

378086

P. 378086
Serial N° 813.297

SECCION TECNICA
CLASIFICACION P. C.
CLASE <u>A-61</u>
SUBCLASE <u>K</u>



Memoria descriptiva **378086**

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de MILES LABORATORIES, INC.

entidad / ~~de nacionalidad~~ norteamericana

con domicilio en Elkhart, Indiana, Estados Unidos de América

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR UN EXTRACTO DE UNA SUSTANCIA CAPAZ DE PROVOCAR UNA RESPUESTA ALERGENICA O ANTIGENICA", (Clase Internacional G12k)

37 MAR 1970



Se sabe desde hace mucho tiempo que algunas personas, al ponerse en contacto con, y particularmente al inhalar ciertas partículas o sustancias orgánicas que existen en estado natural o preparadas por síntesis, desarrollan reacciones alérgicas características tales como estornudos, activación de las glándulas mucosas, edema local, erupciones en la piel y vasodilatación. Estas reacciones reciben comúnmente el nombre de "fiebre del heno" y aun cuando la reacción en sí misma no es grave por lo general, puede conducir a complicaciones, tanto fisiológicas como psicológicas. En un niño pequeño, la presencia constante de un estado alérgico ocasiona a menudo deformaciones permanentes en el cuerpo y particularmente en la estructura facial, para no mencionar los efectos psicológicos de un malestar continuamente presente. Las condiciones asmáticas están también íntimamente conectadas con las reacciones alérgicas y pueden causar complicaciones más graves. La ciencia médica reconoce actualmente la enfermedad de la fiebre del heno como un estado grave que ha de tratarse con cuidado y perfección.

En relación con esto, se sabe también desde hace algún tiempo que los extractos de las sustancias alérgicamente o antigénicamente activas arriba indicadas, cuando se inyectan subcutáneamente, alivian estas reacciones alérgicas en una mayoría de individuos. El mecanismo fisiológico exacto de este tratamiento, conocido en la técnica como hiposensibilización, no se ha explicado todavía de forma completa y satisfactoria. No obstante, se han expuesto diversas teorías que intentan dar una explicación. Una de tales teorías supone la forma-



31 MAR 1977

ción de los denominados anticuerpos bloqueantes o neutra-
lizantes ocasionada por la inyección del extracto, mien-
tras que otra teoría postula que tal tratamiento favorece
la formación de una unión entre antígeno (o alérgeno) y
5 anticuerpo en la circulación libre más bien que en el te-
jido de choque.

En la preparación de tales extractos alérgeni-
cos, ha sido práctica común en el pasado extraer simplemen-
te la sustancia orgánica ofensiva que causa la reacción -
10 alérgica con un flúido extractor acuoso fisiológicamente
aceptable tal como una solución salina o una solución sa-
lina ligeramente alcalina. Después de separar el flúido
de extracción del residuo, esta solución que contiene los
principios activos se esteriliza y se utiliza simplemente
15 como tal, luego de hacer, por supuesto, la dilución con-
veniente en serie de la misma. En tal procedimiento de ex-
tracción, el flúido extractor fisiológicamente aceptable
se selecciona y prepara para proteger la integridad es-
tructural de la molécula del antígeno.

20 Recientemente, sin embargo, se ha ideado un
método que da por resultado un extracto alérgico más
completo y efectivo. Este procedimiento se describe en las
Patentes de EE.UU. Núms. 3.148.121 y 3.148.122, y en re-
sumen comprende tratar una sustancia alérgica íntegra,
25 sin desengrasar, con un flúido extractor constituido por
una amina terciaria heterocíclica acuosa, separar la fase
líquida que contiene los principios activos del residuo,
desechar el residuo y, a fin de separar los principios
activos de la amina terciaria heterocíclica, añadir agua
30 y una solución de alumbre al extracto para precipitar -

378086



los principios activos del mismo. El precipitado se lava luego muchas veces con agua para eliminar la totalidad de la amina terciaria heterocíclica y cualquier exceso de alumbre, y por último se vuelve a suspender en un vehículo acuoso fisiológicamente aceptable.

Inicialmente, se creía que la inclusión de la amina terciaria heterocíclica en el procedimiento daba únicamente por resultado la obtención de un extracto alérgico más completo, ya que se incluían en el extracto los constituyentes solubles en el disolvente orgánico además de las fracciones proteínicas y de hidratos de carbono solubles en agua. No obstante, se cree actualmente que la naturaleza química reactiva de la amina terciaria heterocíclica puede ocasionar una modificación estructural de la molécula del antígeno, lo que da por resultado un extracto de tratamiento alérgico que es efectivo y está relativamente exento de reacciones secundarias constitucionales.

Pese a lo efectivos y ventajosos que han demostrado ser estos extractos alérgicos extraídos con amina terciaria heterocíclica y precipitados con alumbre [que en adelante se denominan extractos EPPA (extraídos con piridina, precipitados con alumbre), por ser la piridina la amina terciaria heterocíclica utilizada preferentemente en tal procedimiento], han aparecido varias limitaciones con el transcurso de los años. En este sentido, se encontró que este tipo de extracto no podía utilizarse para fines de ensayos en la piel, una situación que los alergistas clínicos quieren evitar por lo general, ya que prefieren utilizar los mismos sustancia

378086

natural y extracto para el diagnóstico y el tratamiento.
Un tal procedimiento en que se utilice el mismo extracto
asegura que el tratamiento implica exactamente el mismo
antígeno que se ha encontrado en la causa de la reacción
5 alérgica en la piel. Se cree que la limitación de los ex-
tractos EPPA arriba citada es debida a la insolubilidad
del precipitado y/o a la formación de un complejo entre
el antígeno extraído con la amina terciaria heterocíclica
y el alumbre utilizado en la precipitación del antígeno
10 no a partir del flúido de extracción.

Se ha informado también de algunas situaciones en las que un extracto de tipo acuoso ha sido efectivo cuando el extracto EPPA ha sido relativamente inefectivo, y viceversa. Por tanto, hay que llegar a la conclusión de que ciertos antígenos son preferentemente solubles en flúidos extractores disolventes acuosos u orgánicos. Por otra parte, los parámetros del procedimiento para preparar antígenos EPPA utilizando los métodos de la técnica anterior requieren bastante tiempo, y el rendimiento deja
15 mucho que desear, ya que está comprendido en el campo de aproximadamente el 50% de las UNP (unidades de nitrógeno proteínico) originalmente extraídas.

Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar un extracto alérgico más versátil y efectivo que el producido por los métodos acuoso y EPPA de la técnica anterior.
25

Es otro objeto proporcionar un procedimiento mejorado para preparar extractos alérgicos sin desnaturalización de la fracción de proteínas soluble en agua.

Es todavía otro objeto proporcionar un pro-
30

378086

31 MAR



cedimiento de extracción con disolvente combinado acuoso-orgánico por el cual se recupera en el tratamiento del mismo prácticamente la totalidad del material antigénico.

Estos y otros objetos que serán evidentes a partir de la descripción siguiente y de las reivindicaciones que figuran en el apéndice de la misma se consiguen (1) tratando la sustancia alérgicamente y/o antigénicamente activa con un fluido extractor acuoso, (2) separando el fluido extractor acuoso que contiene los principios activos solubles en agua de la porción insoluble en agua de la sustancia, (3) tratando la porción insoluble en agua de la sustancia con un fluido extractor constituido por un disolvente orgánico, (4) separando el fluido extractor constituido por un disolvente orgánico de la porción de la sustancia insoluble en agua y en el disolvente orgánico, (5) preferiblemente, combinando el fluido extractor que contiene los principios activos solubles en agua con los principios activos solubles en el disolvente orgánico, (6) insolubilizando los principios activos contenidos en los extractos por la adición de un compuesto de aluminio, (7) separando los principios activos insolubilizados de los fluidos de extracción, y (8) preferiblemente, volviendo a suspender los principios activos insolubilizados en un fluido acuoso fisiológicamente aceptable.

El procedimiento de acuerdo con la presente invención es aplicable a todas las sustancias alérgicamente activas, tanto de origen natural como preparadas por síntesis. Tales sustancias incluyen polvos, como el polvo ordinario que se encuentra en los hogares y se recoge en los aspiradores y el polvo que se encuentra en las insta

378086

81 MA



laciones fabriles, tal como el serrín de madra; epitelios, tales como caspa de gato, perro, caballo y conejo; plumas, tales como las de gansos, patos y pollos; semillas, tales como la semilla de algodón y de capoc; insectos y emanaciones de insectos, tales como abejas, avispa, avispones, moscardones, y mosquitos; pólenes de árboles, céspedes y hierbas, tales como zuzón, césped de huerto, arces, álamos; mohos, tales como Aspergillus y Alternaria; productos químicos sintéticos complejos, tales como antibióticos, etcétera.

Inicialmente, la sustancia alérgicamente activa se extrae con un fluido extractor acuoso. Esta etapa inicial es igual a la utilizada en la preparación de extractos alérgicos acuosos de la técnica anterior e implica simplemente el uso de agua o de un fluido extractor acuoso tamponado o isotónico. Tales fluidos extractores incluyen solución salina tamponada de fosfato (de Evan); solución de Coca que comprende bicarbonato sódico cloruro sódico y fenol; glicerosalina; solución de dextrosa (de Ungar); solución salina fisiológica; solución salina de alcohol; etcétera. Tales soluciones son bien conocidas por los expertos en la técnica de tratamiento de pacientes alérgicos, y formulaciones más completas que incluyen las concentraciones de los ingredientes se pueden encontrar en cualquier libro de texto elemental sobre alergia. Estas soluciones son todas ellas fluidos extractores más bien poco energéticos, que tienen un pH ajustado comprendido aproximadamente entre 6,5 y 8,0 y están destinadas a proteger la integridad estructural de la molécula del alérgeno o antígeno causante de la enfermedad.

378086



31

En la preparación de este extracto acuoso inicial del alergeno, la sustancia antigénica natural, después de la separación de contaminantes físicos y pulverización o subdivisión, si es necesario, se pone en contacto con el fluido extractor durante un período comprendido aproximadamente entre 1 hora y 3 días ó más, con agitación ocasional. Preferiblemente, la extracción se hace con agitación continua durante un período de 4 horas. También puede desengrasarse el alergeno antes de ponerlo en contacto con el fluido extractivo acuoso; no obstante, en ciertos casos esto es o bien innecesario, o incluso se cree que puede eliminar materias valiosas del antígeno.

Después de la extracción inicial con el fluido acuoso neutro, la porción insoluble en agua de la sustancia antigénica se separa del fluido acuoso por centrifugación o filtración y se lava varias veces con agua o con fluido extractor adicional.

La porción insoluble en agua de la sustancia antigénica o residuo que queda después de la extracción inicial con el fluido acuoso se trata luego con un disolvente orgánico para separar los principios activos insolubles en agua de aquélla. Aunque puede utilizarse un sistema de disolvente orgánico no acuoso, el fluido preferible para uso en esta segunda extracción comprende una mezcla de una fase acuosa y una fase de disolvente orgánico. El último constituyente de este fluido extractor puede comprender un disolvente que contiene nitrógeno básico y preferiblemente comprende una amina, y más preferiblemente todavía una amina terciaria heterocíclica tal como, por ejemplo, piridina, derivados de piridina tales

378086



como lutidina, quinolina, colidina, picolina, y análogos.

Aunque no se conoce el efecto químico exacto del disolvente orgánico sobre la molécula del antígeno o la estructura de la misma, se cree que la naturaleza altamente polar o básica de los disolventes arriba indicados los hace reaccionar con los antígenos insolubles en agua para formar un compuesto con ellos, o altera de alguna manera la estructura molecular compleja de la proteína, hidrato de carbono, lipoproteína o polipéptido que constituyen la base de la naturaleza alergénica de la sustancia causante de la enfermedad.

El segundo constituyente de este segundo fluido extractivo, esto es, la fase acuosa, puede ser agua destilada pura o, preferiblemente, una solución acuosa salina y/o alcalina. A este respecto, pueden emplearse bicarbonato sódico, cloruro sódico, hidróxido sódico, tampones de fosfato, etc. Cuando se utilizan en el fluido extractor - sustancias que tienen una naturaleza alcalina tales como una amina terciaria, heterocíclica, este segundo constituyente acuoso puede estar constituido también por un tampón que ajuste el pH a un valor más neutro. El pH resultante del fluido extractor final preparado por mezclado de la fase de disolvente orgánico aminado y la fase acuosa, puede estar comprendido aproximadamente entre los valores de pH 7,5 y 12,0, y preferiblemente se ajusta dentro de un campo de pH más estrecho, comprendido aproximadamente entre los valores de pH 9,0 y 12,0. Dado que se ha encontrado una gran diversidad de sustancias alergénicas adaptables al presente procedimiento, el pH del fluido extractor y la composición del mismo pueden variarse

378086



31 MAR 1970

considerablemente para adaptarse a la sustancia alergénica particular, Por ejemplo, se sabe que el polen de zuzón tiene un contenido elevado y tóxico de grasa o lípido, habiéndose sugerido que éste contribuye notablemente a la naturaleza alergénica de esta sustancia. Otras sustancias alergénicas contienen una proporción muy inferior de materias lípidas y al extraer estas otras sustancias puede ser deseable cambiar la relación de fase de disolvente orgánico a fase acuosa para compensar tales variaciones en el contenido de lípidos. No obstante, se ha encontrado que aproximadamente partes iguales de fase de disolvente orgánico y fase acuosa dan por resultado un flúido extractivo que tiene un campo de aplicación extenso.

Esta segunda etapa de extracción comprende usualmente mezclar el material insoluble con el flúido extractor y dejar que la mezcla permanezca a una temperatura de aproximadamente 20°C a 25°C durante preferiblemente 1 hora a 3 días o más, con agitación ocasional. El residuo o porción insoluble en agua y en disolvente orgánico de la sustancia se separa después de la fase líquida, que contiene entonces los principios alergénicos activos tratados y solubilizados, insolubles en agua o solubles en disolvente orgánico.

Aunque los dos extractos descritos arriba pueden tratarse por separado como se describe más adelante en esta Memoria, el procedimiento preferible de la presente invención comprende combinar los extractos primero y segundo e insolubilizar inmediatamente los principios activos contenidos en los mismos por la adición de un compuesto de aluminio tal como el descrito y utilizado en

378086

378086

37 MA



las Patentes de EE.UU. Núms. 3.148.121 y 3.148.122.

La insolubilización arriba citada se efectúa inmediatamente después de mezclar los dos extractos a fin de impedir cualquier posible desnaturalización de los antígenos lábiles solubles en agua, extraídos con el primer flúido extractor acuoso.

Se apreciará que la recombinación de los extractos primero y segundo puede realizarse en un amplio campo de proporciones, dependiendo del alérgeno particular que se extrae así como de la sensibilidad del individuo a los antígenos específicos contenidos en los flúidos extractores primero y segundo. Hablando en términos generales, sin embargo, los extractos primero y segundo se recombinan en una proporción comprendida aproximadamente entre 10:1 y 1:10, con una proporción preferible de 1:1.

La etapa de insolubilización arriba indicada comprende la adición de un compuesto de aluminio tal como alumbre de potasio o hidróxido de aluminio para insolubilizar el antígeno y preparar una forma de dosificación terapéutica que tenga propiedades de liberación lenta. A este respecto, se ha encontrado inesperadamente que el precipitado o producto de adsorción insolubilizado utilizando el extracto tratado en combinación con disolventes acuoso y orgánico de la presente invención es superior a los antígenos precipitados con alumbre de la técnica anterior, procedentes de soluciones desengrasadas de los mismos, extraídas exclusivamente con disolvente acuoso. En tanto que tales preparaciones de la técnica anterior son de naturaleza gelatinosa y farmacéuticamente inaceptables, las presentes preparaciones son suspensiones ho-

378086



mogéneas de pequeñas partículas y tienen un aspecto farmacéuticamente elegante.

5 Debe indicarse aquí que inesperadamente se ha encontrado también que el rendimiento de precipitado a partir del extracto utilizando un compuesto de aluminio para insolubilizar el antígeno, es espectacularmente mayor que el obtenido utilizando el procedimiento EPPA de la técnica anterior. Por ejemplo, utilizando el procedimiento EPPA de la técnica anterior se consiguen rendimientos de aproximadamente 40-50%, mientras que en el presente procedimiento se obtiene un rendimiento de 80-90% aproximadamente. Este rendimiento se calcula sobre la base del nitrógeno proteínico en el fluido de extracción comparado con el nitrógeno proteínico en el precipitado insolubilizado o producto de adsorción.

15 A fin de asegurar que el extracto alergénico es estéril, es práctica usual pasar una solución que contiene el extracto de antígeno termolábil a través de un filtro de bacteriología, más comúnmente llamado un filtro Seitz, microporo, MILLIPORE^R o de membrana. Tales procedimientos son bien conocidos en la técnica y se describen en diversos textos relativos a la misma. En la presente invención, tal esterilización puede llevarse a cabo en cualquier fase líquida con tal que el antígeno esté en solución. Por ejemplo, tanto el primero como el segundo extracto pueden esterilizarse, o bien se puede esterilizar por filtración el extracto combinado final.

25 Haciendo referencia ahora al modo de uso de la presente preparación, tales métodos son bien conocidos en la técnica y comprenden la inyección subcutánea

378086

31 MAR



de una suspensión diluída del antígeno seguida por inyecciones subsiguientes diarias o semanales de concentración gradualmente creciente. Debido al campo extremadamente amplio de sensibilidades de los diversos individuos y a las diferentes características de liberación de las diversas formas terapéuticas del antígeno, el régimen de tratamiento es decidido por el clínico sobre una base individual.

Con respecto a la dosis o potencia del extracto, los productos de la presente invención pueden ser concentrados o diluídos de acuerdo con la fuerza básica del extracto inicial y la potencia deseada del extracto final. El medio más común, aunque no enteramente satisfactorio para normalizar el extracto, es el análisis de la solución en cuanto a UNP ó unidades de nitrógeno proteínico. La deficiencia de este método reside, evidentemente, en que la totalidad de las fracciones antigénicas del extracto no son necesariamente proteináceas sino que pueden ser moléculas de hidratos de carbono, lípidos u otras sustancias no-nitrogenadas. Con respecto a la potencia del extracto, la práctica usual es normalizar extractos entre aproximadamente 100 UNP y aproximadamente 10.000 UNP, utilizándose los extractos de menor potencia en las fases iniciales de la terapia de hiposensibilización y los extractos de mayor potencia como una dosis de sostenimiento o de mantenimiento a intervalos de tiempo mayores.

La presente invención se ilustra por los ejemplos siguientes, si bien no se tiene intención alguna de limitar el alcance de los presentes procedimiento o producto a los mismos.

30

EJEMPLO 1

378086

31 MAR



Utilizando un matraz de extracción de tamaño adecuado, se mezclaron 20 gramos de una mezcla no desengrasada de partes iguales de polen de zuzón alto y bajo con 200 ml de un fluido de extracción que comprendía una proporción 1:1 (en volumen) de glicerina y solución 0,03 N de hidróxido sódico. Después de dejar la mezcla en reposo durante una noche con agitación ocasional, el residuo de polen insoluble se separó del fluido extractor que contenía los principios activos solubles en agua por filtración a vacío. El extracto coloreado en amarillo que contenía 54.700 UNP/ml, se tapó y se guardó a 3-5°C aproximadamente. El residuo de polen que permanecía sobre el filtro, se transfirió luego de nuevo al matraz de extracción original y se añadieron al mismo 200 ml de una mezcla 1:1 (volumen a volumen) de piridina e hidróxido sódico 0,1 N. Se mezcló bien el contenido del matraz y se dejó permanecer a la temperatura ambiente durante 1-2 días con mezclado, y pasado este intervalo de tiempo, el residuo de polen insoluble remanente se separó de los principios activos solubles en disolvente orgánico por medio de una segunda etapa de filtración a vacío y se guardó a 3-5°C. El análisis indicó que este segundo extracto contenía 32.600 UNP/ml.

El primer extracto se retiró luego del refrigerador y se colocó en un baño de agua a 45°C para redissolver el precipitado pesado que se formó al enfriarse el extracto. Los extractos primero y segundo se combinaron después en partes iguales y, cuando se analizaron, se encontró que contenían 43.800 UNP/ml. Se pipetearon 2 ml de los extractos combinados en un tubo pequeño, se mezclaron, y se añadieron a los mismos 4,0 ml de un sulfato de alumi

378086

31 MAR



nio y potasio al 2% en ácido sulfúrico 0,25 N. Se formó
inmediatamente un precipitado floculante pesado que se se-
paró por centrifugación y se lavó con agua hasta quedar
exento de piridina. El precipitado, que se encontró con-
5 tenía 40.200 UMP/ml de extracto (recuperación del 91,6%),
cuando se resuspende en solución salina y se normaliza,
puede utilizarse como un agente de hiposensibilización
efectivo.

EJEMPLOS 2-7

10 Se repitió el ejemplo 1, excepto que el polen
de zuzón se substituyó por polen de césped de huerto, pol-
vo doméstico, insectos que producen picaduras, polen de
fleo, plumas de pollo y polen de abedul. Los resultados
fueron sustancialmente iguales. Los extractos combinados
15 son útiles para terapia de hiposensibilización, en tanto
que los primeros extractos acuosos son útiles para ensa-
yos en la piel o diagnóstico de un estado alérgico.

La presente solicitud que corresponde a la
presentada en Estados Unidos de América, el 3 de Abril de
20 1.969, bajo el número 813.297, se acoge a los beneficios
del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad In-
dustrial.

30-3-70

- 15 -

378086



REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

1.- Un procedimiento para preparar un extracto de una sustancia capaz de provocar una respuesta alérgica o antigénica y que contiene principios fisiológicamente activos, procedimiento que comprende: A: tratar la sustancia con un fluido extractor acuoso; B: separar el fluido extractor acuoso que contiene los principios activos solubles en agua de la porción insoluble en agua de la sustancia; C: tratar la porción insoluble en agua de la sustancia con un fluido extractor de disolvente orgánico; D: separar el fluido extractor de disolvente orgánico, que contiene los principios activos solubles en disolvente orgánico, de la porción de la sustancia insoluble en agua y en disolvente orgánico; E: insolubilizar los principios activos contenidos en los fluidos extractores acuoso y de disolvente orgánico por la adición a los mismos de un compuesto de aluminio; y, F: separar los principios activos insolubilizados de los fluidos extractores.

2.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que los fluidos extractores acuoso y de di

Handwritten signature and date: 30-3-70

378086

378086



solvente orgánico separados en (B) y (D) se combinan antes de añadir el compuesto de aluminio.

3.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que el disolvente orgánico es una amina terciaria heterocíclica.

4.- Un procedimiento como el de la reivindicación 3 en el que la amida terciaria heterocíclica se selecciona del grupo constituido por piridina, quinolina, lutidina, colidina y picolina.

5.- Un procedimiento como el de la reivindicación 4 en el que la amida terciaria heterocíclica es piridina.

6.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que el disolvente orgánico es una combinación de agua y una amina terciaria heterocíclica.

7.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que el disolvente orgánico es una combinación de solución diluída de hidróxido sódico y piridina.

8.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que la sustancia capaz de provocar una respuesta alérgica o antigénica es un inhalante.

9.- Un procedimiento como el de la reivindicación 8 en el que el inhalante se selecciona del grupo de alérgenos constituido por pólenes, polvo doméstico, epitelios, mohos, materias de insectos, semillas y plumas.

10.- Un procedimiento como el de la reivindicación 1 en el que el compuesto de aluminio es sulfato de aluminio y potasio.

11.- Un procedimiento como el de la reivin

Handwritten scribbles and numbers: "30" and "70-3-70".

31 MAR. 

cación 1 en el que los principios activos insolubilizados se combinan después de la adición de un compuesto de aluminio.

5 12.- Un procedimiento como el de las reivindicaciones 1, 2 y 11 en el que los principios activos insolubilizados se resuspenden en un fluido acuoso fisiológicamente aceptable antes de su empleo.

10 13.- Un procedimiento para preparar un extracto de una sustancia capaz de provocar una respuesta alergénica o antigénica.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de dieciocho hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 31 MAR 1970

P.A.

Alberto de 
Por Federa

378086


30-5-70

PBG.