

AÑO 1958

Expediente núm.



243326

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INTRODUCCION

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una PATENTE DE INTRODUCCION por 10 años, en España

a favor de

D. Michel ROBILLIART, de nacionalidad

FRANCESA domiciliado en PARIS (Francia)

calle de Rue Pergolése, núm. 64

por:

« Procedimiento para obtener un producto de reacción estable de la co-enzima A ».

Nº 7598

Agente Sr. BOLIBAR,

17 JUN 1964 3326



PATENTE DE INTRODUCCIÓN

a favor de

D. Michel ROBILLIART - de nacionalidad francesa - domiciliado en PARIS (Francia) 64, Rue Pergolèse,

por:

"Procedimiento para obtener un producto de reacción estable de la co-enzima A"

====:oOo:=====

M e m o r i a d e s c r i p t i v a

La presente patente tiene por objeto un procedimiento que permite conservar la co-enzima A en condiciones de utilización para diversos usos, mediante la obtención de un producto de reacción estable de la misma.

La co-enzima A, cuya composición será dada más tarde



243326

es inestable cuando absorbe mucha humedad o cuando se encuentra sometida a temperaturas superiores a 4°C, o bien, necesariamente, cuando se reúnan esas dos condiciones. Por liofilización, se puede evitar la absorción de un exceso de humedad por la co-enzima A, pero es necesario, hasta el presente, conservar este producto a una temperatura inferior a 4°C, para impedir que se descomponga. Esta condición hace que no se pueda utilizar en todas las aplicaciones deseables.

Se considera generalmente que la co-enzima A es un dinucleoide estiptico, en el cual, uno de los mononucleoides puede ser reemplazado por la fosfopantoteina, en la cual el ácido pantoténico está combinado con una molécula de etanotiolamina por una unión peptídica. La fórmula de estructura de la co-enzima A se admite que es la representada en la hoja de fórmulas anexa a esta memoria (Govier et Gibbons, Arc. Biochem. 1951, 32, 347. - King & Strong, J. Biol. Chem. 1951, 189, 325).

El análisis cualitativo de la co-enzima A muestra que su composición es la siguiente:

	<u>% en peso</u>
Carbono	32'8
Hidrógeno	4,7
Oxígeno	33,3
Nitrógeno	12'7
Fósforo	12'12
Azúfre	4'18

Otros análisis de co-enzima A han dado los resultados siguientes:

	<u>% en peso</u>
Acido pantoténico	25,6
Acido adenílico	17,6
Ribosa	19,5

Se ha establecido que el peso molecular de la co-enzima



243328

A es igual a 767.

Se sabe que la inestabilidad de la co-enzima A es debida a la gran actividad del grupo SH de su molécula. De todas maneras, el solicitante ha comprobado que, si se suprime, de una manera que será descrita después, la reactividad del grupo SH en la molécula de co-enzima, el complejo de co-enzima A obtenido es estable a la temperatura ambiente, después de liofilización, y en un medio exento de humedad. Resulta de ello, que se puede conservar el complejo de co-enzima A bajo forma estable durante un tiempo relativamente largo.

El solicitante ha comprobado que, haciendo reaccionar la co-enzima A con una sal metálica soluble en agua, en particular con las sales metálicas de ciertos ácidos orgánicos y minerales ennumerados después, la reactividad del grupo SH en la co-enzima A se encuentra bloqueada. Se obtiene así un producto que es estable en cuanto a sus propiedades enzimáticas. Se ha comprobado también que se pueden utilizar con este fin todas las sales metálicas solubles en agua y no delicuescentes, pero que es preferible utilizar sales metálicas de ácidos orgánicos bivalentes.

Se dan a continuación tres ejemplos de ejecución del procedimiento, en los cuales las partes se indican en peso.

EJEMPLO 1.

	<u>Gramos</u>
Co-enzima A	1534
Gluconato de calcio	448.3

EJEMPLO 2.

Co-enzima A	1534
Benzoato de calcio	336.3

EJEMPLO 3.

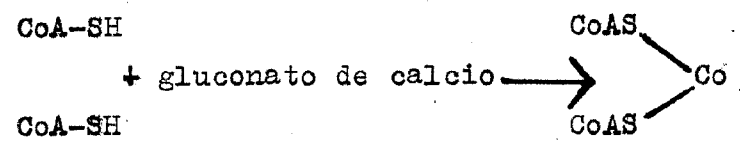
Co-enzima A	1534
Citrato de calcio	570.5



243326

Se ve en el ejemplo 1 que el gluconato de calcio reacciona con la co-enzima A, tomando el lugar del hidrógeno del grupo SH de la molécula de la co-enzima A, conformemente a la reacción general siguiente, en la cual la expresión CoA-SH representa la molécula de co-enzima A.

5



El producto de reacción de la co-enzima A se presenta bajo la forma de una sal metálica estabilizada y enzimáticamente estable después de liofilización. Pero si se pone de nuevo en solución acuosa, se descompone por hidrólisis y vuelve a dar la co-enzima A.

10

La reacción entre la co-enzima A y la sal soluble en el agua tal como el gluconato de calcio, se hace en proporciones estequiométricas, y cuando se utiliza una sal soluble en agua de un metal monovalente, solo una moleculograma de la co-enzima A reacciona con ella, en lugar de dos moleculogramas como en el caso de los ejemplos 1, 2 y 3 precitados.

15

Sin embargo, es preferible utilizar con la co-enzima A un exceso de sal soluble en agua, porque este exceso de sal no influye sobre la estabilidad del producto obtenido, y da, después de liofilización, un producto de reacción que se presenta bajo la forma de una galleta de mejor aspecto y de mejor conservación.

20

Se dan a continuación tres ejemplos en los cuales la sal está en exceso en relación a la composición estequiométrica.

EJEMPLO 4.

Partes en peso

30

Co-enzima A	0,300 mg (miligramos)
Gluconato de calcio	5 mg (miligramos)



243326

EJEMPLO 5.

	<u>Partes en peso</u>
Co-enzima A	0,300 mg (miligramos)
Benzoato de calcio	5 mg (miligramos)

5

EJEMPLO 6.

Co-enzima A	0.300 mg (miligramos)
Citrato de calcio	5 mg (miligramos)

En estos ejemplos, el producto de la reacción se presenta bajo la forma de una masa sólida fácilmente utilizable.

10

En defecto de las sales citadas, se puede utilizar para estabilizar la co-enzima A, cualquiera sal metálica no delicuescente, y soluble en agua, de ciertos ácidos orgánicos y minerales, tal como ácido clorhídrico. Se pueden dar como ejemplos de sales no delicuescentes y solubles en agua, las de metales bivalentes tales como magnesio, cadmio, níquel, cobalto, hierro y manganeso, si bien se da la preferencia a las sales de calcio solubles de los ácidos orgánicos, por la razón de que son fácilmente solubles en agua y que no son delicuescentes.

15

A falta de las sales de los ácidos a los que se ha hecho alusión arriba, se pueden utilizar en cantidades equivalentes las sales metálicas solubles en agua de los ácidos acético, fórmico, lético, succínico, tártrico, y otros ácidos orgánicos y minerales, y en particular las sales no delicuescentes y solubles en agua de los ácidos clorhídrico, sulfúrico y nítrico.

20

25

Se demuestra la estabilidad del producto de la reacción de la co-enzima A y de la sal metálica por el hecho de que este producto posee las mismas características espectrofotométricas y cromatográficas que la co-enzima A pura y estabilizada por el frío.

30

El modo de realización descrito, no presenta ningún carácter limitativo y puede recibir todas las modificaciones deseables comprendidas dentro del alcance de la patente.

17 JU



243326

-----: N O T A :-----

Se reivindica como objeto de esta patente:

1.-Procedimiento para obtener un producto de reacción estable de la co-enzima A, caracterizado por hacer reaccionar la co-enzima A con una sal metálica soluble en el agua y no delicuescente.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal metálica soluble en el agua y no delicuescente es una sal de un metal bivalente.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal metálica soluble en el agua y no delicuescente es el gluconato de calcio.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal metálica soluble en el agua y no delicuescente es una sal de calcio de un ácido escogido en el grupo que comprende los ácidos: glucónico, benzoico, cítrico, acético, fórmico, láctico, succínico, tártrico, clorhídrico, nítrico y sulfúrico.

5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal metálica soluble en el agua y no delicuescente es una sal escogida entre el grupo de sales de calcio, de cobre, de magnesio, de cadmio, de níquel, de cobalto, de hierro, o de manganeso, de los ácidos glucónico, benzoico, cítrico, acético, fórmico, láctico, succínico, tártrico, clorhídrico, sulfúrico y nítrico.

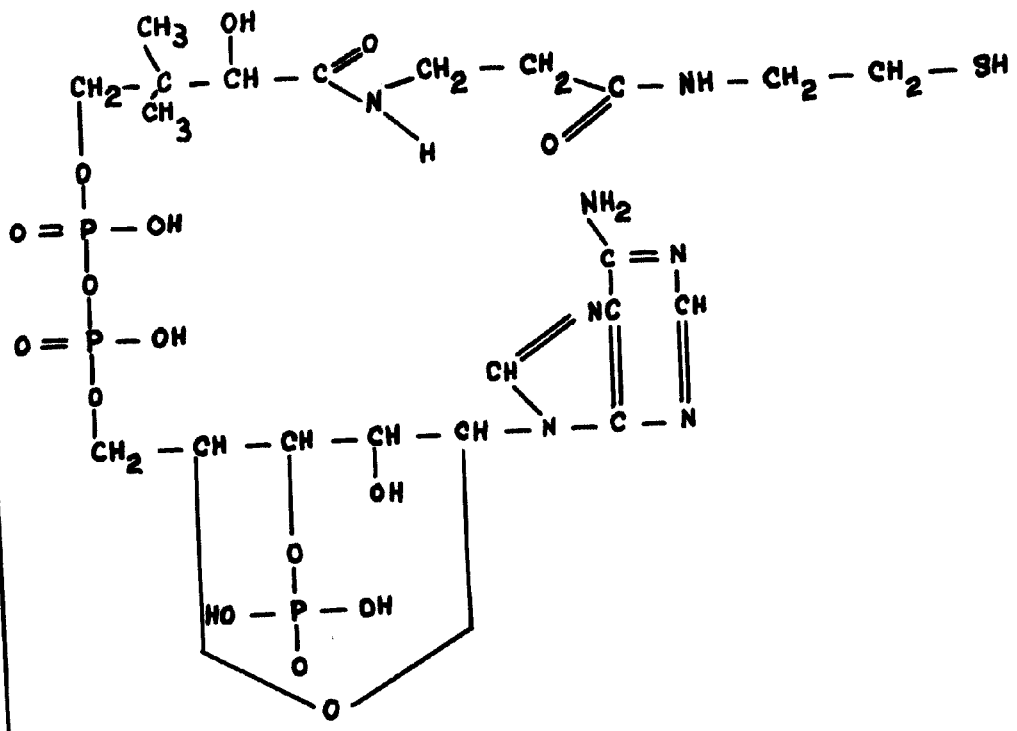
6.- Procedimiento para obtener un producto de reacción estable de la co-enzima A.

Esta memoria consta de seis páginas, escritas por una sola cara.

BARCELONA
E. A.
JULI 1958
JOSE M. DOMESTICUS
P. E.



243326



P.H.

JOSE M. ROBILIART
C. P.