

281089

- 1 -



281089

**MEMORIA DESCRIPTIVA**  
que se acompaña a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por VEINTE años en España, por "PROCEDIMIENTO DE

PREPARACION DE CATALASA SECADA"

a favor de

ARMOUR PHARMACEUTICAL COMPANY

domiciliado en Prudential Plaza, CHICAGO 1, ILLINOIS,

Estados Unidos

Prioridad: De la solicitud de patente estadounidense  
nº 144.541 del 12 de Octubre de 1961

Inventor: Edward George Samsa, de nacionalidad esta-  
dounidense.



281089

Esta invención se relaciona con enzimas y más particularmente con un nuevo y perfeccionado método de preparación de catalasa de hígado secada.

5 Los preparados secados por congelación de catalasa han sido realizados previamente, pero una de las desventajas de tales preparados es la pérdida parcial de potencia de la catalasa que tiene lugar no sólo durante el secado por congelación sino también después de un prolongado reposo. Ha existido la necesidad de un proceso que proteja la catalasa contra la desactivación durante la operación de secado y en el  
10 ulterior almacenamiento.

Es por consiguiente un objeto de la presente invención proporcionar un nuevo y perfeccionado método de secado por congelación de preparados de catalasa.

15 Otro objeto de la presente invención es el de proporcionar un preparado de catalasa de hígado seca que esté protegido contra la degradación de la actividad y mantenga una elevada potencia en forma seca.

Otro objeto de la invención es el de incrementar sustancialmente el grado de actividad de la catalasa en un preparado secado.

20 He descubierto un medio de preparación de una catalasa liofilizada sustancialmente estable, a partir de una solución de catalasa semipurificada, a la que se añade uno de los materiales seleccionados del grupo consistente en glicina, lactosa, cloruro sódico y citrato sódico. El material de partida cuya enzima se reivindica puede describirse generalmente como tejido hepático de mamífero.  
25

La catalasa puede recuperarse del hígado mediante uno de los métodos conocidos, tales como el expuesto en la Patente de Estados Unidos nº 2.834.713, a nombre de Kenneth C. Robbins y transferida al presente cesionario. En el método de Robbins puede obtenerse un extracto acuoso purificado de hígado conteniendo una cantidad sustancial de la  
30



281089

catalasa presente en el material de partida. El producto contiene impurezas indirectas al extracto usado.

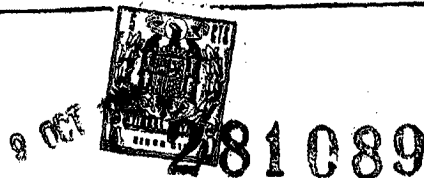
5 En la patente de Estados Unidos a nombre de August L. Lolli (Nº 2.703.779), emitida el 8 de marzo de 1955 y transferida igualmente al presente cesionario, se expone un método particularmente adecuado para extraer catalasa de hígado de cerdo. Por este método se prepara una catalasa estable soluble en agua, de potencia relativamente elevada.

10 Se comprenderá que la catalasa utilizada por el presente inventor como material de partida contendrá muchas de las impurezas reconocidas presentes en solución de catalasa no purificada. El grado de purificación no se considera crítico en la práctica de mi invención, dirigida a un nuevo y perfeccionado método de secado por congelación de preparados de catalasa, en el que el producto retiene una parte principal de la actividad de la catalasa inicial después de secarse. Para conseguir este resultado, he añadido ciertos materiales a una solución de catalasa antes del secado. Los materiales incluyen glicina, lactosa, cloruro sódico o citrato sódico. Se ha determinado que estos materiales, presentes en las cantidades especificadas, acrecientan grandemente el producto derivado en el secado por congelación de la catalasa, particularmente el extraído de hígado de animal vacuno, dando por consiguiente mayor eficacia a su inclusión en una serie de formulaciones.

EJEMPLO I

25 Se dividió en partes alícuotas una solución conteniendo catalasa y extractada por los procedimientos según los métodos anteriormente mencionados, conteniendo aproximadamente 153 unidades Keil por ml.; de actividad de la catalasa. Tres porciones de 500 ml. fueron secadas por congelación como controles. Se añadieron respectivamente 20 gms. de glicina, lactosa, cloruro sódico y citrato sódico a otras porciones de 500 ml. Estas soluciones fueron secadas luego por congelación. El método usado para el secado por congelación es bien conocido en el arte

30



y no se considera por consiguiente necesario exponerlo en esta descripción.

Los Ejemplos muestran el incremento en el grado de actividad de la catalasa de acuerdo con mi invención, pero no deberán considerarse como limitativos de ésta. Los resultados que aparecen en el primer -  
Ejemplo ilustran los diversos valores de la muestra antes de la adición de los materiales que aparecen anteriormente. La "potencia" se expresa en unidades Keil por g de sólido; la "recuperación de potencia" es el total de unidades Keil en los sólidos secos por 100, dividido por el total de unidades Keil en el líquido; y el pH es el valor de la solución del polvo secado y reconstituido en agua. Las muestras de control mostraron:

<u>Recuperación</u>	<u>Potencia</u>	<u>Recuperación de potencia</u>	<u>pH</u>
20,3 g	2340	62 %	7,5

EJEMPLO II

A una porción alícuota de 500 ml. de la solución preparada se añadieron 20 g de glicina; resultados:

<u>Recuperación</u>	<u>Potencia</u>	<u>Recuperación de potencia</u>	<u>pH</u>
40,7 g	1525	81 %	7,3

EJEMPLO III

A una parte alícuota de 500 ml. de la solución preparada se añadieron 20 g de lactosa; resultados:

<u>Recuperación</u>	<u>Potencia</u>	<u>Recuperación de potencia</u>	<u>pH</u>
40,0 g	1670	87 %	7,6

EJEMPLO IV

A una porción alícuota de 500 ml. de la solución preparada se añadieron 20 g de cloruro sódico; resultados:

<u>Recuperación</u>	<u>Potencia</u>	<u>Recuperación de potencia</u>	<u>pH</u>
39,6 g	1700	88 %	7,4



281089

EJEMPLO V

A una porción alícuota de 500 ml. de la solución preparada se añadieron 20 g de citrato sódico; resultados:

<u>Recuperación</u>	<u>Potencia</u>	<u>Recuperación de potencia</u>	<u>pH</u>
39,8 g	1760	91 %	7,6

Aunque en la precedente descripción se han expuesto varias versiones de la invención con detalles específicos de la misma, elaborados a efectos ilustrativos, resultará evidente para los expertos en la materia que esta invención es susceptible de otras versiones y que muchos de los detalles específicos pueden variarse ampliamente sin apartarse del espíritu básico y concepto de la invención.

REIVINDICACIONES

1ª.- Procedimiento de preparación de catalasa secada, que comprende las operaciones de agregar material tomado del grupo consistente en glicina, lactosa, cloruro sódico y citrato sódico, a una solución que contenga catalasa, y el secado por congelación de la solución.

2ª.- Procedimiento de secado de una solución conteniendo catalasa adaptada para retener una parte principal de la actividad de la catalasa inicial, que comprende la operación de añadir glicina a una solución que contenga catalasa, y el secado por congelación de la solución.

3ª.- Procedimiento de secado de una solución que contenga catalasa adaptada para retener una parte principal de la actividad de la catalasa inicial, que comprende la operación de añadir lactosa a una solución que contenga catalasa y el secado por congelación de la solución.

4ª.- Procedimiento de secado de una solución que contiene catalasa adaptada para retener una parte principal de la actividad de la catalasa inicial que comprende la operación de añadir cloruro sódico a la solución que contiene catalasa y el secado por congelación de la solución.



281089

5.- Procedimiento para secar una solución que contiene catalasa adaptada para retener una parte principal de la actividad de la catalasa inicial, que comprende la operación de añadir citrato sódico a la solución que contenga catalasa y el secado por congelación de la solución.

5

6.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE CATALASA SECADA".

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria que consta de seis páginas escritas a máquina.

10

Madrid, 26 de Septiembre de 1962

ALFONSO UNGRIA

PR. 111  
700