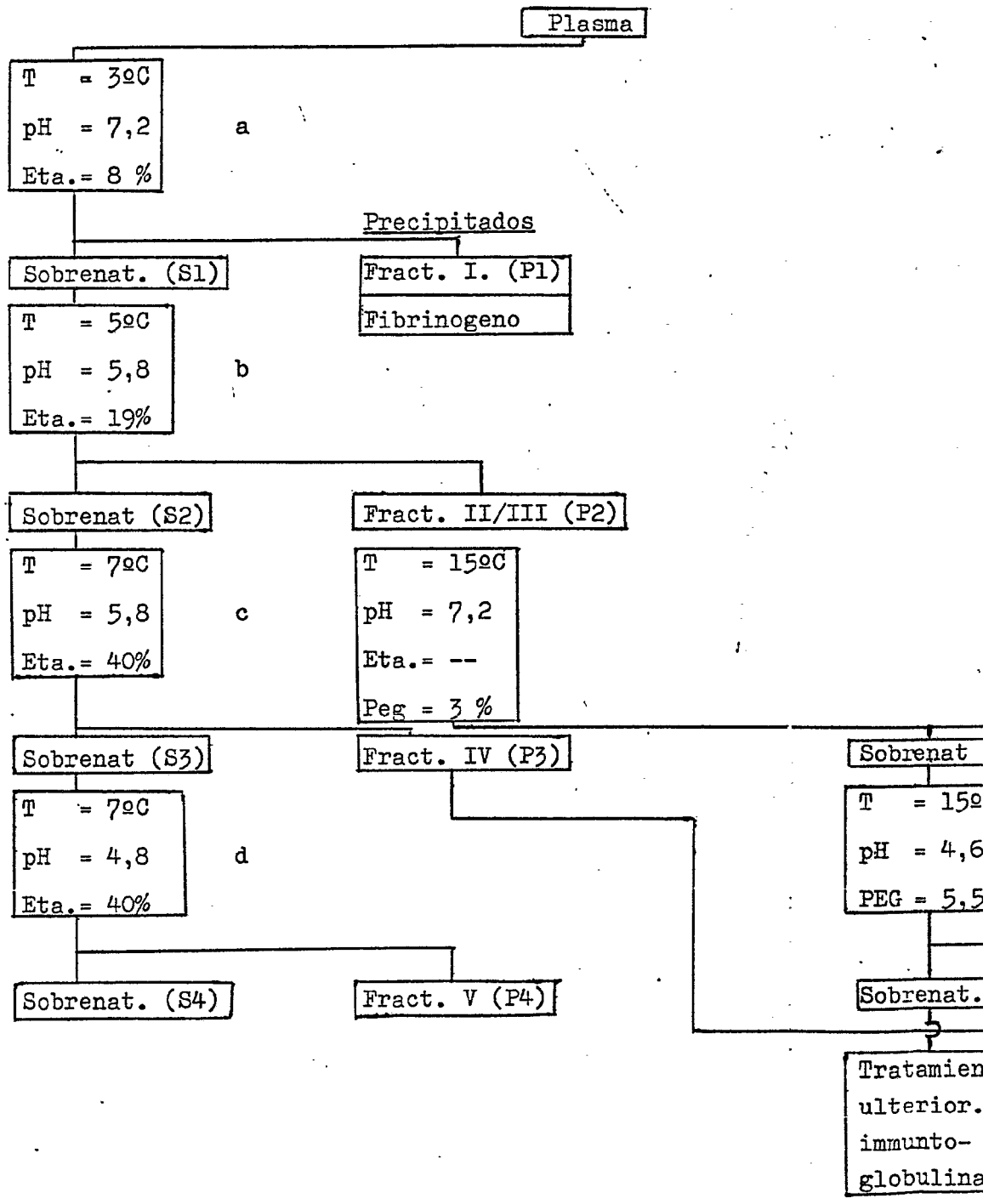
20

25

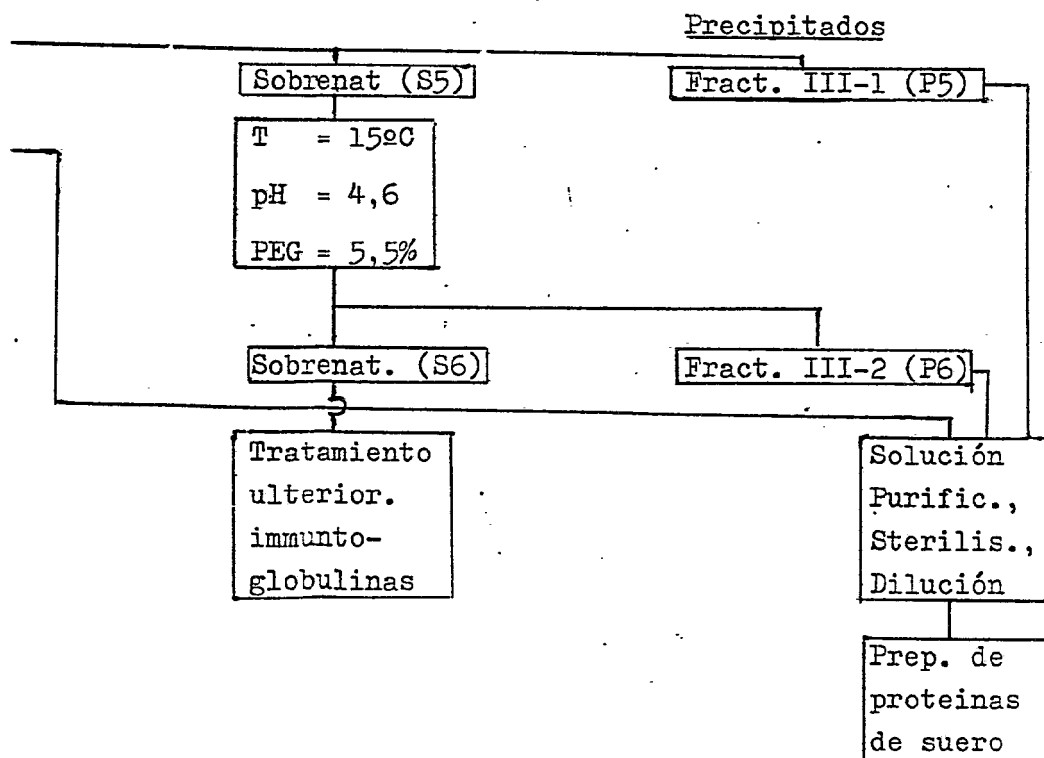
30

EJEMPLO GRAFICO

1
5
10
15
20
25
30



EJEMPLO GRAFICO



1 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

5 1.- Un procedimiento para la obtención de un prepara-
do de seroalbúmina aplicable por vía intravenosa, no piró-
geno y con estabilidad de almacenamiento, en el que, a par-
tir de una solución de albúmina de sangre humana, se obtie-
ne un preparado estabilizado de aplicación universal, que
10 en una solución acuosa isotónica contiene disueltas pro-
teínas, en las que la relación entre globulinas y albúmina
se corresponde sustancialmente con la del suero sanguíneo
nativo, caracterizado por las etapas siguientes:

- 15 a) Fraccionamiento del plasma sanguíneo liberado de los
factores de coagulación conforme a procedimientos en sí
conocidos, obteniéndose precipitados y sobrenadantes de
distintas fases de fraccionamiento;
- 20 b) Mezcla y nueva disolución de los precipitados en que se
encuentran proteínas de la sangre en forma nativa, pro-
cedentes de distintas fases del fraccionamiento, en un
líquido portador apropiado química y fisiológicamente,
que eventualmente contiene también sobrenadantes de las
fases del fraccionamiento;
- 25 c) ajuste de la solución a un contenido, con relación al
contenido total de proteínas, de
- 50 - 70 % de albúmina
30 - 50 % de globulinas
- d) estabilización, purificación y envasado del preparado
de manera apropiada.

30 2.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1,

1 y caracterizado por los siguientes pasos:

a) Suspender las fracciones de COHN (sedimentos) IV, III-1 y III-2 en una solución de sal común o en una solución tampón adecuadas según las siguientes proporciones:

- 5
- fracción IV de 30 a 80 % en peso
 - fracción III-1 de 0 a 70 % en peso
 - fracción III-2 de 0 a 70 % en peso

10 siempre en relación a un contenido total de proteínas de 100 %, regulando una relación en las sustancias sólidas suspendidas de 50 ... 70 % de albúmina y 50 ... 30 % de globulina

b) Eliminación de las componentes de la mezcla que tienden a desnaturalizarse, en especial las lipoproteínas, por absorción en absorbentes con afinidad específica, concluyendo con retiro de los absorbentes enriquecidos,

15 c) concentración y estabilización de la solución ganada.

3.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado por las siguientes proporciones de fracciones de COHN:

- 20
- fracción IV de 40 a 60 % en peso
 - fracción III-1 de 20 a 30 % en peso
 - fracción III-2 de 20 a 30 % en peso

25 4.- Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 2 y 3, caracterizado porque las fracciones son libradas por separado de las componentes que tienden a desnaturalizarse; las sustancias purificadas son después mezcladas, concentradas y estabilizadas.

30 5.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque los productos de fraccionamiento del fraccionamiento con Rivanol son usados como sustancias de

1 partida (fracciones II, III y/o IV según STEINBUCH).

5 6.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque ácidos silícicos coloidales son usados como absorbentes en una concentración de 200 ... 500 mg de ácido silícico por gramo de proteína total y mezclados profundamente a una temperatura de hasta 50°C y después separados.

10 7.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado porque se trabaja a temperaturas entre 20°C y 50°C.

8.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 y 7, caracterizado porque se trabaja en una región de pH de 6,5 a 8.

15 9.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE UN PREPARADO DE SERO-ALBUMINA".

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva, que consta de veinte páginas mecanografiadas.

Madrid, 26 de enero de 1978

BERNARDO UNGRIA

P.P.



25

30