

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

248086
(11) (B1)



ÚRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Prihlásené 23 10 84
(21) [PV 8052-84]

(40) Zverejnené 12 06 86

(45) Vydané 15 03 88

(51) Int. Cl.⁴
C 07 K 3/24

(75)

Autor vynálezu

MIKULA IVAN doc. MVDr. CSc., PREŠOV, ROŠOCHA JÁN prof. MVDr. CSc.,
KOŠICE, BULÍK JOZEF ing. CSc., PREŠOV

(54) **Spôsob apyrogénnej úpravy zvieracieho albumínu pre veterinárne
intravenózne použitie**

1

2

Riešenie možno použiť v imunologicko-biologickej výrobe veterinárnych liečebných prípravkov.

Účelom nového riešenie je podstatné zvýšenie kvalitatívnych parametrov doteraz vyrábaného zvieracieho albumínu, zvýšenie jeho liečebného efektu a rozšírenie indikácie.

Zvýšenie účinku sa dosahuje tým, že komerčne vyrábaný zvierací albumín, ktorý vykazuje pomerne vysoké pyretické reakcie sa rozpustí v apyrogennej vode na roztok obsahujúci 2 až 2,5 hmotnostných percent bielkovín, pH roztoku sa upraví na hodnotu 5,6 až 5,9 a za stáleho miešania pridáva sa v malých dávkach chloroform v pomere 5 až 35 ml na 100 ml roztoku albumínu. Vyprecipitované bielkoviny hlavne lipoidného charakteru sa odseparujú a supernatant predstavujúci albumín sa filtruje cez azbestocelulózové filtre a zohrieva 10 až 48 hodín pri teplote 60 °C.

Vynález sa týka spôsobu prípravy apyrogeného albumínu pre veterinárne intravenózne použitie.

V súčasnom období u nás zvierací albumín pripravovaný v priemyselnom merítku spravidla obsahuje pyrogenné látky, často hraničiace s toxicitou. To sú zrejme dôvody, že použitie takéhoto prípravku k intravenózne aplikácii je vylúčené. Príkladom je aj Biovetou n. p. — Nitra pripravovaný 5 % zvierací albumín pod fy označením „PLAZBION — B“, ktorý sa doporučuje aplikovať iba podkožne, vnútro svalovo alebo intraperitoneálne.

Príčinou tohto stavu je kontaminovanie východzieho materiálu a následné pomnoženie mikroflóry v priebehu používaných technologických postupov (odber krvi, transport, uskladnenie a technologické spracovanie).

Medzi doteraz najznámejšie depyrogenizačné postupy plazmatických bielkovín možno zaradiť adsorbciu na aktívne uhlie (Howard F., Spooner E. C. R.: *Chemistry and Industry* 196/1946); Al_2O_3 (Szeghi G., Toma E., Stanica E., Stoian C., Gartner M. *Arch. Roum. de Pathol. Exper.* 21/163/1962); Budilina J. A., Filimonova A. A., Ciumanov: *ŽMEI* 30, 89/1959), azbestové filtre (Co Tui F. W., Wright A. M.: *Ann. Surgey* 116, 412/1942, Zittle C. A., Devlin H. B., Rodney G., Welch M.: *J. Lab. Clin. Med.* 40, 75/1945), poprípade zahrievanie pri teplote 37 °C (Sgouris J. T., Storey R. W., Mc Call K. B., Anderson H. D.: *Vox Sang.* 7, 739/1962).

Nevýhoda citovaných depyrogenizačných spôsobov je nedokonalý depyrogenizačný efekt, nereprodukovanosť a v niektorých prípadoch dlhý technologický postup.

Vyššie uvedené nevýhody odstraňuje riešenie, ktorého podstata spočíva v tom, že komerčne pripravený zvierací albumín sa rozpustí v apyrogennej vode na 2 až 2,5 hmotnostných % bielkovín a za stálého miešania sa upraví jeho pH 1 M kys. octovou na hodnotu 5,6 až 5,9 a za stálého miešania sa pridáva chloroform v pomere 5 až 35 mililitrov na 100 ml roztoku. Vzniklá zrazenina predstavujúca balastné bielkoviny hlavne lipoidného charakteru, predstavuje odpad, ktorý sa centrifugáciou odstráni v podobe sedimentu. Získaný supernatant je roztok albumínu, ktorý sa filtruje cez azbestocelulózové filtre a zahrieva pri teplote 60 °C po dobu 10 až 48 hodín. Keďže ide o určitý purifikačný postup strata na albumíne

Tabuľka 1

Výrobok	Vzostup teplôt na troch králikoch °C	Ø hodnota v °C	Ø hodnota poklesu v °C
Komerčne pripravený albumín	1,2; 2,1; 1,4	1,56	
Depyrogenizovaný hovädzí albumín			1,33
upravený podľa príkladu 2	0,3; 0,4; 0,0	0,23	

je minimálna, nakoľko pokles % bielkovín predstavujú balastné bielkoviny.

Výhoda navrhovaného postupu je technologická nenáročnosť, dostupnosť použitých surovín a materiálov a najmä vysoký jednoznačný depyrogenizačný efekt (viď tabuľka č. 1).

Doterajšia aplikácia pyrogenného zvieracieho albumínu je málo účinná, lebo sa tento môže podávať zvieratám iba intramuskulárne. Pritom chorobné stavy zvierat najmä mláďat pri metabolických poruchách zapríčinených výživou ako aj patogenným agens si vyžadujú doplnenie, resp. stabilizáciu koloidno-osmotického tlaku krvného riečišťa.

Príklad 1

100 g lyofilizovaného albumínu sa rozpustí v 3 500 ml apyrogennej vode, hodnota pH roztoku sa upraví na 5,6 pridaním 1 M kys. octovej a za stálého miešania k roztoku albumínu po kvapkách sa pridáva 575 ml chloroformu. Po dvojhodinovom miešení a 12 hodinovej precipitácii pri teplote + 10 °C vzniklý precipitát sa oddelí centrifugáciou. Supernatant sa filtruje cez čeriacie a následne sterilizačné azbestocelulózové vložky. Filtrát sa namrazuje, lyofilizuje, potom rozpúšťa v roztoku stabilizátorov, sterilne filtruje a zahrieva pri 60 °C po dobu 10 hodín.

Príklad 2

100 g lyofilizovaného albumínu sa rozpustí v 3 500 ml apyrogennej vode, hodnota pH roztoku sa upraví na 5,9 pridaním 1 M kys. octovej a za stálého miešania k roztoku albumínu po kvapkách sa pridáva 450 ml chloroformu. Po dvojhodinovom miešení a 12 hodinovej precipitácii pri teplote + 10 °C vzniklý precipitát sa oddelí centrifugáciou. Supernatant sa filtruje cez čeriacie a následne sterilizačné azbestocelulózové vložky. Filtrát sa namrazuje, lyofilizuje, potom rozpúšťa v roztoku stabilizátorov, sterilne filtruje a zahrieva pri 60 °C po dobu 48 hodín.

Hodnotenie stupňa depyrogenizácie:

V tabuľke č. 1 sú uvedené hodnoty vzostupu teplôt na troch králikoch a priemer týchto hodnôt v °C u východzieho hovädzieho albumínu a hovädzieho albumínu po depyrogenizácii.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob apyrogennej úpravy zvieracieho albumínu pre veterinárne intravenózne použitie, vyznačený tým, že sa komerčne pripravený pyrogenný zvierací albumín rozpustí v apyrogennej vode na roztok obsahujúci 2 až 2,5 hmotnostných % bielkovín, upraví sa jeho pH na hodnotu 5,6 až 5,9 a

za stáleho miešania sa pridáva chloroform v pomere 5 až 35 ml na 100 ml roztoku albumínu, vzniklá zrazenina sa odstredí a supernatant, predstavujúci roztok albumínu, sa filtruje azbestocelulózovým filtrom a zohrieva pri teplote 60 °C po dobu 10 až 48 hodín.