



ESPAÑA

PATENTE DE INTRODUCCION

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07C
------------------------	--

54 TITULO DE LA INVENCIÓN

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE L-CARBAMIL-AMINOACIDOS Y DE LOS CORRESPONDIENTES L-AMINOACIDOS"

56 PATENTE EXTRANJERA U OTRA FUENTE DE INFORMACION

71 SOLICITANTE (S)

SNAMPROGETTI S.p.A., sociedad anónima italiana.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

MILAN (Italia), Corso Venezia, 16.

72 INVENTOR (ES)

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

Don JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de L-carbamil-aminoácidos y de los correspondientes L-aminoácidos.

Es sabido que los aminoácidos naturales son ópticamente activos y que la estructura espacial de los mismos es del tipo normalmente designado con la letra L.

En las síntesis químicas normales de los aminoácidos se obtiene siempre, a menos que se parta ya de compuestos asimétricos, una mezcla de todos los estereoisómeros posibles, en la cual las formas D y L se hallan en iguales proporciones. La mezcla obtenida, designada con el término de compuesto racemo, es por tanto ópticamente inactiva.

La posibilidad de producir L-aminoácidos de manera sencilla y económica constituye un problema que ha sido y es de máximo interés, pero no puede decirse que hasta hoy se haya encontrado una solución verdaderamente satisfactoria.

Los métodos actualmente empleados son esencialmente de tres tipos:

I) Hidrólisis de proteínas y aislamiento de los diversos aminoácidos. Es un método costoso puesto que parte de una materia prima de por sí noble, tal como son las proteínas, requiere complicadas operaciones de fraccionamiento y no permite obtener aquellos aminoácidos que resultan destruidos en la hidrólisis.

II) Preparación de aminoácidos por fermentación. Se aplica hasta hoy para pocos aminoácidos y, en particular, sólo en la producción de ácido L-glutámico se originan

costos que permiten un amplio empleo del producto.

5           III) Preparación química de los compuestos racemos y separación de los antípodos ópticos. La preparación de los compuestos racemos de numerosos aminoácidos puede realizarse mediante procesos que resultan potencialmente muy económicos. Sin embargo, las dificultades consisten en la separación de los antípodos ópticos y en la reutilización del antípoda D, el cual normalmente no es utiliz-  
ble como tal.

10           Los métodos de separación hasta ahora propuestos son de varios tipos, pero para los aminoácidos se recurre principalmente a la acción de enzimas sobre derivados de los aminoácidos sustituidos en el grupo  $-NH_2$  o en el grupo  $-COOH$ , ante todo acil-derivados o ésteres.

15           Sustancialmente, estos métodos requieren:

a) el tratamiento del aminoácido racemo con un reactivo de acilación o esterificación y el aislamiento y purificación del derivado;

20           b) la acción estereoespecífica de una enzima sobre el derivado del aminoácido;

c) la separación del L-aminoácido resultante del derivado de la forma D no atacada, o viceversa (según el tipo de estereoespecificidad de la enzima);

25           d) tratamiento del antípoda no deseado para retransformarlo en un compuesto racemo y poderlo reintroducir en el ciclo.

Todas estas operaciones son a menudo complejas.

Frecuentemente, para obtener buenos resultados es

necesario emplear reactivos de acilación o esterificación relativamente costosos. A menudo, las enzimas no presentan una especificidad absoluta, sino que actúan solamente con diversa velocidad sobre los dos antípodos, lo cual, particularmente si se activa bastante a fondo la reacción de hidrólisis del antípoda deseado, causa la hidrólisis de cantidades no despreciables del otro antípoda y conduce por tanto a la obtención de un producto ópticamente no puro.

Además, la transformación del antípoda no deseado en un compuesto racemo requiere en general condiciones relativamente drásticas y se lleva a cabo con rendimientos que distan mucho del teórico.

La finalidad de la presente invención consiste por tanto en proporcionar un procedimiento para la obtención de L-aminoácidos que permita obtener tales productos de manera extremadamente sencilla y económica.

La hidrólisis enzimática según la invención, que tiene como consecuencia la preparación de una sola forma estereoisómera de un aminoácido o de un derivado del mismo a partir de un compuesto racemo, es provocada por la acción rigurosamente selectiva de las enzimas sobre una sola de las dos formas presentes en el compuesto racemo. En efecto, se ha descubierto sorprendentemente que numerosas enzimas actúan sobre las formas racemas de compuestos de la fórmula indicada más adelante siguiendo una hidrólisis rigurosamente selectiva sobre una sola de las dos formas. A tal clase de enzimas pertenecen, entre otras,

por ejemplo algunas convencionalmente conocidas por tener una acción hidrolizante sobre los términos más sencillos de la clase de los compuestos de la fórmula indicada más adelante, cuando estos compuestos no presenten átomos de carbono asimétricos.

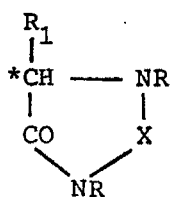
También son conocidas enzimas capaces de escindir, por ejemplo hidrolíticamente, una de las formas estereoisómeras, pero tales enzimas no han sido nunca utilizadas sobre materiales de partida racémicos.

También esta clase de enzimas puede ser empleada según la invención. Por otra parte, para el técnico en la materia es sabido que una simple experimentación permite identificar las clases de enzimas convencionales o nuevas que puedan ser empleadas según la invención, bastando para ello verificar el comportamiento de las mismas sobre un compuesto de partida racémico.

Con referencia a cuanto antecede, y a título de ejemplo de la invención, puede indicarse que la enzima convencional conocida como dihidropirimidinasasa, preparada a partir de hígado de ternera según las indicaciones de Donald P Wallach y Santiago Grisolia [J.of Biol.Chem. 226, 277 (1957) ], hidroliza el 4,5 dihidrouracilo, la dihidrotimina y la idantoina, todos ellos compuestos exentos de átomos de carbono asimétricos; sorprendentemente, si esta enzima se hace actuar sobre compuestos (5-idantoina) racémicos, la misma hidroliza de manera rigurosamente selectiva solamente la forma L. Análogamente se comportan en general también otras clases de enzimas que han sido

experimentadas para hidrolizar una sola forma estereoisó-  
 mera, en el sentido de que si se hacen actuar sobre el  
 compuesto racémico las mismas confirman, en general, la  
 aptitud para hidrolizar de manera rigurosamente selec-  
 5 tiva una sola de las dos formas presentes en el racemo.  
 Por consiguiente, la denominación enzimas capaces de  
 hidrolizar de manera rigurosamente selectiva una sola  
 de las estereoformas presentes en el racemo - utilizada  
 en la presente descripción - comprende todas las enzimas  
 10 convencionales o nuevas que, hechas reaccionar con un  
 compuesto racemo de la fórmula indicada más adelante,  
 hidrolizan de manera rigurosamente selectiva una sola  
 de las dos formas presentes en el propio racemo. En confir-  
 mación de cuanto antecede, y si más particularmente se  
 15 considera la dihidropirimidinasa según se ha indicado ya  
 más arriba, se ha descubierto sorprendentemente que esta  
 enzima, conocida por dar curso a la hidrólisis de compues-  
 tos exentos de átomos de carbono asimétricos, es riguro-  
 samente selectiva, cuando se hace actuar sobre un material  
 20 de partida racemo, sobre solamente la forma L.

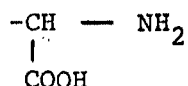
El procedimiento según la invención comprende sustan-  
 cialmente el someter a hidrólisis enzimática compuestos  
 de naturaleza heterocíclica presentando un átomo de carbono  
 asimétrico, y más particularmente el someter a hidrólisis  
 25 enzimática compuestos de la fórmula



donde X se elige de entre: CO; CS y O;

R se elige de entre hidrógeno y radicales hidrocarbúricos simples o sustituidos de hasta 8 átomos de carbono;

5  $R_1$  es un radical hidrocarbúrico residual de una molécula de aminoácido, cuando tal molécula haya sido privada del grupo



10 Más en particular, pero no limitativamente, el procedimiento de la invención es de mayor interés, por razones de conveniencia económica y práctica, cuando en la fórmula arriba indicada  $X=\text{CO}$ , por lo que la misma comprende los compuestos conocidos como idantoinas y, más específicamente todavía, aquellas sustituidas en la posición 5 (que se designarán a continuación simplemente 5-idantoinas).

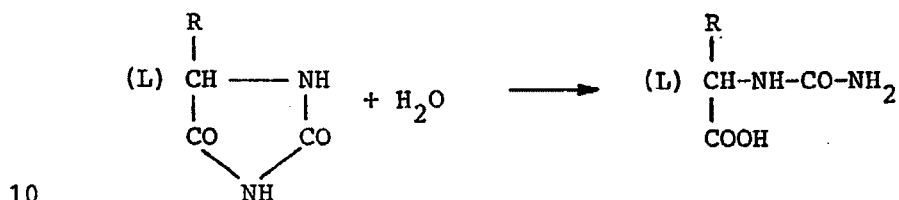
15

A fin de hacer más clara la presente invención, según se ha indicado más arriba la misma se describirá con particular referencia a las 5-idantoinas y a las sucesivas preparaciones de los correspondientes carbamil-aminoácidos y aminoácidos ópticamente activos derivados, pero ello no debe, sin embargo, interpretarse como limitación alguna del procedimiento según la invención, el cual, por el contrario, puede ser empleado para la hidrólisis de los

20

25 compuestos correspondientes a la fórmula general arriba indicada, obteniéndose finalmente de éstos los correspondientes aminoácidos. Obviamente, la hidrólisis se realiza bajo adecuadas condiciones de pH, temperatura, concentra-

ción de los participantes en la reacción, funciones de la particular reacción tomada en consideración. En lo que respecta al caso específico de las 5-idantoinas, la hidrólisis se efectúa manteniendo el pH entre 6 y 11; en efecto, a un pH inferior a 6 ó superior a 11 la reacción es muy  
 5 lenta. La hidrólisis se realiza según el esquema:



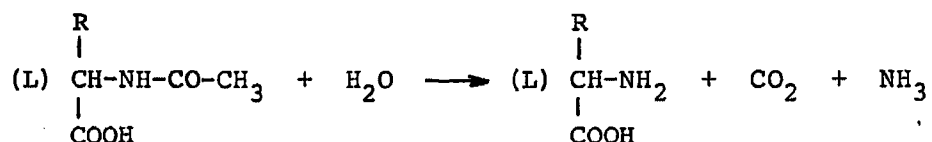
Debido a que el L-carbamil-aminoácido formado en la hidrólisis es de naturaleza ácida, para mantener el pH en el valor inicial es necesario añadir un álcali a medida que va progresando la reacción. La separación del L-carbamil-  
 15 aminoácido de la D-5-idantoina no hidrolizada puede efectuarse de diversos modos. Muy a menudo, añadiendo cuidadosamente y bajo débil agitación una cantidad de ácido preferiblemente correspondiente al álcali empleado y enfriando a 0°C se obtiene la separación de la mayor  
 20 parte del L-carbamil-aminoácido, mientras permanece en solución la D-5 idantoina.

También se ha comprobado que si las aguas conteniendo la D-5-idantoina y un poco de L-carbamil-aminoácido son llevadas a un pH superior a 7, el poder rotatorio va disminuyendo paulatinamente hasta anularse o directamente hasta  
 25 asumir un débil signo opuesto, debido a que la D-5-idantoina racemiza mientras que el L-carbamil-aminoácido permanece inalterado.

La velocidad de racemización de la D-5-idantoina es función del pH y de la temperatura, en el sentido de que la misma es tanto más rápida cuanto más elevada sea la temperatura y cuanto más se desplace el pH hacia valores más elevados que 7.

La 5-idantoina ópticamente inactiva así formada puede ser utilizada en sucesivas operaciones.

También se ha descubierto, y ello constituye otra finalidad de la presente invención, que el L-carbamil-aminoácido disuelto en agua y calentado hasta la ebullición se descompone según la reacción



El aminoácido formado puede ser aislado con un elevado grado de pureza óptica simplemente evaporando el agua bajo vacío. Los siguientes ejemplos ilustrarán mejor el procedimiento según la presente invención.

#### EJEMPLO 1

En un recipiente de 2 litros, provisto de medidor de pH y de agitador, se vierte 1 litro de una solución conteniendo 142 g de 5-isopropilidantoina llevada a un pH 8,0 mediante adición de sosa cáustica. Puesto en movimiento el agitador, se adicionan 10 cm<sup>3</sup> de una solución de dihidropirimidinasa obtenida de hígado de ternera. Simultáneamente se pone en acción un pH-stato que mantiene automáticamente constante el pH alrededor de 8,0 regulando la adición de una solución 5 normal de sosa cáustica.

La reacción, inicialmente bastante rápida, va desacelerándose a medida que se consume la L-5-isopropilidantoina.

Se deja en marcha el aparato durante toda la noche, con lo que la reacción continúa hasta que hayan sido consumidos aproximadamente 100 cm<sup>3</sup> de solución de sosa. Por la mañana se suspende la adición de sosa y se añade lentamente una cantidad de ácido clorhídrico 5-normal correspondiente a la cantidad total de hidrato sódico precedentemente empleada. Entonces empiezan a formarse cristales blancos, la separación de los cuales es completada enfriando el recipiente a 0°C durante algunas horas. Mediante filtración y lavado con 100 cm<sup>3</sup> de agua helada se obtienen 60-70 g de un producto sólido (A), las aguas de lavado (B) y las aguas madres (C) que son tratadas separadamente.

El producto sólido (A) está constituido por L-carbamilvalina húmeda con vestigios de cloruro sódico y sustancias proteicas. Con el mismo se forma una suspensión en 200 cm<sup>3</sup> de agua, que se calienta hasta su ebullición en corriente de vapor mientras se adiciona lentamente una cantidad equimolecular de HCl al 10 %. El producto se disuelve mientras se desprende anhídrido carbónico. Por evaporación bajo vacío se obtiene un residuo constituido por L-valina y cloruro amónico, del cual se aísla la L-valina de modo convencional. El producto presenta un poder rotatorio  $[\alpha]_b^{20} = -28,3$  (c = 8, HCl 6 N) y un punto de fusión de 310-315°C (en capilar cerrado).

Las aguas de lavado (B) pueden ser empleadas directamente en una operación sucesiva.

Las aguas madres (C) presentan un pH 2,5 aproximadamente y un considerable poder rotatorio por cuanto contienen la D-isopropilidantoina. Llevadas a un pH 8,5-9 y dejadas a 35-40° durante 24-36 horas pierden el poder rotatorio, debido a que la 5-isopropilidantoina racemiza. Las mismas son entonces llevadas a un pH 7 mediante adición de ácido clorhídrico y evaporadas bajo vacío hasta estar secas. El residuo sólido vuelve a ser disuelto en agua a 60°C y filtrado. La solución contiene, además de cloruro sódico, aproximadamente 70 g de 5-isopropilidantoina y 10-20 g de L-carbamilvalina en forma de su sal sódica. Esta solución, después de la adición de 72 g de 5-isopropilidantoina, puede ser utilizada para una sucesiva operación. El procedimiento según la invención resulta todavía más económico y ventajoso si se emplea la enzima en forma insolubilizada mediante una cualquiera de las técnicas empleadas para la insolubilización de las enzimas, tales como por ejemplo la técnica de anclaje químico de las enzimas a soportes o las técnicas de protección de las propias enzimas comprendiendo el englobamiento de las mismas en estructuras fibrosas. Ello permite, en efecto, trabajar con soluciones que no contengan proteínas y hace más fácil las separaciones, la purificación del producto y el reciclado de la 5-idantoina no transformada.

#### 25 EJEMPLO 2

Se prepara 1 litro de solución conteniendo:

- a) 500 cm<sup>3</sup> de aguas madres de una precedente operación, tratadas según se indica a continuación;

- b) 57 g de 5-metilidantoina sintética;
- c) agua destilada e hidrato sódico en la cantidad suficiente para obtener 1 litro de solución con un pH 8,5.

5 En una columna de vidrio se introducen 60 g húmedos de fibra de triacetato de celulosa, en la cual han sido englobados  $60 \text{ cm}^3$  de una solución de dihidropirimidinasasa empleando la técnica descrita en la Patente italiana Nº 836.462.

10 La solución mantenida a  $35^\circ$  es aspirada con una bomba del recipiente en el cual estaba contenida, es hecha pasar sobre la fibra, a través de la columna, y es nuevamente enviada al recipiente. El recipiente está provisto de agitadores y pH-stato. El pH es mantenido a 8,5 mediante empleo de una solución de hidrato sódico 5-normal. El  
15 consumo de sosa va disminuyendo a medida que la reacción progresa y se para prácticamente después de un consumo total de aproximadamente  $100 \text{ cm}^3$ .

20 La solución es recogida en el recipiente y, bajo débil agitación, se adiciona ácido clorhídrico 5-normal en una cantidad correspondiente a la sosa precedentemente empleada.

El recipiente es mantenido a  $0^\circ\text{C}$  durante algunas horas, y luego se filtra la L-carbamil-alanina cristalizada (A), la cual se lava repetidamente con  $100 \text{ cm}^3$  de agua helada.

25 Las aguas de lavado (B) y las aguas madres (C) son recogidas y conservadas separadamente. La L-carbamil-alanina es disuelta en  $200 \text{ cm}^3$  de agua, la solución es calentada hasta la ebullición mientras se adiciona lentamente una

cantidad equimolecular de HCl al 10 %, y luego secada bajo vacío. Se obtiene de este modo un residuo constituido por L-alanina y cloruro amónico, del cual se aísla la L-alanina de modo convencional.

5 Las aguas madres (C), llevadas a un pH 8,5 después de conservación a 30-35°C durante 48 horas, resultan prácticamente exentas de poder rotatorio. Las mismas son llevadas a un pH 7 con ácido clorhídrico y concentradas bajo vacío hasta un volumen de aproximadamente 100 cm<sup>3</sup>, con lo  
10 que se obtiene la separación de cloruro sódico. Se filtra a 60°C aproximadamente y se lava el precipitado con 10-20 cm<sup>3</sup> de una solución saturada de cloruro sódico calentada a 60°C. El residuo sobre el filtro está constituido por cloruro sódico prácticamente puro. El producto filtrado  
15 y la solución de lavado, reunidos en las aguas de lavado (B), son llevados a 500 cm<sup>3</sup> con agua destilada y utilizados en una sucesiva operación.

El empleo de enzimas insolubilizadas permite también efectuar la transformación prácticamente total de la  
20 5-idantoina en L-carbamil-aminoácidos en una sola operación por cuanto es posible hacer que se produzca la racemización de la D-5-idantoina a medida que va consumiéndose la L-5-idantoina.

### EJEMPLO 3

25 Se disuelven en agua 556 g de 5-metilidantoina sintética y se adicionan agua e hidrato sódico hasta alcanzar un volumen de 2 litros con un pH 8,5. Con referencia a la Fig. 1 del dibujo adjunto, aproximadamente la mitad

de esta solución es colocada en un recipiente A que contiene 50 g de fibra conteniendo dihidropirimidinasa preparada según se ha descrito en el Ejemplo 2. La fibra está contenida en un cestito anular de red metálica de malla  
5 tupida cerrado incluso por su parte superior. El recipiente A está provisto de agitador, pH-stato, y de un rebo-  
sadero que conduce el líquido rebosante a otro recipiente B, también éste provisto de agitador y pH-stato. El reci-  
piente B está dotado de una descarga de fondo conectada  
10 a una bomba peristáltica C adaptada para transferir el  
líquido del recipiente B al recipiente D dispuesto por  
encima del recipiente A, provisto también éste de un  
rebosadero.

La solución que no cabe en el recipiente A es intro-  
15 ducida en el recipiente B y llevada mediante hidrato sódico  
a un pH 9,5. Se ponen en movimiento la bomba C, los agita-  
dores y los pH-statos, uno de los cuales, asociado a A,  
mantiene el pH a 8,5 y es alimentado con el líquido a  
pH 9,5 contenido en D, en tanto que el otro pH-stato, asocia-  
20 do a B, mantiene el pH a 9,5 y es alimentado con una solu-  
ción 5-normal de sosa cáustica.

Los recipientes A y B son mantenidos a la temperatura  
de 35°C.

A medida que se va desarrollando la reacción, el lí-  
25 quido pasa de D a A, donde se forma L-carbamilalanina,  
y desde éste a B, donde por acción del pH más elevado  
la D-5-metilidantoina en exceso racemiza con suficiente  
rapidez.

La reacción se deja proseguir hasta que se hayan consumido aproximadamente  $780 \text{ cm}^3$  de NaOH 5-normal, después se suspende la adición de sosa cáustica y se deja proseguir la reacción durante 3-4 horas, con lo que el pH en el recipiente B va gradualmente disminuyendo.

Toda la solución es luego recogida en un único recipiente en el cual se añade, bajo débil agitación y lentamente, ácido clorhídrico concentrado en una cantidad correspondiente al total de la sosa cáustica empleada. Comienza así a cristalizar abundantemente la L-carbamilalanina, siendo favorecida esta separación mediante enfriamiento de todo el conjunto hasta la proximidad de  $0^\circ\text{C}$  y manteniéndolo así durante algunas horas.

El producto cristalizado separado por filtración, lavado con poca agua a  $0^\circ\text{C}$ , contiene aproximadamente 480 g de L-carbamil-alanina impura a causa de agua y vestigios de cloruro sódico.

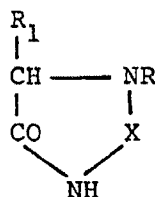
Ulteriores cantidades de producto pueden ser obtenidas mediante adecuado tratamiento de las aguas madres y de lavado.

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de ponerlo en práctica, se hace constar que todo cuanto no altere, cambie o modifique su principio fundamental puede quedar sometido a variaciones de detalle, siendo lo esencial y por lo que se solicita Patente de Introducción, por diez años, lo que queda resumido en las siguientes reivindicaciones:

REIVINDICACIONES

1ª.- Procedimiento para la preparación de L-carbamil-aminoácidos y de los correspondientes L-aminoácidos, y más particularmente para la preparación de una sola de las dos formas estereoisómeras de carbamil-aminoácidos y eventual sucesiva preparación del estereoisómero formado del correspondiente aminoácido, caracterizado porque comprende las etapas de:

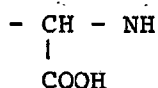
- a) someter a hidrólisis un compuesto racemo de fórmula general



donde X se elige de entre CO, CS y O;

R se elige de entre hidrógeno y radicales hidrocarbúricos de hasta 8 átomos de carbono;

R<sub>1</sub> representa el resto de una molécula de un aminoácido cuando ésta es privada del grupo



realizándose dicha hidrólisis en presencia de una enzima que actúa sobre el compuesto racemo hidrolizando de manera rigurosamente selectiva una sola de las formas ópticamente activas;

- b) separar del producto de la hidrólisis la sola forma estereoisómera producida;

B

- c) utilizar la otra forma sometiéndola en forma de solución a una racemización, operando sobre la temperatura y sobre el pH;
- d) reciclar el compuesto racemo a fin de someterlo a la acción de una enzima capaz de actuar sobre una sola de las formas ópticamente activas; y
- e) convertir el carbamil-aminoácido estereoisómero, obtenido por hidrólisis enzimática, en el correspondiente aminoácido.

10            2<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1<sup>a</sup>, caracterizado porque la enzima se elige de entre aquellas convencionales conocidas por ser capaces de hidrolizar compuestos de la misma clase pero exentos de átomos de carbono asimétricos.

15

              3<sup>a</sup>.- Procedimiento según la reivindicación 1<sup>a</sup> y/o la reivindicación 2<sup>a</sup>, caracterizado porque como X se elige CO, con lo que los compuestos sometidos a la hidrólisis son idantoinas sustituidas en posición 5; porque como enzima se utiliza una enzima capaz de actuar sobre los compuestos racemos hidrolizando de manera rigurosamente selectiva sólo la forma L, y particularmente una enzima de la clase de las enzimas convencionales conocidas por ser capaces de hidrolizar idantoinas exentas de átomos de carbono asimétricos; porque se separa la forma L obtenida y se somete la forma D restante a racemización, operando en solución acuosa a temperatura eventualmente superior a la

25  
26


temperatura ambiente y a un pH superior a 7, preferiblemente superior a 8, y porque se somete finalmente el producto racemizado a hidrólisis enzimática.

5           4<sup>a</sup>.- Procedimiento según una o varias de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque en las etapas en las que se utilizan enzimas éstas se emplean en forma de enzimas fijadas a un soporte o insolubilizadas en una estructura de soporte preferiblemente fibrosa.

10           5<sup>a</sup>.- Procedimiento según una o varias de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque los L-carbamil-aminoácidos son transformados en los correspondientes L-aminoácidos por simple calentamiento de los primeros en solución acuosa y adición gradual de una cantidad equimolecular de un ácido.

15           6<sup>a</sup>.- Procedimiento según una o varias de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la racemización del compuesto de estructura D no hidrolizado se efectúa sin previa separación del producto de estructura L procedente de la hidrólisis.

20           7<sup>a</sup>.- Procedimiento según una o varias de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la racemización del compuesto de estructura D se efectúa simultáneamente con la hidrólisis enzimática.



8ª.- Procedimiento según una o varias de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque como enzima se emplea la dihidropirimidinasa extraída de hígado de ternera.

5            9ª.- PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE L-CARBAMIL-AMINOACIDOS Y DE LOS CORRESPONDIENTES L-AMINOACIDOS,

tal y como queda descrito y reivindicado en la presente memoria que consta de dieciocho hojas mecanografiadas por una sola cara y de una lámina de dibujos.

BARCELONA, 10 de Junio de 1977.

SNAMPROGETTI S.p.A.  
P.P.

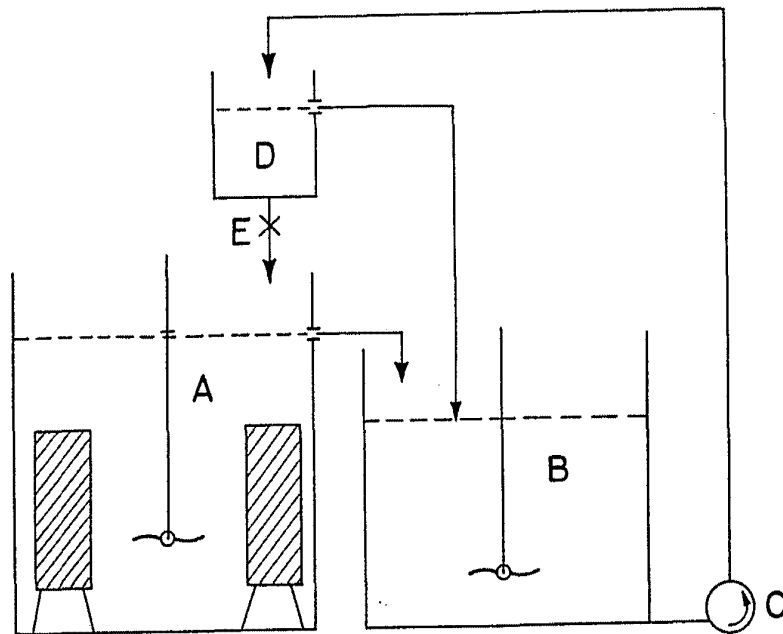
J. M. GOMEZ-ACEBO Y POMBO  
p. p. Fdo. J. M. Valentín-Fernández

*Valentín*

*40*

ESQUEMA

Fig.1



BARCELONA, 10 de Junio de 1977  
SNAMPROGETTI S.p.A.  
P. P.

J. M. GOMEZ-ACEBO Y POMBO  
p. p. fdo. J. M. Valentin-Fernández

*Valentin*