

PRIMER CERTIFICADO DE ADICION

Case 5.



188846

1946

MEMORIA DESCRIPTIVA

sobre:

"Mejoras introducidas en el objeto de la patente
"principal nº 179.398 concedida en 5 de septiembre de
"1947, por "PERFECCIONAMIENTOS EN LA PREPARACION DE MEDIOS
"O CALDOS DE CULTIVO Y DE PRODUCTOS ANTIBIOTICOS".

SOLICITANTE: ALFRED DINSLEY, domiciliado en 4442 Union Street,
La Cañada, Estado de California, Estados Unidos de
America.

===

- La presente invención se refiere a un nuevo y perfeccionado producto químico destinado a la propagación de varios hongos parásitos y se relaciona más especialmente con la obtención de un nuevo producto de complejo químico
5. en una nueva forma cristaloides que no requiere conservación especial. Abarca igualmente la invención el conseguir un nuevo y perfeccionado medio de cultivo por propagación y desarrollo de micro-hongos que dan lugar a un nuevo agente químico.
 10. Aun cuando no con carácter limitativo, la invención se refiere más especialmente a la producción de nuevos agentes de complejos químicos que se propagan por el "penicillium" tipos de micro-hongos "Streptomyces" y



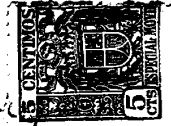
15. "Aspergillus" tales como el "Penicillium glaucum" ,
 "Penicillium notatum" , "Streptomyces griseus" , "Streptomyces flavus" y "Aspergillus niger" , o variantes de las mismas, propagándose el micro-hongo ya sea solo o en combinación. Al llevar a la práctica la invención se producen nuevos agentes químicos complejos de los antedichos
 20. micro-hongos.

Estos productos químicos valiosos y perfeccionados objeto de la presente invención se mencionan en todos los estudios filosóficos en los que los conocidos productos finales "Penicillium", "Streptomyces" y
 25. "Aspergillus" propagados en cristaloides se emplean al presente.

La invención abarca asimismo y establece un nuevo complejo perfeccionado que comprende los productos finales que resultan de la propagación de dos o más micro-hongos en el nuevo medio de cultivo del presente invento, de modo que el producto complejo final es eficaz, en su reacción , debido al hecho de que ofrece un campo para estudio en la ciencia de la bacteriología.
 30.

De análoga manera , la invención comprende un nuevo procedimiento para la producción de sustancias químicas de la naturaleza que queda expresada anteriormente.
 35.

Es bien conocido que organismos vegetativos tales como las royas, los tizones, los mildews, mohos y sus análogos, son práctica y completamente parásitos , y aparentemente absorben las sustancias alimenticias para el crecimiento o desarrollo de un "huésped" y/o sustancia nutritiva. Se ha indicado también que, los productos finales de tal crecimiento y desarrollo de un "huésped" y/o sustancia nutritiva tienen un amplio campo de
 40. utilidad en estudios filosóficos e investigaciones.
 45.



- Para desarrollar la obtención de tales productos se han empleado la propagación de micro-hongos, tales como royas, tizones, mildews, mohos y sus similares, ciertos "huésped" y/o medio de cultivo nutritivo, siendo acostumbre
50. para preparar tal medio de cultivo efectuar la propagación de royas, tizones, mildews, mohos y sus similares, empleando separadamente o en combinación, materias conocidas tales como los azúcares, dextrosa, glucosa, agua, extracto de malta, sales minerales y sus análogos.
55. De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que, pueden obtenerse agentes químicos más eficaces y/o complejos químicos de micro-hongos parásitos añadiendo en el conocido medio de cultivo un pequeño porcentaje de clorofila, añadiendo a tal cultivo medio
60. clorofilado el seleccionado micro-hongo y luego propagando y desarrollando el micro-hongo en este cultivo medio clorofilado y sometiendo la mezcla a fotosíntesis por exposición a la luz, ya sea luz natural o a luz emitida por radiaciones infra-rojas u otra fuente de radiación
65. de luz predeterminada o fuente similar.
- La clorofila es la materia colorante verde que existe en plantas vivas y está presente en la mayor parte de las células vegetales desarrolladas. En el desarrollo de las plantas, está constituida por lo menos por dos
70. pigmentos, a saber: clorofila A ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) y clorofila B ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$). Estos dos materiales se emplean ahora como compuestos químicos definitivos aislados, químicamente inalterados y físicamente no adulterados. También se conocen varios derivados acuosolubles definitivos
75. de clorofila, tal como clorofilina sodio-magnesio ($C_{34}H_{31}O_6N_4MgNa$) y clorofilinas sodio-hierro y sodio-cobre. Se comprenderá que el término clorofila, tal y como se



80. emplea en el curso de esta memoria, debe entenderse como genérico que cubre tanto la clorofila A y la clorofila B así como los varios derivados acuo-solubles de clorofila, tales como la clorofilina.

85. Se comprenderá también perfectamente que la clorofila empleada en la ejecución práctica de la presente invención, es un compuesto previamente formado, aislado, inalterado químicamente y físicamente no adulterado, tales como los que existen en el desarrollo de plantas vivas. Dicho en otras palabras, la clorofila que ha de emplearse debe distinguirse de un modo definitivo del tipo de clorofila que se altera químicamente y/o se adultera físicamente, que son productos de degeneración y/u oxidación que resultan después que la planta desarrollada viva se siega y se seca. La planta desarrollada segada y seca que contiene tal clorofila oxidada o degenerada, es completamente diferente de la clorofila empleada en el presente procedimiento habiendo

90. invariablemente presentes productos de tipo cumarina en el desarrollo de los vegetales degenerados. Estos productos degenerados son inactivos e ineficaces en la producción del producto químico de la naturaleza perseguida por la presente invención.

100. Cuando se añade clorofila activa, preferentemente en forma acuosoluble, el medio de cultivo en el que se está desarrollando la proporción deseada de moho o su similar, el producto cristaloides final, que es el agente complejo químico, manifiesta mas propiedades que las manifestadas

105. en una proporción similar de moho propagada en una base de cultivo medio similar, pero sin clorofila, y si bien tiene lugar la exacta reacción, no sucede al tiempo presente, bien entendido, que se ha establecido de un modo definitivo a través de ensayos de laboratorio que la actividad de



110. agentes químicos complejos propagados en medio de cultivo clorofilado es considerablemente mayor que la de aquellos agentes químicos propagados en un cultivo medio no clorofilado.

115. Al propagar hongos para producir los agentes químicos complejos perfeccionados objeto de la presente invención, se emplea un procedimiento muy sencillo. Se establece cualquier cultivo medio de desarrollo conocido constituido por azúcar, dextrosa, lactosa, glucosa, extracto de malta, sales minerales y sus similares, o una mezcla de las mismas y a este medio de cultivo conocido se añade de 1 a 3% de clorofila acuosa soluble.

120. Para citar un ejemplo, sin salirse del área de la invención, un medio de cultivo está constituido por : 5 a 7% de solución acuosa de jarabe de malta (U.S.P.

125. Dispensatory, 23rd. Edition) que contiene 0,05% a 0,1% de cloruro sódico y 1 a 45 de clorofilina sodio-magnésica. Al jarabe de malta puede sustituir cualquier materia carbohidratada nutritiva equivalente, la dextrosa, azúcares, lactosa y su similar y el sulfuro sódico pueden ser sustituidos por el cloruro sódico. También puede incorporarse gelatina en el medio de cultivo.

130. Esta mezcla de medio de cultivo se esteriliza después durante un periodo de 2 a 3 minutos. Debe hacerse constar encarecidamente que la esterilización es un procedimiento crítico en el que el exceso de calor destruiría la actividad y eficacia de la clorofila. Por consiguiente, al prepararse el medio de cultivo debe tenerse muchísimo cuidado de que nunca se caliente o hierva el medio que contiene la clorofila durante un periodo de más de tres minutos. Por consiguiente, según se viene empleando el término "clorofila activa" se quiere dar a entender una

135. 140.



- clorofila cuya actividad y eficacia no han sido destruidas por calor o por otros medios. Después de haber esterilizado el medio de cultivo se le deja enfriar en frascos o
145. recipientes adecuados equipados con un dispositivo de cierre acuoso estéril y el micro-hongo seleccionado tal como "Penicillium glaucum", "Streptomyces griseus" o "Aspergillus niger" o sus mezclas, así como variantes de estos micro-hongos especiales o mezclas de los mismos.
150. Los micro-hongos se introducen en el medio de cultivo y la mezcla se conserva a unos 75 grados F., aproximadamente. El desarrollo y propagación tiene lugar con luz, y/o radiación de luz hasta que cesa el bióxido de carbono que será durante unos 5 a 7 días. Puesto que los recipientes v
155. tán equipados de aparatos de cierre-acuoso que a su vez v
- vá tapado con algodón esterilizado para asegurar que el desarrollo del micro-hongo está protegido de toda contaminación, no es difícil averiguar cuando cesa la evolución de bióxido de carbono en la práctica.
160. La mezcla exhausta se centrifuga después o se filtra a través de carbón de leña activado o de carbón mineral activado y el filtrado se acidula añadiendo ácido clorhídrico (U.S.P. 33%-37%) para dar un contenido ácido de 2%. Después de ligera agitación, se deja reposar el
165. líquido durante una hora. Después se efectúa la neutralización añadiendo U.S.P. amoniaco acuoso (28% - 29%) después de lo cual el producto final se cristaliza, por consiguiente, de cualquier modo deseable o conveniente, por ejemplo en recipientes calentados a unos 150-175
170. grados F.

Según queda expresado anteriormente, cualesquiera de los antedichos micro-hongos específicos pueden ser propagados por el medio de cultivo clorofilado, ya sean solos

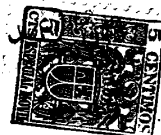


o combinados con otros micro-~~hongos~~.

175. Para preparar los cuerpos cristaloides obtenidos del modo antes indicado, para emplearlos en investigaciones fisiológicas, se emplean materiales para tamponar el material. Esto se efectúa, preparando primeramente lo que puede llamarse un cuerpo plasmático artificial,
180. formando una solución acuosa de 1% de gelatina U.S.P. a la que se ha añadido una solución de yoduro de plomo coloidal no tóxico, de 0.05%. La mezcla se acidula entonces añadiendo 0.1% de ácido clorhídrico U.S.P. aprovechándose así los cuerpos amino-ácidos. Para proteger
185. la solución coloidal de proteína se añade entonces 0,5% de fenol U.S.P. y 1% de clorofila acuosoluble. Para tamponar esta solución compleja, se añade 0,1% de sulfato de oxiquinolina y finalmente se añade el agente complejo antibiótico producido del modo anteriormente descrito,
190. ajustándose las proporciones para que den por cada centímetro cúbico de la solución de tampón compleja, 3 miligramos del nuevo material cristalino. En lugar de añadir el sulfato de oxiquinolina a la solución de gelatina, como se ha dicho anteriormente, se puede añadir al
195. medio de cultivo agotado inmediatamente después de filtración y/o de centrifugación.

N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica,
200. debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de ligeras modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental, siendo lo que constituye la esencia de dicho invento y por lo que se solicita PRIMER CERTIFICADO DE ADICION, en España,
205. "Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal



nº 179.398 concedida en 5 de septiembre de 1947, por "PERFECCIONAMIENTOS EN LA PREPARACION DE MEDIOS O CALDOS DE CULTIVO Y DE PRODUCTOS ANTIBIOTICOS"; caracterizándose dichas mejoras por lo siguiente:

210. 1º.= Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal, caracterizadas porque se propaga un microhongo en un medio de cultivo que contiene un carbohidrato nutritivo y una clorofila activa previamente formada, aislada, inalterada químicamente y físicamente no adulterada.
215. 2º.= Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal caracterizándose porque se propaga "Penicillium glaucum" en un medio de cultivo que contiene un carbohidrato nutritivo y clorofila activa, previamente preparada, aislada químicamente inalterada y físicamente no adulterada.
220. 3º.= Mejoras en el objeto de la patente principal, caracterizadas porque se propaga "Streptomyces griseus" en un medio de cultivo que contiene un carbohidrato nutritivo y una clorofila activa previamente preparada, aislada inalterada químicamente y no adulterada físicamente.
225. 4º.= Mejoras en el objeto de la patente principal, caracterizándose porque se propaga "Aspergillus niger" en un medio de cultivo que contiene un carbohidrato nutritivo y clorofila activa, previamente preparada, aislada, químicamente inalterada y no adulterada físicamente.
230. 5º.= Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 179.398 concedida en 5 de septiembre de 1947, por "PERFECCIONAMIENTOS EN LA PREPARACION DE MEDIOS O CALDOS DE CULTIVO Y DE PRODUCTOS ANTIBIOTICOS"; tal y como queda substancialmente descrito en la presente memoria, que consta de ocho hojas escritas por una sola cara.

Madrid, 30 de junio de 1949.

ALFRED DINSLEY.
Por Poder de J. GOMEZ ACEBO