

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

256710
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
A 61 K 37/02

(22) Prihlášené 12 07 85

(21) (PV 5203-85)

(40) Zverejnené 17 09 87

(45) Vydané 15 11 88

[75]

Autor vynálezu

BULÍK JOZEF ing. CSc., PREŠOV

[54] Spôsob získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV

1

2

Riešenie možno využiť v imunologicko-biologickej výrobe pri získavaní albumínu z frakcií plazmy obsahujúcich albumín.

Účelom je zvýšenie výťažnosti albumínu pri frakcionácii ľudskej plazmy využitím Cohnovej frakcie IV. Vynález v praxi napomáha uplatňovať bezodpadovú technológiu. Navrhovaný spôsob oproti doteraz používaným znižuje riziko eventuálnych denaturačných zmien albumínu, skracuje technologický proces a znižuje spotrebu energií.

Zvýšenie účinnosti sa dosahuje tým, že reakčná teplota pri získavaní albumínu sa znižuje o 24 až 29 °C a technologický proces sa skracuje na jeden technologický stupeň. Optimálna koncentrácia stabilizátorov, organického činidla v prostredí vhodnej hodnoty pH pri izolácii plazmatických bielkovín doprevádzajúcich albumín zabraňuje eventúalnym denaturačným zmenám a garantuje nativitu izolovanej bielkoviny.

Vynález sa týka spôsobu získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV, vznikajúcej pri etanolevej frakcionácii ľudskej plazmy, a to tým spôsobom, že plazmatické bielkoviny doprevádzajúce albumín sa oddeľujú pri vhodnom pH, teplote a koncentrácii etanolu vo forme precipitátu a albumín ostáva v roztoku.

Jedna z možností zvýšenia výťažnosti albumínu pri frakcionácii ľudskej plazmy je cesta zavádzania nových progresívnych technologických postupov. V posledných rokoch na dosiahnutie maximálnej výťažnosti albumínu je evidentný trend, zavádzania technologických stupňov a operácií znižuje, čím aj straty na bielkovine albumínu sú nižšie. Medzi takéto frakcionačné postupy možno zaradiť aj tepelno-denaturačné metódy izolácie albumínu (Hoch H., Chanutin A.: Arch. of biochem. and biophysic, 51, 27, 1954; Lundblad J. I.: Vox sang., 5, 122, 1960; Gabr Y., Soliman H. R.: Acta biol. et med. ger., 27, 341, 1971; Schneider W., Lefevre H., Friedler H., Mc Carty L. I.: Blut, 30, 121, rok 1975; Wye E. Y. and Kim M. K.: Vof Sang., 32, 182 — 184, 1977).

Negatívom citovaných technologických postupov je skutočnosť, že tieto pracujú pri vysokých teplotách (+70 °C), pri ktorých napriek stabilizácii môže albumín za určitých podmienok vykazovať nežiadúce inreverzibilné zmeny.

Na základe uvedeného boli vyvíjané snahy čiastočne znížiť denaturačné teploty a tým predchádzať eventuálnej deštrukcii izolovaného albumínu (Libich M.: PV 74-57-79, Foukal Z.: PV 65-36-81, Bulík J.: AO 206 294).

Napriek týmto pozitívam vo väčšine prípadov používané denaturačné teploty sú stále hraničné, pričom technologické postupy sú pomerne členité, pozostávajúce z viacerých technologických stupňov.

Novosť navrhovaného technologického postupu získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV je, že tento vďaka vhodnej koncentrácii stabilizátorov, organického činidla a hodnoty pH dovoľuje podstatne znížiť reakčnú teplotu a skrátiť technologický postup pri garancii nativity izolovanej bielkoviny.

Podstata získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV spočíva v tom, že 2- až 4 %-ný roztok Cohnovej frakcie IV sa stabilizuje

0,03 M Na-kaprylátom a 0,01 M acetyl-DL-tryptofánom a pri pH 5,0 až 5,5, koncentrácii etanolu 5,0 až 9,0 objemových % a teplote +40 až 45 °C po dobu 0,5 až 12 hodín sa vyprecipitujú albumín doprevádzajúce plazmatické bielkoviny a albumín ostáva v roztoku. Koncentrácia a purifikácia roztoku albumínu sa ďalej prevádza známymi technologickými operáciami.

Výhoda popísaného technologického postupu získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV oproti doteraz používanému spočíva v tom, že technologický proces sa skraca na jeden technologický stupeň. Uvedeným izolačným postupom je garantovaná aj kvalita, najmä však nativita získaného albumínu s evidentnou úsporou energií.

Príklad 1

7 300 g Cohnovej frakcie IV sa suspenduje v 35 000 ml apyrogénnej vody. K takto pripravenému roztoku sa pridá 154 g Na-kaprylátu a 86,1 g acetyl-DL-tryptofánu. Hodnota pH sa upraví na 5,1, koncentrácia etanolu na 7 objemových % a teplota na +40 stupňov Celzia. Precipitácia plazmatických bielkovín doprevádzajúcich albumín prebieha po dobu 10 hodín. Vyprecipitované plazmatické bielkoviny sa separujú centrifugáciou a supernatant obsahujúci albumín sa ďalej purifikuje a koncentruje lyofilizáciou. Hmotnosť lyofilizovaného produktu je 1 120 gramu elektroforetická čistota 96,1 %.

Príklad 2

3 650 g Cohnovej frakcie IV sa suspenduje v 17 500 ml apyrogénnej vody. K takto pripravenému roztoku sa potom pridá 77,0 g Na-kaprylátu a 43,0 g acetyl-DL-tryptofánu. Hodnota pH sa upraví na 5,2, koncentrácia etanolu 9 objemových % a teplota na +45 stupňov Celzia. Precipitácia plazmatických bielkovín doprevádzajúcich albumín prebieha po dobu 12 hodín. Vyprecipitované plazmatické bielkoviny sa separujú centrifugáciou a supernatant obsahujúci albumín sa ďalej purifikuje a koncentruje lyofilizáciou. Hmotnosť lyofilizovaného produktu je 490 g, elektroforetická čistota 96,2 %.

Hodnotenie kvality prípravku

Požadované skúšky	Kritéria PNY 31-07-79	Výsledky kontroly prípravku
elektroforetická čistota	96,0	96,1
aktuálna acidita	6,2 — 7,4	6,70
tepelná stabilita	max. 80 n. j.	17,5 n. j.
obsah bielkovín	18,0 — 22,0 %	20,06 %
obsah sodíka	max. 348 mmol/l	141,4 mmol/l
prítomnosť liehu	neg.	neg.
obsah hemoglobínu	max. 0,25	0,060
obsah citrátových iónov	max. 0,35	0,05
skúška na pyrogénne látky	apyr.	apyr.
neškodnosť	vyhovuje	vyhovuje
sterilita	sterilné	sterilné

Dosahovaná výťažnosť albumínu sa pohybuje podľa jeho obsahu v Cohnovej frakcii

IV v rozmedzí 100 až 160 g lyofilizovaného produktu na 1 000 g frakcie IV.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob získavania albumínu z Cohnovej frakcie IV vyznačujúci sa tým, že k 1 000 ml roztoku Cohnovej frakcie IV o koncentrácii 2 až 4 hmot. % bielkovín sa pridáva 4,30 až 4,40 g Na-kaprylánu a 2,40 až 2,50 g acetyl-DL-tryptofánu, pri pH 5,0 až 5,5, koncen-

trácii etanolu 5,0 až 9,0 objemových % a teplote +40 až +45 °C sa plazmatické bielkoviny doprevádzajúce albumín precipitujú po dobu 0,5 až 12 hodín, potom separujú a albumín ostáva v roztoku.