



29 AGO. 1967

PATENTE DE INVENCIÓN

SN 525.300  
SN 598.921/IV

344590

344590

*Memoria Descriptiva*

*sobre:*

"PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE UNA COMPOSICIÓN VETERINARIA  
PARA EL CONTROL DE LA HISTOMONIASIS".-

-----

*Solicitante:* SALSBERY LABORATORIES, entidad norteamericana, residente en 500 Gilbert Street, Charles City, Iowa, EE.UU. de A.

-----

Este invento se refiere a un procedimiento para la obtención de una composición veterinaria para el control profiláctico y curativo de las infecciones de Blackhead.

5. Blackhead es una enfermedad gastrointestinal

344590



29 AGO. 1967

- que se presenta en pavos de todas las edades puede afectar también una gran variedad de otras especies aviarias, por ejemplo pollos, gallinas de Guinea, codornices, pavos reales y faisanes. En la veterinaria se
5. la conoce como Histomoniasis o Enterohepatitis Infecciosa, en vista de sus síntomas clínicos que se manifiestan en una inflamación del ciego y el hígado. El factor etiológico del mal es un protozoario flagelado microscópico identificado como Histomonas Meleagridis.
  10. Este parásito generalmente está alojado en la lombriz cecal aviar común Heterakis gallinarum, y en sus huevos, en los que puede sobrevivir por mucho tiempo. Esta es, principalmente, la fuente de infección responsable de la transmisión de la enfermedad.
  15. Los pájaros contraen la enfermedad al consumir alimentos o agua contaminados por heces que contienen el organismo infeccioso, o al tragarse las lombrices cecales o sus huevos que contienen el parásito. Las manifestaciones clínicas del morbo son la cabeza
  20. baja, alas y cola colgantes, sopor, plumas desordenadas, embotamiento, pérdida de apetito, diarrea persistente de color amarillo o amarillento, y un ligero descenso de la temperatura. En general, los pollitos jóvenes están expuestos a una infección rápida y un transcurso
  25. de corta duración, y sucumben poco después de aparecer los primeros síntomas. Los pájaros adultos generalmente sufren la enfermedad por espacio de algunos días antes de morir, y muestran un adelgazamiento y consunción excesivas. La sección post-mortem expone úlceras
  30. múltiples y lesiones de la pared cecal, formando nú-



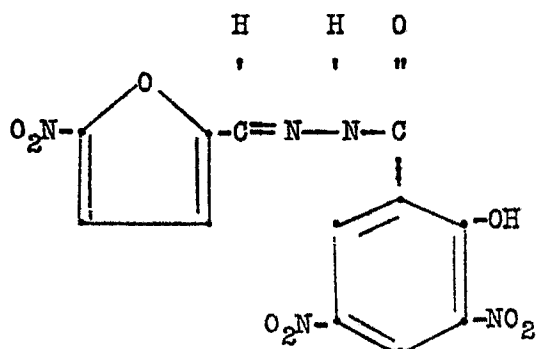
344590

5. cleos verde-amarillentos en el ciego. Presentan un olor pútrido, desagradable, que es el resultado de la destrucción de tejidos. Las lesiones del hígado varían desde muchas irregulares, grises o enrojecidas, hasta áreas necróticas extensas. En casos avanzados, el peritoneo y los tejidos mesentéricos pueden estar interesados.

10. La prognosis de la enfermedad, especialmente en pavos, es especialmente poco favorable. La mortalidad es alta, y puede alcanzar hasta 100% de la bandada. Las pérdidas más graves corren durante los primeros tres meses de vida, pero no están limitadas a dicha edad. Se observa con frecuencia un brote de la enfermedad durante la época de cría. En algunas regiones, marcadas por grandes precipitaciones y estaciones de crecimiento húmedas, como el Este y el Medio-Oeste (de los EE.UU.), los daños de tipo epizótico han sido tan extensos que obligaron una vez al abandono temporario de este tipo de avicultura.

20. En nuestra Solicitud Española nº 338.126 se indicaba un nuevo tipo de compuestos heterocíclicos que posee una actividad específica y potente contra el factor patogénico de la Histomoniasis. El compuesto es un derivado del 5-nitrofurfural, en el que el oxígeno carbonílico del 5-nitrofuraldehído se sustituye con hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico, para formar la 5-nitrofurfuriliden-hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico, representada por la configuración siguiente:

344590



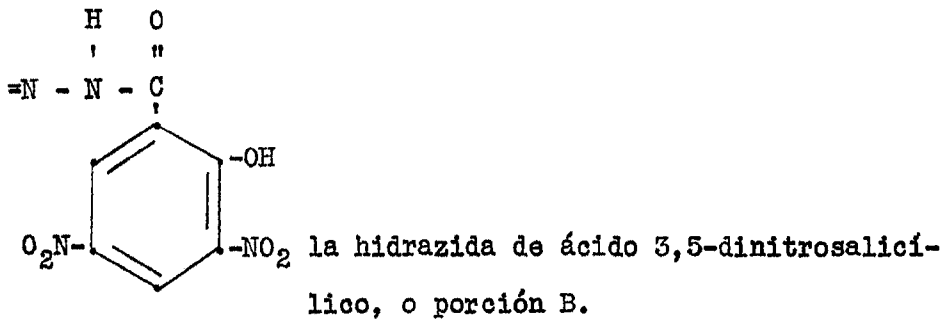
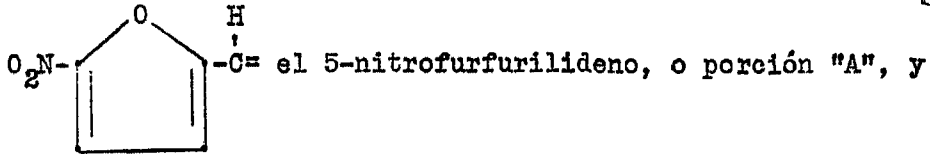
Por razones de conveniencia, se convino en designar al citado compuesto por la denominación NFSH. Este compuesto es un sólido amarillo, cristlino, inodoro, con punto de fusión aproximado de 227° a 229°C.

5. En NFSH se puede preparar, según se indica en nuestra solicitud española N° 336.533, haciendo reaccionar hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico con compuestos de 5-nitrofurfural cuyos substituyentes en la posición 2 tengan capacidad reactiva al ponerse
10. en contacto con la hidrazida, para formar un derivado de hidrazona con la estructura general  $\begin{matrix} \text{H} & \text{N} \\ | & | \\ -\text{C} & -\text{N}-\text{N}- \end{matrix}$ . Más particularmente, se indicaba en la citada solicitud un procedimiento de obtención del NFSH mediante interacción de hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico
15. con 5-nitrofurfural, o con sus derivados inferiores acilos o acetilos.

Hemos descubierto ahora que la actividad histomocida del NFSH se puede conseguir igualmente si se lo genera dentro del sistema metabólico por formación anabólica a partir de sus precursores. Como se

20. observará en la configuración estructural arriba indi-

cada, el NFSH se compone de dos mitades estructurales, a saber



con lo cual el efecto quemoterapéutico del NFSH puede inducirse por administración simultánea oral o parenteral de hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico y 5-nitrofuraldehído o diacetato de 5-nitrofurfurilideno.

10. Por lo tanto el objeto de la presente invención se encamina al control de la Histomoniasis en aves mediante administración a las mismas de hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico y 5-nitrofuraldehído o diacetato de 5-nitrofurfurileno.

15. El diacetato de 5-nitrofurfurilideno, es un compuesto conocido en la especialidad, y se lo puede sintetizar a partir de furfural, ácido nítrico y anhídrido acético como lo describen Gilman y Wright, en el JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, Vol. 52

344590



(1930), pags. 2550-54. La hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico se obtiene fácilmente a partir de un éster del ácido 3,5-dinitrosalicílico y de hidrazina, según el método clásico de amonólisis.

20 AGO. 1967

5. La formación "in vivo" del NFSH a partir de 5-nitrofuraldehído o hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico se probó mediante el siguiente experimento:

EJEMPLO 1

10. Se mantuvieron dos pavos de cinco semanas sin alimento por espacio de una noche. A uno de ellos se le administró una sola dosis oral de una mezcla de 0,25 gr de 5-nitrofuraldehído y 0,47 gr de hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico, incluida en una cápsula de gelatina. El otro recibió una dosis doble de esta mezcla. Tres horas después de la administración de dichos compuestos precursores, se tomaron muestras de las heces de cada pájaro, y se las analizó por cromatografía de lámina delgada. Como disolvente de desarrollo se empleó una combinación de cloroformo y metanol en proporción de 2:1. El pavo que recibió la dosis doble fué sacrificado 5 horas después de la medicación, y se recogieron muestras de flúidos y sólidos del proventriculus, ventriculus, duodeno, íleon y bilis. Estos especímenes, así como los excrementos del otro pájaro recogidos 24 horas después de la medicación, se examinaron por cromatografía. Para confirmar la identidad de la mancha supuesta, los especímenes de bilis y excrementos se cromatografiaron en dos sistemas disolventes diferentes, uno de ellos una mezcla de 99 partes de etanol y 1 parte de amoníaco, y el
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.

344590



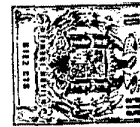
5. otro una mezcla por parte iguales de cloroformo y ácido acético. Los componentes separados se visibilizaron por aspersion de la placa con una solución de 0,10% de p-dimetilaminocinnamaldehido y 20% de tricloruro de titanio.

10. El examen cromatográfico de las heces recogidas 3 horas después de la administración de los antedichos precursores del NFSH reveló una mancha en la placa, cuyo valor  $R_f$  correspondía al de NFSH = 0,88 en el sistema disolvente  $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). La reacción de los excrementos en mezcla con NFSH sintética en la misma placa se acentuó por un enriquecimiento de la mezcla supuesta, indicando la presencia de NFSH dentro de un plazo inferior a las tres horas.

15. El análisis cromatográfico de especímenes de varios niveles del tracto intestinal demostró también la presencia de NFSH en el ventriculum, íleon y bilís.

20. Los cromatogramas de bilís, ventriculum y especímenes excretorios en otros disolventes confirmaron la formación in vivo de NFSH. Los cromatogramas desarrollados 24 horas después de la administración, revelaron rastros apenas identificables de NFSH.

25. Para los propósitos de esta especificación, el efecto quemoterapéutico de los precursores sinérgicos del NFSH se ilustrará en su aplicación contra Histomonas meleagridis en pavos, para los cuales están especialmente adaptados. Su acción medicamentosa se ha demostrado en términos de supresión de síntomas clínicos y reducción de porcentajes de mortali-
- 30.



dad en aves artificialmente infectadas.

29 AGO. 1967

De acuerdo al invento, los ingredientes activos pueden introducirse en el organismo animal de cualquier modo o manera en que sean capaces de formar y/o aumentar y man-

5. tener un nivel efectivo de NFSH en sangre o tejidos. Esto puede conseguirse ya por administración oral o por administración parenteral en niveles de dosificación adecuados.

10. La administración parenteral se lleva a cabo preferiblemente por la vía peritoneal en suspensión en un medio de suspensión conveniente no tóxico, tal como carboximetil-celulosa, en el 12º día después de la inoculación artificial. La administración oral puede efectuarse por dosificación aislada en cápsulas de gelatina, o por incorporación de las drogas activas en un vehículo ingestible sólido, no tóxico, en el que están dispersadas en forma homogénea y uniforme. Vehículos no activos de tipo ingestible son cualquier clase de material de alimento vegetal, tal como maíz molido,
15. alimento de maíz, grano de destilador secado, alimento cítrico, grano ordinario, masa, salvado o cualquier otra ración normal o comercial. Las raciones de alimento así medicadas se disponen ante las aves para ser consumidas "ad libitum". La droga puede también usarse como
20. ingrediente activo en composiciones líquidas que se preparan convenientemente con agua potable, en la que se suspende con ayuda de leche descremada, aceites comestibles, jarabes, agentes humectantes y emulsificadores.

25. Administrado por vía parenteral, la reducida
30. cantidad de 50 mg de NFSH dió lugar a un porcentaje

344590



29 AGO. 1967

de supervivencia de 100%, mientras que fué necesario, por lo menos, administrar una cantidad doble de cada precursor para dar lugar a una respuesta quemoterapéutica a una inyección concurrente "in pari situ".

5. El tratamiento oral por unidades aisladas de dosificación se aplica similarmente en el 12º día después de la infección, y requiere un mínimo de 50 mg de NFSH, y el doble de esta cantidad de cada precursor, administradas simultáneamente.

10. En los alimentos, las proporciones activas de la mezcla de precursores comienzan al nivel aproximado de 0,01% para cada uno de los componentes sinérgicos.

#### EJEMPLO 2

15. Se crió un número dado de pavipollos de la raza "BROAD BREASTED BRONZE" en jaulas de fondo de alambre dentro de cuartos de cría. A la edad de aproximadamente 6 semanas, se los colocó en jaulas individuales con fondo de tela fuerte, donde permanecieron 2 ó 3 días. Este período de aislamiento les permitió acostumbrarse al nuevo medio ambiente, antes de comenzar los experimentos. El grupo se dividió a continuación en dos grupos de igual número, uno de los cuales se puso bajo medicación en el mismo día de la infección, quedando bajo mediación por espacio de 21 días, mientras que el otro grupo infectado quedó sin tratamiento, para servir de control. Se suministró a los pájaros, para su ingestión ad libitum, raciones de alimento medicado. Los pájaros se mantuvieron bajo observación por espacio de 7 días después de la medicación, para determinar la extensión de posibles re-

20.

25.

30.

344590



29 AGO. 1967

caídas.

- La infección artificial se llevó a cabo por administración de aproximadamente 1.000 huevos germinados de la lombriz cecal aviar Heterakis gallinarum. Durante todos los experimentos, se mantuvieron listas de control de peso y de ingestión de alimento para cada pavipollo bajo exámen. Se observó asimismo que, a los niveles de dosificación administrados, el ingrediente activo no tenía ningún efecto de detrimento sobre el crecimiento y aumento de peso naturales de las aves.
- 5.
- 10.

- Los resultados de las pruebas se han tabulado en las tablas siguientes. La columna I anota los compuestos aplicados; la columna II el número de pavos empleados en cada prueba; la columna III indica los niveles de dosificación empleados; la columna IV indica la incidencia clínica en términos del número de aves que mostraron síntomas de la enfermedad. Estos valores se traducen en la columna V que indica la eficacia clínica en términos de porcentaje; la columna VI da el porcentaje de supervivencia en términos del número de aves sobrevivientes, que se traduce en la columna VII en eficacia de supervivencia en porcentaje.
- 15.
- 20.

- 11 344590



T A B L A I

Tratamiento de dosificación aislada (parenteral)

<u>Compuesto</u>	<u>Nº de Pavos</u>	<u>Dosis en mg</u>	<u>Inciden- cia Clí- nica Nº</u>	<u>Eficacia Clínica %</u>	<u>Mortali- dad Nº</u>	<u>% de supervi- vencia</u>
	4	Control les in- fectados	4	0	3	25
diacetato de 5-nitro- furfurilideno	4	100	4	0	4	0
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	100	4	0	4	0
5-nitrofuraldehido	4	100	4	0	3	25
diacetato de 5-nitrofur- furilideno + hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	100 + 100	4	0	2	50
5-nitrofuraldehido + hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico	4	100 + 100	4	0	2	50
NFSH	4	50	4	0	0	100
NFSH	4	100	4	0	1	75
NFSH	4	200	4	0	1	75

344590



1967

T A B L A II

Tratamiento de dosificación aislada (intraperitoneal)

Compuesto	Nº de Pavos	Dosis en mg	Incidencia Clínica Nº	Eficacia Clínica %	Mortalidad Nº	% de supervivencia
	4	Controles infectados	4	0	3	25
diacetato de 5-nitrofurfurilideno	4	100	4	0	4	0.
hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico	4	100	4	0	4	0
5-nitrofuraldehido	4	100	4	0	3	25
diacetato de 5-nitrofurfurilideno + hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico	4	100 + 100	4	0	0	100
5-nitrofuraldehido + hidrazida de ácido 3,5-dinitrosalicílico	4	100 + 100	4	0	0	50
NFSH	4	100	4	0	0	100
NFSH	4	200	4	0	0	100
NFSH	4	50	4	0	0	100

344590



T A B L A III

29 AGO. 1967

Tratamiento de Alimento medicado con precursores de NFSH

Compuesto	Nº de pavos	Dosis %	Incidencia Clínica Nº	Eficia- cia Cli- nica %	Morta- lidad Nº	% de super- vivencia
	4	Controles Infectados	4	0	4	0
diacetato de 5-nitro- furfurilideno	4	0,0250	4	0	4	0
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	0,0250	4	0	4	0
5-nitro-2-furaldehido	4	0,0250	4	0	4	0
diacetato de 5-nitrofur- furilideno	4	0,0250	1	75	0	100
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico		+ 0,0250				
5-nitrofuraldehido	4	0,0250	0	100	0	100
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico		+ 0,0250				
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	0,0332	4	0	4	0
	4	0,0166	4	0	4	0
diacetato de 5-nitro- furfurilideno	4	0,0333	3	25	3	25
	4	0,0167	4	0	4	0
5-nitrofuraldehido	4	0,0193	4	0	4	0
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	0,0332	0	100	0	100
diacetato de 5-nitro- furfurilideno		+ 0,0333				
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	0,0166				
diacetato de 5-nitro- furfurilideno		+ 0,0167	4	0	2	50
hidrazida de ácido 3,5- dinitrosalicílico	4	0,0332				
5-nitrofuraldehido		0,0193	0	100	0	100

344590

-14-

29 AGO.



T A B L A III (continuación)

Compuesto	Nº de pavos	Dosis	Inciden- cia Clí- nica Nº	Efica- cia Clí- nica %	Morta- lidad Nº	% de super vivencia
hidrazida de ácido 3,5-di nitrosalicí- lico	4	0,0100	4	0	4	0
5-nitrofural dehido	4	0,0100	4	0	4	0
5-nitrofural dehido	4	0,0100				
+		+				
hidrazida de ácido 3,5-dini trosalicílico		0,0100	3	25	1	75

Como será aparente a base de las tablas ante-  
cedentes, la eficacia de la droga sintética es aproxima-  
damente 12 a 22 veces superior a la de la mezcla de pre-  
cursores, especialmente cuando el tratamiento se efectúa  
5. bajo forma de dieta medicada durante un período de 21 días.

Los precursores del NFSH pueden administrarse  
en su vehículo de administración solos, o en combinación  
con otros agentes de promoción de salud o control de en-  
fermedades. Tales agentes adicionales pueden elegirse en  
10. tre el grupo de vitaminas, antibióticos y otros estimulan-  
tes del crecimiento. Especialmente, pueden emplearse el  
ácido 3-nitro-4-hidroxifenilarsónico, el ácido arsanílico,  
y una variedad de coccidiostáticos o remedios contra la  
Histomoniasis que se harán inmediatamente aparentes a los  
15. veterinarios.

Para propósitos prácticos de puesta en mercado,  
y para facilitar el manejo de las cantidades diminutas

344590 - 15 -



29 AGO. 1967

- de nuestros nuevos remedios que se deben incorporar a las raciones finales de alimentación, es deseable y ventajoso preparar un concentrado standard de ingredientes activos que puede tener una concentración de hasta 95% en peso de la composición. A este fin, se puede elegir como vehículo un material inerte no tóxico, tal como masilla, talco, bentonita, conchas de ostra machacadas, caliza y diversas arcillas o substancias comestibles tales como alimento de soya, trigo partido, harina de gérmenes de maíz, o alimento de maíz. Estos concentrados básicos se hacen específicamente adaptados para uso en diluciones con un vehículo dispensador de tipo alimenticio, o un elemento de sostén, para componer las raciones medicadas a sus niveles deseados con la mayor conveniencia. La disponibilidad de tales concentrados o premezcla comerciales es por lo tanto indispensable para el fabricante de alimentos y piensos, que emplea usualmente un paquete de peso standard de la pre-mezcla por cada 1.000 unidades de peso de alimento comercial para producir las composiciones medicadas.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a tres solicitudes de Patente presentadas en Norteamérica número 525.300 de 7 de febrero de 1966; 598.921 de 5 de diciembre de 1966 y 641.112 de 25 de mayo de
- 25.
- 30.

344590

29 AGO 1967



1967; acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España sobre: Procedimiento de obtención de una composición veterinaria para el control de la histomoniasis; caracterizándose por lo siguiente:

5.

1.- Procedimiento de obtención de una composición veterinaria para el control de la histomoniasis,

10.

caracterizado porque se mezcla, en presencia de un vehículo oralmente ingestible y no tóxico, una cantidad no tóxica y no inferior al 0,0166% en peso de hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico con una cantidad no tóxica de un compuesto elegido del grupo consistente en 5-nitrofuraldehído y diacetato de 5-nitrofurfurilideno, en cantidades no inferiores al 0,0193% y al 0,0167% en peso de la composición, respectivamente.

15.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1,

20.

caracterizado porque como vehículo oralmente ingestible y no tóxico, se añade pienso aviar.

3.- Procedimiento de obtención de una composición veterinaria para el control de la histomoniasis,

25.

caracterizado porque se mezcla una cantidad no inferior a 100 mg de hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico con una cantidad no inferior a 100 mg de un compuesto elegido del grupo consistente en 5-nitrofuraldehído y diacetato de 5-nitrofurfurilideno, y la mezcla resultante se incorpora a cápsulas de gelatina para administración oral.

30.

4.- Procedimiento de obtención de una

- 17- 344590



composición veterinaria para el control de la histomoniasis, caracterizado porque se mezcla una cantidad no inferior a 100 mg de hidrazida del ácido 3,5-dinitrosalicílico con una cantidad no inferior a 100 mg de un compuesto elegido del grupo consistente en 5-nitrofurraldehído y diacetato de 5-nitrofurfurilideno y la mezcla resultante se incorpora en inyectables para administración parenteral.

5.- Procedimiento de obtención de una composición veterinaria para el control de la histomoniasis, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

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

Madrid,

29 FEB. 1967

SALSBURY LABORATORIES

L. GOMEZ ACEBO Y MODEI  
p. p. Firmado: F. Hernández Ruiz