



277859

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO DE CONSERVACION Y DESINFECCION", a favor de la firma F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. A.G., domiciliada en BASILEA (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a agentes conservadores y desinfectantes y a un método para conservar y/o desinfectar.

En la industria de conservas alimenticias

5. se usan ampliamente diversas materias químicas con acción destructora de los microorganismos. Ejemplos de materias de esta índole son el ácido benzóico y sus sales, el ácido sórbico y sus sales y la hexametilentetramina. Como estas materias pueden ser asimiladas por el organismo y
10. concentrarse en él sin que existe suficiente conocimiento

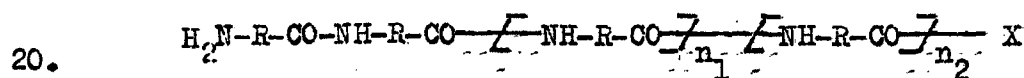


277859

respecto a su posible actividad tóxica, su uso como agentes conservadores da lugar a preocupación.

- Se ha dado a conocer también en la industria de conservas alimenticias materias conservadoras de peso molecular elevado que son prácticamente atóxicas. Sin embargo, esas materias tienen la desventaja de que carecen de suficiente amplitud de actividad; es decir, no inhiben el desarrollo de una variedad suficientemente amplia de microorganismos. Además, las materias de peso molecular elevado son por lo general de uso desventajoso porque resultan escasamente solubles y son difíciles de purificar.

- Las desventajas asociadas con las materias conservadoras de peso molecular elevado antes mencionadas, quedan obviadas por los agentes conservadores y desinfectantes que proporciona este invento. Estos agentes contienen un compuesto péptido de la fórmula general



- en la que n^1 y n^2 representan cada uno cero o la unidad, X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, alquil-amino, dialquil-amino o hidrazino, y cada R representa el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico exento de sus grupos alfa-amino y carboxilo; uno por lo menos de estos radicales lleva un grupo amino, y la molécula contiene por lo menos un grupo alifático de cadena larga, elegido en el grupo



277859

5. constituido por el substituyente acilo alifático de cadena larga en un grupo amino de componente aminoácido, no participante en un enlace péptido, y por un substituyente alifático de cadena larga comprendido por X cuando X representa un grupo alquil-amino o dialquil-amino, o una sal de adición de ácido del mismo.

10. Es evidente que la fórmula mencionada abarca los compuestos dipéptidos, tripéptidos y tetrapéptidos que se derivan de ácidos alfa-aminocarboxílicos tales como la serina, la fenil-alanina, la tirosina, la leucina, etc., pero uno por lo menos de los aminoácidos presentes debe

15. ser básico (por ejemplo, lisina, arginina, ornitina, ácido alfa,gamma-diamino-butírico o ácido alfa,beta-diamino-propiónico). Se observará que los símbolos R consecutivos de dicha fórmula pueden derivarse de ácidos alfa-aminocarboxílicos idénticos o diferentes, de preferencia de aminoácidos ópticamente activos.

20. La molécula del compuesto péptido utilizado en el invento puede contener por lo menos un radical de cadena larga. Por motivos de economía, es conveniente tener presente solo uno de esos radicales N-acilo o

25. N-alquilo de cadena larga. Por los mismos motivos, es ventajoso utilizar un dipéptido derivado de la lisina. El radical acilo o alquilo de cadena larga debe contener de preferencia por lo menos 10 (en particular de 10 a 20) átomos de carbono. Grupos alifáticos de cadena larga

30. particularmente preferidos son los que tienen de 14 a 18



277859

átomos de carbono, por ejemplo los radicales palmitoilo o estearilo.

La expresión "alifático" tal como aquí se usa, incluye tanto porciones alquílicas de cadena recta

- 5. (por ejemplo, palmitoilo) como de cadena ramificada (por ejemplo, fitanoilo), así como grupos alquilo saturados (por ejemplo, pentadecanoilo) e insaturados (por ejemplo, undecenoilo).

- 10. Los compuestos de dicha fórmula forman sales de adición de ácido tanto con los ácidos inorgánicos como con los ácidos orgánicos, tales como los ácidos halohídricos, el ácido fosfórico, el ácido nítrico, el ácido acético, el ácido fórmico y analogos.

- 15. Compuestos particularmente preferidos son:

- la (N^α-palmitoil-L-lisil)-L-lisina,
- la L-lisil-N^ε-palmitoil-L-lisina),
- el ácido $\left[\text{N}^{\alpha}\text{-palmitoil-L-(alfa,gamma-diamino-butiril)} \right]$ -L-(alfa,gamma-diamino-butírico),
- el ácido L-(alfa,gamma-diamino-butiril)-L- $\left[\text{N}^{\epsilon}\text{-pamitoil-L-(alfa,gamma-diamino-butírico)} \right]$,
- la (N^α-palmitoil-L-ornitil)-L-arginina,
- la (N^ε-palmitoil-L-ornitil)-L-ornitina,
- 25. - la (N^α-pamitoil-L-arginil)-L-arginina

y sus ésteres, amidas e hidrazidas. Se prefieren los ésteres metílico y etílico.

- 30. Los péptidos empleados en este invento se caracterizan por su extraordinaria amplitud de acción contra las bacterias y los hongos patógenos y apatógenos, tanto



277859

- gram-positivos como gram-negativos, algas y fermentos. Son solo muy ligeramente tóxicos y se descomponen por influencia de las enzimas proteolíticas para dar aminoácidos esenciales o compuestos muy estrechamente relacionados, que carecen ya de cualquier actividad antibacteriana. Por consiguiente, no originan problemas derivados de los residuos. Son relativamente de "peso molecular bajo", resultan solubles en agua y pueden obtenerse en forma químicamente uniforme y bien definida. Como la descomposición de los compuestos peptídicos conduce a productos esenciales, es importante que el compuesto utilizado se derive del ácido amino levógiro.
- 5.
- 10.

- Los modos como pueden usarse los agentes conservadores de este invento son prácticamente ilimitados. Se los puede usar, por ejemplo, para conservar la carne, los productos cárnicos, el pescado, las pastas de pescado, las conservas de pescado (incluso con valores de pH bajos), alimentos marinos (camarones, etc.), volatería, verduras frescas, fruta fresca (por ejemplo, resistente a la infección de los frutos cítricos por los mohos penicilínicos), zumos de fruta, productos de panadería y pastelería, queso alimentos animales de diversos tipos. A parte de los manjares y las sustancias alimenticias, pueden protegerse también otros materiales vulnerables (tales como los géneros textiles y el cuero).
- 15.
- 20.
- 25.

- El uso de los compuestos péptidos formulados y sus sales de adición de ácido como agentes conservadores se realiza de manera ya de si conocida. Se añaden su forma natural (por ejemplo, en forma de polvo) o en forma de una solución acuosa, una emulsión o una dispersión,
- 30.



277859

- o en forma de una pasta o gel, a los materiales que han de conservarse, se mezclan íntimamente con ellos y se cierran o envasan apropiadamente los artículos que han de conservarse. En casos especiales se los puede añadir al agua
5. de lavado (por ejemplo en el caso de las patatas, las cebollas, los bulbos y las fresas) o al papel de envolver. También se pueden introducir en el hielo que se destina a mantener frío el pescado y otros alimentos marinos durante el almacenamiento.
10. Es posible combinar los agentes conservadores de este invento con otras medidas de conservación. Así, mediante el uso de los nuevos agentes en asociación con un procedimiento de esterilización por calor, se disminuye la duración del calentamiento. También se recomienda el
15. uso de los agentes den asociación con el almacenamiento a temperatura baja, por ejemplo para el transporte de frutos cítricos y para el transporte refrigerado en general. Asimismo, en combinación con la formación de quelatos, se los puede emplear ventajosamente para fines especiales.
20. Estos compuestos y sales péptidos, que son sustancias nuevas, pueden emplearse también, de modo muy general, como agentes desinfectantes (es decir, antisépticos); por ejemplo, en la industria de la alimentación
25. o de las sustancias alimenticias para fines de higiene general y siempre que sea importante un recuento bacteriano bajo en las instalaciones o las salas, etc., así como siempre que deban tomarse medidas profilácticas para evitar la contaminación con bacterias, mohos, fermentos y
- 30.



277859

- otros microorganismos. A título meramente de ejemplo, cabe mencionar las siguientes aplicaciones posibles: recipientes e instalaciones de trabajo y de almacenamiento en las granjas lecheras, fábricas de cerveza, almacenes de frutas, depósitos de patatas, depósitos refrigerados, botegas o cavas, factorías de conservas, máquinas ordeñadoras, prevención de las algas en los depósitos de agua y las piscinas, desinfección de las manos, prevención de la formación de mildew en el tabaco, profilaxis de la caries por evitación o postposición de la formación de ácido en la boca a partir de los productos amiláceos y sacarinos mediante la inhibición de los bacilos lácticos.

- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- Se ha demostrado que los compuestos péptidos y las sales de este invento manifiestan una prolongada acción desinfectante oral, debida probablemente a la adsorción sobre las membranas mucosas. Otra posible aplicación es la incorporación a los cosméticos, como antiséptico (por ejemplo, al agua para el afeitado), o como aditivo a los desodorantes.

- 25.
- 30.
- Los compuestos péptidos y las sales de este invento pueden prepararse por métodos que son ya de si conocidos en la química de los péptidos. Pueden sintetizarse a partir de los ácidos alfa-aminocarboxílicos protegidos apropiados o a partir de los péptidos protegidos apropiados con el uso de agentes condensantes o por medio de anhídridos mixtos, azidas, ésteres activados o cloruros de ácido, hidrolizando la función carboxilo terminal para convertirla en el grupo carboxilo libre, si es necesario, o convirtiéndola en un grupo amido, N-alquil-



277853

-amido, N,N-dialquil-amido o hidrazida, introduciendo luego el radical acilo de cadena larga por intercambio con un grupo protector eliminable selectivamente y convirtiendo el compuesto péptido resultante en una sal, si se desea.

5.

Los ejemplos que siguen ilustran la eficacia de estos compuestos péptidos y sus sales.

EJEMPLO 1.

10. Tres matraces de Erlenmeyer se cargaron con 100 cc de mosto recién colado, cada uno. Uno de los matraces se conservó como testigo; al segundo matraz se introdujo una adición de clorhidrato del éster etílico de N^o-palmitoil-L-lisil-L-lisina a una concentración final de 0,001%, y la substancia se añadió al tercer matraz a una concentración final de 0,01%. El sabor y el olor no variaron con estas adiciones. Se cerraron los matraces con un tapón de algodón en rama y se los dejó reposar a temperatura ambiente. Mientras el contenido del tercer matraz se volvió intensamente fermentado al cabo de 4 días, la fermentación del mosto con adición de 0,001% apareció por primera vez al cabo de unos 6 días, y el contenido del matraz con la adición de 0,01% no manifestó señales de fermentación de ninguna clase después de 14 días y no tenía diferencia de olor ni sabor comparado con el mosto fresco.

25.

Resultados análogos se obtuvieron con zumo de manzana y zumo de zanahoria.

30.



E J E M P L O 2.

- Tres porciones de carne picada (de 80 g cada una) se envolvieron en gasa estéril. En el caso de la primera porción, la gasa se humedeció con agua estéril;
5. en el caso de la segunda porción, la gasa se humedeció con una solución al 0,1% de diclorhidrato del éster etílico de N^o-palmitoil-L-lisil-L-lisina, y en el caso de la tercera porción, la gasa se humedeció con una solución al 1% de la sustancia antes mencionada (cada
10. una de las soluciones se compuso con agua destilada estéril). Mientras la porción testigo estaba ya disforme al cabo de 2 días y el olor de la carne corrompida era manifiesto, las otras dos porciones restantes conservaron su color original durante unos 2 días más y el olor de
15. carne corrompida estaba prácticamente ausente.

- De manera análoga se ensayaron tajadas de carne de cerdo y pernil en lonchas, pero estos productos se envolvieron además en lámina de plástico, para evitar el desecamiento. En estos productos específicos puede
20. establecerse también un efecto favorable del agente conservador.

E J E M P L O 3.

- Seis rebanadas de pan moreno (pan de centeno de Westfalia o pan de harina integral del Rhin, o similar) se depositan en cubetas de vidrio. Dos rebanadas se pulverizan con 1 g de agua del grifo, dos rebanadas con agua del grifo que contiene una adición de 0,1% de diclorhidrato del éster etílico de N^o-palmitoil-L-lisil-
- 25.
- 30.



277859

- L-lisina y las dos rebanadas restantes con agua del grifo que contiene una adición de 1% de diclorhidrato del éster etílico de N^α-pamitoil-L-lisil-L-lisina. Las rebanadas se encierran, junto con las cubetas de vidrio,
5. en bolsas de polietileno (para evitar la desecación) y se mantienen a temperatura ambiente. Al cabo de 10 días, la muestra que se había rociado con el agua del grifo estaba completamente deteriorada, mientras que las rebanadas de pan que habían sido tratadas con la solución al
10. 0,1% mostraban solo ligeros cultivos locales de moho y las rebanadas de pan que habían sido tratadas con la solución al 1% no manifestaban ningún cambio perceptible.
15. EJEMPLO 4.
- En cada una de 28 naranjas se practicaron 10 pinchazos con una aguja para facilitar la penetración de los microorganismos. A continuación, se inmergieron 7 naranjas, durante 1 minuto, en una de las tres soluciones siguientes:
- 20.
- 1) Agua + 1% de monooleato de polioxietilensorbitol
 - 2) Agua + 1% de monooleato de polioxietilensorbitol + 0,1% de diclorhidrato del éster etílico de N^α-palmitoil-L-lisil-L-lisina
 25. 3) Agua + 1% de monooleato de polioxietilensorbitol + 1% de diclorhidrato del éster etílico de N^α-palmitoil-L-lisil-L-lisina.

30.



277859

- Después de escurridas, las 21 naranjas se rociaron uniformemente con una suspensión de esporos que se había originado de una naranja que se había vuelto mohosa. Luego se envolvieron las naranjas, por grupos,
5. en papel humedecido con agua. Las 7 naranjas restantes se trataron con la solución 1 anterior, se rociaron y se envolvieron en papel que estaba humedecido con la solución 3 anterior, en lugar de agua. Se depositaron las frutas a temperatura ambiente y se impidió la
 10. desecación cubriéndolas con láminas de plástico. Los resultados figuran en la tabla que sigue:



277859

Dias transcurridos desde el principio del experimento	<u>GRUPO I</u> Fruta tratada con la solución I; papel tratado con agua	<u>GRUPO II</u> Fruta tratada con la solución II; papel tratado con agua	<u>GRUPO III</u> Fruta tratada con la solución III; papel tratado con agua	<u>GRUPO IV</u> fruta tratada con la solución I; papel tratado con la solución III.
0	--	---	--	--
3	4+	1+	2++	--
4	4+++; 2+	2+++; 2+	3+++; 2+	1+
5	6+++; 1+	3+++; 2+	3+++; 2+	2+
6	7++	4+++; 3+	5+++; 2+	1+++; 1+
10	7++	7++	7++	3+++; 1+

Las cifras expresan el número de naranjas que resultaron atacadas:

+ = mohosidad ligera

++ = gran cantidad de mohosidad.



277859

EJEMPLO 5.

- 100 g de alcohol etílico al 50% se trataron con 1 g de pantenol y 0,001 g de diclorhidrato del éster etílico de N^α-palmitoil-L-lisil-L-lisina. Se obtuvo un champú con acción muy buena contra la formación de la caspa y el exceso de grasa.

EJEMPLO 6.

- 100 g de alcohol etílico al 50% se trataron con 0,5 g de patenol y 0,5 g de diclorhidrato del éster etílico de N^α-panitcoil-L-lisina. Se obtuvo un agua para el afeitado con propiedades desinfectantes muy buenas (especialmente en el caso del acné).

EJEMPLO 7.

- Frascos de 50 cc que contenian cada uno 19 cc de mosto de uva blanca se trataron con 1 cc de una solución concentrada de un conservador indicado en la tabla que sigue, en cantidad suficiente para obtener la concentración final que se indica en esa misma tabla. Para facilitar la fermentación, se añadió a cada uno de los frascos 0,1 cc de una suspensión al 10% de una levadura para pan, en agua (o sea 10 mg de levadura por partida). El grado de fermentación se evaluó después de almacenamiento a temperatura ambiente (alrededor de 20°), al cabo del primero, segundo, tercero y cuarto días.



277859

Agente conservador	dias	Concentración final del agente conservador, en %			
		0,05	0,01	0,005	0,001
Diclorhidrato de amida de N ^α -palm-I-lis-L-lis	1	-	-	+	+
	2	-	-	+	++
	3	-	+	++	++
	4	-	+++	+++	+++
Diclorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-I-orn-L-arginina	1	-	-	+	+
	2	-	+	++	++
	3	-	++	+++	+++
	4	-	+++	+++	+++
Diclorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-L-orn-L-ornitina	1	-	-	+	+
	2	-	+	++	++
	3	-	+	++	+++
	4	-	++	+++	+++
Diclorhidrato del éster etílico de N ^α -palm-L-lis-L-lisina	1	-	-	-	+
	2	-	-	+	++
	3	-	-	++	++
	4	-	+	+++	+++
Triclorhidrato de L-lis-L-lis-hexadecilamida	1	-	-	-	+
	2	-	-	+	++
	3	-	+	+	+++
	4	-	+	++	+++
Clorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-L-lis-L-leucina	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	+
	4	-	-	+	++



277859

	días	1ª partida	2ª partida
5.	2 partidas-testigo, con adición de 1 cc de agua destilada y 0,1 cc de suspensión de levadura		
	1	+	+
	2	+++	+++
	3	+++	+++
	4	+++	+++
10.	Leyenda:		
	-	= ninguna fermentación	
	+	= fermentación debil	
	++	= fermentación intensa	
	+++	= fermentación muy intensa.	

15. EJEMPLO 8.

Frascos de 50 cc que contenían cada uno 19 cc de zumo de naranja recién colado se trataron con 1 cc cada uno de una solución de un conservador de los indicados en la tabla que sigue, suficientemente concentrada para que se obtuviera la concentración que se indica en esa misma tabla. Luego se almacenaron los frascos a temperatura ambiente (unos 20°) y se evaluó la formación de moho al cabo del tercero, quinto, séptimo y noveno días.

25.



277859

Agente conservador	días	Concentración final del conservador en ‰			
		0,05	0,01	0,005	0,001
Diclorhidrato de N ^α -pal-L-lis-L-lis-amida	3	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	7	-	-	-	+
	9	-	+	++	+++
Diclorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-L-orn-L-arginina	3	-	-	-	-
	5	-	-	-	++
	7	-	+	++	+++
	9	+	++	+++	+++
Ciclorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-L-orn-L-ornitina	3	-	-	-	-
	5	-	-	-	++
	7	-	-	+	++
	9	+	+	++	+++
Diclorhidrato del éster etílico de N ^α -palm-L-lis-L-lisina	3	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
	9	-	-	+	++
Triclorhidrato de L-lis-hexadecilamida	3	-	-	+	+
	5	-	-	+	+
	7	-	+	+	++
	9	-	++	+++	+++
Clorhidrato del éster metílico de N ^α -palm-L-lis-L-leucina	3	-	+	+	+
	5	-	+	+	++
	7	-	+	++	+++
	9	+	++	+++	+++



277859

	1ª partida	2ª partida
2 partidas testigo, con adición de 1 cc de agua destilada	3	-
	5	+
	7	++
	9	+++

- Leyenda - = ninguna formación de moho
- + = pequeña cantidad de moho (superficie cubierta hasta un 10%)
- ++ = gran cantidad de formación de moho (superficie cubierta en un 50%)
- +++ = grandísima cantidad de formación de moho (superficie cubierta en el 100%).

= . =



277858

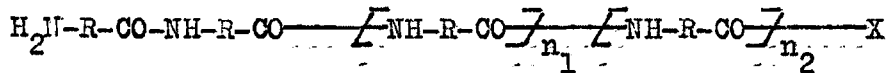
N O T A

Descrito el invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridades de las demandas de patentes suizas N° 6366/61 del 1 de junio de 1951 y N° 13988/61 del 1 de diciembre de 1961, existiendo en ambas unidad de invención.

5.

1. Procedimiento de conservación y desinfección, de substancias alimenticias, y en particular la carne y el pescado, caracterizado porque se tratan con un agente conservador y desinfectante que contiene un compuesto péptido de la fórmula general

10.



15.

en la que n_1 y n_2 representan cada uno cero o la unidad,

X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, alquil-amino, dialquil-amino o hidrazino, y cada

20.

R representa el radical de un ácido alfa-amino-carboxílico exento de sus grupos alfa-amino y carboxilo; uno por lo menos de esos radicales lleva un grupo amino y la molécula contiene por lo menos un grupo alifático de

25.



277859

5. cadena larga, elegido en el grupo constituido por un substituyente acilo alifático de cadena larga en un grupo amino de componente aminoácido, no participante en un enlace péptido y por un substituyente alifático de cadena larga comprendido por X cuando X representa un grupo alquil-amino o dialquil-amino,
o una sal de adición de ácido del mismo.
10. 2. Procedimiento en conformidad con lo definido en la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que dicho compuesto péptido es un dipéptido.
15. 3. Procedimiento en conformidad con lo definido en la reivindicación 1 o la 2, caracterizado por el hecho de que el grupo acilo o alquilo de cadena larga contiene por lo menos 10 átomos de carbono.
20. 4. Procedimiento en conformidad con lo definido en la reivindicación 3, caracterizado por el hecho de que el mencionado grupo acilo o alquilo de cadena larga contiene de 10 a 20 átomos de carbono; por ejemplo, el grupo palmitoilo o estearoilo.
25. 5. Procedimiento de acuerdo con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el compuesto péptido contiene solamente un grupo N-acilo o N-alquilo de cadena larga.
- 30.



277859

5. 6. Procedimiento de acuerdo con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el radical mencionado se deriva de un ácido ópticamente activo, y en particular de un ácido levógiro.
10. 7. Procedimiento de acuerdo con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el compuesto péptido contiene D- o L- o D,L-lisina.
15. 8. Procedimiento de acuerdo con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el compuesto péptido es la (N^α-palmitoil-L-lisil)-L-lisina, la L-lisil-(N^ε-palmitoil-L-lisina), el ácido $\sqrt{N^{\alpha}}$ -palmitoil-L-(alfa,gamma-diamino-butiril)-L-(alfa,gamma-diamino-butírico), el ácido L-(alfa,gamma-diamino-butiril)-L- $\sqrt{N^{\epsilon}}$ -palmitoil-L-(alfa,gamma-diamino-butírico), la (N^α-palmitoil-L-ornitil)-L-arginina,
20. la (N^α-palmitoil-L-ornitil)-L-ornitina o la (N^α-palmitoil-L-arginil)-L-arginina o un éster, amida o hidrazida de estos.
25. 9. Procedimiento de acuerdo con lo definido en la reivindicación 8, caracterizado por el hecho de que el éster en cuestión es el éster metílico o etílico.
30. 10. Procedimiento de conservación y desinfección.



277859

Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de veintiuna páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras, acompañadas de la documentación correspondiente.

5.

Madrid, a 30 de mayo de 1962.

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. A.G.

p. a.

EL JUAN DE ISABEL
[Handwritten signature]