



408050

408050

Int. Cl.<sup>2</sup>: C12D//A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una...

PATENTE DE INTRODUCCION

SOLICITANTE: KAKEN CHEMICAL CO. LTD., de nacionalidad japonesa.

RESIDENCIA: 28-8, 2-chome, Honkomagome, Bunkyo-ku TOKYO. - JAPON.

Fuente de origen: KAKEN CHEMICAL CO. LTD.

ENUNCIADO: "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE SALL-NOMICINA".

Prioridad: Patente n.º del

408050



1 La presente memoria descriptiva tiene como fin la  
declaración del invento sobre el que ha de recaer el privilegio de explotación industrial, exclusivo en el territorio nacional, de una Patente de Introducción de acuerdo con la vigente legislación sobre Propiedad Industrial que, como el enunciado indica, se trata de "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE SALINOMICINA".

5 El objeto de este invento es proveer un procedimiento para la fabricación de salinomicina a partir de microorganismos. Este objetivo se consigue cultivando el streptomyces albus 80.614 en un medio apropiado y aislando la salinomicina a partir del medio micelial aglutinado por medio de un disolvente de extracción y purificándola después.

10 La salinomicina se usa con propiedades especialmente dirigidas contra los cóccidos, su prevención y su tratamiento terapéutico en volatería (gallináceas).

15 Nuestro invento ha conseguido aislar la salinomicina a partir de un medio de hongos, el cual es cultivado con el microorganismo productor de la salinomicina (Streptomyces albus 80.614).

20 Para cultivar el streptomyces albus 80.614 se puede emplear el proceso de cultivo de los actinomicetes en su fase industrial se caracteriza por su agitación aeróbica.

25 La temperatura del cultivo estará comprendida preferentemente entre los 25 y los 30°C., y el medio de cultivo puede ser el normalmente usado para los actinomicetes, el cual comprende una fuente de carbón, fuente de nitrógeno, sales inorgánicas, pequeña cantidad de componentes orgánicos y un agente antiespumante.

30 La máxima acumulación de salinomicina se encontrará después de las 72 a 120 horas a partir de la iniciación del cultivo. La salinomicina es soluble en varios disolventes orgánicos, y por lo tanto, se aislará del medio del cultivo a través de un proceso de ex -

408050



1 tracción por disolución. La salinomicina está contenida tanto en el aglu-  
 tinado micelial como en el filtrado, por lo que son agitados por un di-  
 solvente de acetato de butilo, acetona o cloroformo en el que el cuerpo  
 de hongos es autolizado y la salinomicina es extraído de él por medio  
 5 de un disolvente orgánico. La fase disolvente es separada de la fase  
 acuosa y de la fase sólida para obtener una disolución salinomicínica.  
 En la disolución de salinomicina es concentrada al vacío y purificada  
 por una columna cromatográfica de alumina.

10 El desarrollador puede ser acetato de etilo, hexano  
 o mezcla de ellos. El eluato es fraccionado para recoger las fraccio-  
 nes que tengan alta acción antibiótica, las cuales son concentradas al  
 vacío y purificadas en una columna cromatográfica que tiene un filtro  
 de gel del tipo Sephadex LH-20. Preferiblemente el desarrollador es  
 acetona. El eluato se fracciona para obtener las fracciones activas y  
 15 es concentrado en vacío para obtener una salinomicina de gran poder  
 y purificada.

20 El *Streptomyces albus* 80, 614 tiene una larga hifa  
 intermedia entre los bacilos y los cocos. El micelo aéreo del strepto-  
 myces albus 80, 614 es prácticamente recto y a veces diverge para for-  
 mar esporas teniendo dos o tres vueltas espirales. La superficie  
 de la spora es suave y sin espinas y la forma de dicha spora es un  
 elipsoide o cilindro alargado de 0'5 - 1'0  $\mu$  1'0 - 1'5  $\mu$  de tamaño.

#### Reacciones fisiológicas del *Streptomyces albus*

| 25 | Test                    | Respuesta |
|----|-------------------------|-----------|
|    | Coagulación de la leche | Negativa  |
|    | Peptonación de la leche | Negativa  |
| 30 | Formación de melanina   | Negativa  |



408050

|   |                               |                             |
|---|-------------------------------|-----------------------------|
| 1 | Reacción de tirosinasa        | Negativa                    |
|   | Reducción de nitrato          | Positiva, a veces negativa. |
|   | Hidrólisis del almidón        | Positiva                    |
|   | Licuefacción de la gelación   | Positiva                    |
| 5 | Descomposición de la celulosa | Negativa                    |
|   | Cromogenicidad                | Negativa                    |

---

|                   |          |
|-------------------|----------|
| Oxígeno requerido | Aeróbico |
|-------------------|----------|

---

|    |                                    |   |
|----|------------------------------------|---|
| 10 | Condiciones óptimas de crecimiento | pH 5'5 - 8'2<br>temperatura 21 a 37° C. |
|----|------------------------------------|---|

---

Fuentes de carbón utilizadas para el *Streptomyces albus* 80.614

|    |  |
|----|--|
| 15 | ++ : glucosa, fructosa, galactosa, mannitor, xilosa, cellobiosa, mebibiosa, e inulina. |
|    | + : Lactosa, trehalosa, y almidón.   |
|    | ± : Maltosa, manosa, sucrosa, salicina y arabinosa.                                    |
|    | - : Melezitosa, inositol, dulcitol, sorbitol, rafinosa, adonitol, ramosa.              |

30 El significado de:

|                            |               |
|----------------------------|---------------|
| ++ : fuertemente positivo. | + : positivo  |
| ± : dudosamente positivo.  | - : negativo. |

---

25 Las propiedades fisicoquímicas de la salinomicina (sal de Na) son las siguientes:

1º) Débil poder ácido.

Punto de fusión 117 - 118° C.

2º) Rotación óptica

$$[\alpha]_D^{20} = -25^{\circ}\text{C} \quad (\text{C} = 1' \text{ metanol})$$

3º) Solubilidad: soluble en alcoholes, esteres, cloroformo.



408050

- 1 mo, éter, carbón tetracloruro y hexano. Insoluble en agua.
- 4a) Estabilidad: estable con pH 7 - 9, ligeramente inestable con un pH por debajo de 5.
- 5a) Color de la reacción:
- 5 Negativa para la reacción Lemieux, permanganato de potasio, ninydrina, cloruro férrico y reacción de Fehling. positiva para la reacción de iodina que pasa a ser de un color rojizo pálido.
- 6a) Análisis elemental:
- 10  $C_{39}H_{65}O_{10}Na$  (peso molecular 716).
- |                 | C     | H    | O     | Na   |
|-----------------|-------|------|-------|------|
| Valor calculado | 65.36 | 9.08 | 22.35 | 3.21 |
| Valor analítico | 65.01 | 8.95 | 22.39 | 3.54 |
- 7a) Peso molecular:
- 15 Valoración equivalente 72.0
- 8a) Espectro ultravioleta:
- Ver figura 1, en la que la línea continua representa los datos medidos en una solución de metanol y 0,01 N - ClH y la línea discontinua representa los datos medidos en una disolución 0'01N - NaOH metanol.
- 20 9a) Espectro de absorción de infrarrojos:
- Ver figura 2.
- 10a) Espectro antimicrobial:
- 25 La mínima concentración inhibitoria (mcg/ml) queda expresada en la tabla.
- |                       |      |
|-----------------------|------|
| Bacillus subtilis     | 2.0  |
| Bacillus cercus       | 2.0  |
| Bacillus circulans.   | 4.0  |
| 30 Bacilus megaterium | >100 |

408050



|    |                                  |      |
|----|----------------------------------|------|
| 1  | Staphylococcus aureus            | 2.0  |
|    | Staphylococcus epidermidis       | 4.0  |
|    | Sarcina lutea                    | 8.0  |
|    | Micrococcus flavus               | 8.0  |
| 5  | Micrococcus luteus               | 4.0  |
|    | Mycobacterium smegmatis ATCC 607 | 8.0  |
|    | Mycobacterium phlei              | 4.0  |
|    | Mycobacterium avium              | 8.0  |
|    | Escherichia coli                 | >100 |
| 10 | Klebsiella pneumoniae            | >100 |
|    | Proteus vulgaris                 | >100 |
|    | Xanthomonas oryzae               | 64   |
|    | Pseudomonas aeruginosa           | >100 |
|    | Piricularia oryzae               | 16   |
| 15 | Alternaria kikuchiana            | 32   |

Antibióticos que tengan las características descritas de la salinomicina no han sido hasta el momento especificados.

La salinomicina tiene una absorción ultravioleta máxima a 220m $\mu$  y 285m $\mu$  cuando es medida en una solución ácida metanol.

20. El Streptomyces albus 80.614 se inocula en 100 litros de líquido de 2% de glucosa, 1% de almidón, 2.5% de harina de soja, 0.2% de fermento de cerveza, 0.2% de extracto de carne y 0.2% de cloruro sódico, en un tanque de acero inoxidable de una capacidad de 200 litros a un pH 7.0 y se lo cultiva a 27°C de forma aeróbica durante 84 horas.

25. Se pasa el aire a una velocidad de 100 litros/min. a 250 rpm. en el agitador.

30. Después del cultivo, el producto resultante se ajusta a un pH de 8, añadiéndole NaOH y mezclándola a continuación con un 2% de trípoli para filtrarla después. Se mezcla 83 litros de lo filtrado con 50 litros de acetato de butilo y se extraen en dos tandas.

408050



1 Por otra parte, el medio de hongos se extrae con 30 litros al 70% de acetona y el efluente se concentra al vacío y se extrae con 10 litros de acetato de butilo después de la eliminación de la acetona.

5 Se añade el efluente al filtrado y la mezcla es lavada con agua y concentrada al vacío hasta 0'4 litros.

La solución concentrada se pasa por una columna con 3 litros de alumina activa para absorber los componentes.

10 Una mezcla de acetato de etilo y n - exano (4:1) se pasa a desarrollar y recoger las fracciones que tengan un componente activo y se concentran al vacío. La solución concentrada se purifica en una columna cromatográfica que contiene Sephadex LH-20 usando acetona como disolvente desarrollador. El tratamiento cromatográfico se repite hasta obtener 8'5g. de polvo blanco de salinomicina pura. Hemos encontrado un nuevo uso de la salinomicina como anti-cóccidos, especialmente para volatería.

20 Es un gran problema prevenir a la volatería de cóccidos debido a la resistencia de ciertas cepas contra los anticóccidos convencionales, tales como la antitiamina, las del tipo quinoleína o de azufre.

Hemos encontrado que la salinomicina es bastante efectiva para el tratamiento preventivo y terapéutico de las cepas resistentes de los cóccidos.

25 La composición anticoccida se prepara preferentemente mezclando salinomicina con un portador sólido o líquido fisiológicamente antitóxico para formar una composición concentrada que se añade al alimento o bebida de la volatería.

30 Los portadores sólidos pueden ser harina de trigo, harina de soja, arroz desaceitado, salvado, talco, caolín, greda y trípoli.

408050



1 El portador líquido puede ser una solución salina fisiológica, agua destilada y un disolvente orgánico fisiológicamente no tóxico, etc.

5 Es posible añadir otros aditivos apropiados, por ejemplo: emulsificador, agente dispersante, agentes de suspensión, agente humectante, agente de concentración, agente de gelación, y un acelerante activo tal como el aceite de soja.

10 La composición anticoccidos se prepara preferiblemente en forma sólida y el portador puede ser un alimento orgánico o inorgánico y el agente activo se mezcla con el alimento activador de crecimiento o el alimento convencional para pollos o gallinas ponedoras con agitación, volteo o medios de trituración.

15 El ingrediente activo se puede mezclar con el alimento en forma de una composición polvorienta concentrada conteniendo un portador fisiológicamente no tóxico.

Cuando la composición anticoccidos está en forma líquida para dosis oral, es preferible dispersar a la salinomicina en un portador fisiológicamente no tóxico tal como el agua.

20 Es posible añadir otros ingredientes anticoccidos y activadores de crecimiento para aves, pollos, etc.

Es preferible añadir más del 0'0001% en peso de salinomicina en la composición anticoccidos.

25 La cantidad de salinomicina requerida para prevenir y para el tratamiento terapéutico de los coccidos en volatería, debe de tener un índice del 0'001 - 0'05% en peso de los alimentos.

#### Experiencia 1ª

30 Usando el macho de la especie Highline se le trató con un índice de  $7'2 \cdot 10^4$  oocistos por individuo (el oocisto es el de la Eimeria tenella que es resistente a un 40ppm de metil benzeno.

Los pollos 14 días después de su nacimiento fueron

408050



1 separados en dos grupos.

En alimento que se señala en la tabla 1 se mezcló con 0'01% de salinomicina diluido con soja y la cual fué administrada al primer grupo de pollos, mientras que la salinomicina no se administró al segundo grupo.

Tabla 1

Fórmula del alimento (%)

|    |                                   |       |
|----|-----------------------------------|-------|
|    | Harina de maíz                    | 41'81 |
|    | TC Alimento (Harina de trigo 85%) | 25    |
| 10 | (Sebo 15%)                        |       |
|    | soja                              | 20    |
|    | pescado con disolventes           | 8     |
|    | Alfalfa                           | 3     |
|    | Fosfato tricálcico                | 1     |
| 15 | Carbonato cálcico                 | 0'3   |
|    | Sal                               | 0'45  |
|    | Vitamina A, D, E                  | 0, 05 |
|    | Grupo Vitamínico B                | 0'1   |
|    | Componentes inorgánicos           | 0, 1  |
| 20 | Metionina                         | 0, 05 |
|    | Soja premezclada con droga        | 0'14  |

100

25 La salinomicina se suministró continuamente desde un día antes de la infección de los oocitos hasta el final de la experiencia, al primer grupo. Los oocitos fueron inyectados después de 15 días a partir del nacimiento. Todos los pollos, objeto de la experiencia, fueron analizados nueve días después de la inoculación. El resultado de la experiencia se muestra en las tablas 2 y 3.

408050



1 (a) Índice de crecimiento de peso y mortalidad.

El peso de los pollos fué medido en el momento de la inoculación y al final de la experiencia, y el índice de crecimiento de peso está calculado dando al primer peso el valor de 100.

5 (b) OPG (Oocitos por gramo de hez).

El O. P. G. fué calculado por el método de Plankton observando las heces 7 días después de la inoculación.

(c) Condición de las heces.

10 La condición de las heces fué observada por la mañana y por la noche.

(d) Disección.

La enfermedad del intestino fué observada y se investigó el número de oocistos en el duodeno, yeyuno, intestino corto y colo.

15 Los números presentados en la tabla 3 representa el número de pollos, objeto de la experiencia.

Las referencias - ~ +++ significan las siguientes condiciones.

- 20 - colon normal.
- + la forma del colon es normal .  
el contenido es ligeramente fluido y amarillento.  
la mucosa del colon está ligeramente dilatada y pizcada.
- ++ la forma del colon es substancialmente normal.  
la mucosa del colon está dilatada en toda su superficie.  
no se encuentra sangre en un contenido.  
la mucosa es amarillenta.  
se encuentran un pequeño número de manchas blancas y  
de sangre en la mucosa del colon.
- 30 +++ se encuentra claramente una atrofia y deformación del co-



408050

1

lon y la longitud de colon es ligeramente más larga que la del recto.

5

no se encuentra un contenido normal y está lleno de coágulos de sangre y residuos grises como de material degenerado.

una incrasación del colon es señalable y ruinosa.

se encuentran a veces manchas de sangre.

la enfermedad alcanza la base del colon pero no al recto.

+++

se encuentra claramente una atrofia y deformación del colon.

10

en general el colon toma la forma de salchicha y la longitud del colon es la misma o más corta que la del recto.

la enfermedad alcanza 1/3 - 1/4 del recto.

15

otras observaciones son idénticas a las del +++

Tabla 2

| Grupo                   | Número | Peso incr. índice% | Indice de mortalidad % | O. P. G. ( $\times 10^4$ ) |              |             | Condición de heces                                |
|-------------------------|--------|--------------------|------------------------|----------------------------|--------------|-------------|---|
|                         |        |                    |                        | 7 días noches              | 8 días noch. | 9 días mañ. |   |
| Ier Gr. (salino-micina) | 11     | 106'4              | 8                      | 0                          | 0            | 0'32        | normal. (se halló sangre en uno pero se recuperó. |

20

25

30



408050

1

|                             |    |      |    |       |       |      |   |
|-----------------------------|----|------|----|-------|-------|------|---|
| 2º GR.<br>(no salinomicina) | 10 | 91'2 | 70 | 18'24 | 14'88 | 0'32 | heces blancas en los 7 días y sangre en el 80%. |
|-----------------------------|----|------|----|-------|-------|------|---|

5

Tabla 3

Disección de los pollos (excepto muertos)

10

| Grupo                         | Nº | enfermedad del colon |   |    |     |      | Nº de oocistos |   |    |     | enfermedad del intestino excepto colon |
|-------------------------------|----|----------------------|---|----|-----|------|----------------|---|----|-----|--|
|                               |    | -                    | + | ++ | +++ | ++++ | -              | + | ++ | +++ |  |
| 1er Grupo<br>(salinomicina)   | 10 | 9                    | 1 | 0  | 0   | 0    | 8              | 2 | 0  | 0   | ninguna                                |
| 2º Grupo<br>(no salinomicina) | 3  | 0                    | 0 | 0  | 3   | 0    | 0              | 0 | 1  | 2   | ninguna                                |

15

20

Experiencia 2ª

Usando pollos recién nacidos de la especie White Leghorn se les inoculó  $5 \times 10^4$  oocistos de Eimeria tenella. Los pollos (21 días después del nacimiento) se separaron en 4 grupos.

25

El alimento mostrado en la tabla 1 se mezcló con salinomicina y a partir del quinto día anterior a la inoculación de oocistos se les suministró 0'001% en peso de salinomicina.

Al segundo grupo a partir del día de la inoculación se le suministró 0'01% de salinomicina.

30

Al tercer grupo, a partir del quinto día anterior a

408050



1 la inoculación de oocistos se les suministró 0'01% de la antidiamina disponible en el comercio (amprolium) (1 - [(4 - amino - 2 propil - 5 pirimidinilo) metil] - 2 picolinio cloruro).

Al cuarto grupo no se le suministró ninguna droga.

5 Los oocistos fueron suministrados a cada grupo a los 21 días de su nacimiento. Todos los pollos fueron analizados a los 7 días de la inoculación.

10 Las experiencias son las mismas de las mostradas en la tabla 1 y los números y terminología son los mismos de los de la experiencia 1.

Los resultados se muestran en las tablas 4 y 5.

Tabla 4

| 15 | Grupo   | Nº | Cantidad de<br>de ingredien<br>te activo (%) | Peso<br>incr.<br>índice<br>(%) | mortalidad<br>(índice de<br>muerte %) | O. P. G.<br>(7 días) | Condición<br>de feces                            |
|----|---|----|--|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------|--|
| 20 | 1er. gr. (salinomicina antes de la inoculación) | 10 | 0'001  | 144'8                          | 0                                     | 0                    | Normal<br>(se encontraron feces carnosas en uno) |
| 25 | 2º gr. (salomicina desde la inoculación)        | 10 | 0'01   | 144'4                          | 0                                     | 0                    | Normal   |
| 30 | 3er. gr. (referencia)                           | 10 | 0'01   | 137'7                          | 20                                    | 2. 1x10 <sup>3</sup> | Se encontró sangre en 2.                         |

408050



1  
5  
10  
15  
20  
25  
30

|                       |    |   |       |    |                          |   |
|-----------------------|----|---|-------|----|--------------------------|---|
| 4º grupo<br>(Control) | 10 | - | 135,2 | 60 | 11.8x<br>10 <sup>4</sup> | Se encontraron<br>sangre y<br>faces carnosas en<br>todos. |
|-----------------------|----|---|-------|----|--------------------------|---|

Tabla 5

| Grupo    | Nº | enfermedad de colon |   |    |     |      | enfermedad del<br>intestino excepto<br>colon |
|----------|----|---------------------|---|----|-----|------|--|
|          |    | -                   | + | ++ | +++ | ++++ |  |
| Grupo 1º | 10 | 9                   | 1 | 0  | 0   | 0    | ninguna                                      |
| Grupo 2º | 10 | 8                   | 2 | 0  | 0   | 0    | ninguna                                      |
| Grupo 3º | 8  | 3                   | 3 | 2  | 0   | 0    | ninguna                                      |
| Grupo 4º | 4  | 0                   | 0 | 1  | 3   | 0    | ninguna                                      |

Experiencia 3

De acuerdo con el método de la experiencia 1, los oocistos fueron inoculados a cada grupo y se suministraron cantidades semejantes de salinomicina.

Los resultados se muestran en la Tabla 6, junto con la referencia. Edad de los pájaros era de 4 semanas.

Tabla 6

Efectos de varias concentraciones de salinomicina contra la infección causada por *Eimeria tenella*.

Los efectos terapéuticos de la salinomicina contra los cóccidos han resultado ser excelentes en las experiencias hechas con las heces, con los índices de OPG de crecimiento en peso y mortalidad en comparación con otros anti-cóccidos.

408050



1

5

10

15

20

25

30

| Grupo<br>Nº | Droga                        | concentra<br>ción de dro<br>ga en la ali<br>mentación<br>(ppm) | Nº de oo -<br>cistos in -<br>fectados. | Dura -<br>ción de<br>la medi<br>cación<br>(días) | Nº de<br>aves<br>muer<br>tas | Nº de<br>aves<br>muer<br>tas | OPG               |
|-------------|------------------------------|--|--|--|------------------------------|------------------------------|-------------------|
| 1           | Sali-<br>nomi<br>cina        | 1  | $5 \times 10^4$                        | 8  | 10                           | 4                            | $3.3 \times 10^5$ |
| 2           | "                            | 10   | "                                      | "  | 10                           | 5                            | $7.8 \times 10^6$ |
| 3           | "                            | 50   | "                                      | "  | 10                           | 4                            | $7.3 \times 10^5$ |
| 4           | "                            | 75   | "                                      | "  | 10                           | 0                            | $5.8 \times 10^5$ |
| 5           | "                            | 100  | "                                      | "  | 10                           | 0                            | $1.0 \times 10^5$ |
| 6           | "                            | 125  | "                                      | "  | 10                           | 0                            | $8.7 \times 10^3$ |
| 7           | clopi<br>dol                 | 125  | "                                      | "  | 10                           | 0                            | $5.8 \times 10^3$ |
| 8           | control<br>infec -<br>tado   | -  | "                                      | "  | 10                           | 7                            | $7.9 \times 10^6$ |
| 9           | control<br>no infec<br>tado. | -  | "                                      | "  | 10                           | 0                            | 0                 |

El recuento diario de los oocistos fué efectuado durante 8 días después de la infección. Su resultado fué expresado por el número de oocistos por gramo de heces. La figura dada presenta un máximo de oocistos diarios contados.

Los efectos terapeuticos de la salinomicina contra los cóccidos han resultado ser excelentes en las experiencias hechas con las heces, con los índices de OPG de crecimiento en peso y mortalidad en comparación con otros anti-cóccidos.

408050



1

Tabla 6 (Continuación)

5

10

15

20

25

30

| Grupo Nº | lesión cecal |   |    |     |      |
|----------|--------------|---|----|-----|------|
|          | -            | + | ++ | +++ | ++++ |
| 1        |              |   | 3  | 3   | 4    |
| 2        |              | 1 | 3  | 2   | 5    |
| 3        |              |   | 2  | 4   | 4    |
| 4        | 5            | 3 | 2  |     |      |
| 5        | 6            | 4 |    |     |      |
| 6        | 8            | 2 |    |     |      |
| 7        | 6            | 4 |    |     |      |
| 8        |              |   | 1  | 2   | 7    |
| 9        | 10           |   |    |     |      |

Descrita suficientemente la naturaleza del presente invento, así como su realización industrial, sólo cabe añadir que en su conjunto y partes constitutivas es posible introducir cambios de forma, materia y disposición, sin salirse del cuadro del invento, en cuanto tales alteraciones no supongan variación sustancial del mismo.

La Patente de Introducción que se solicita por diez años para España, de acuerdo con la vigente Legislación, no se ha dado a conocer en España, siendo su fuente de origen KAKEN CHEMICAL CO. LTD..

NOTA

La Patente de Introducción que se solicita por diez años para España, de acuerdo con la vigente Legislación sobre Propiedad Industrial, deberá recaer sobre "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE SALINOMICINA", en todo de acuerdo con las siguientes

REIVINCICACIONES

1ª. - Procedimiento de obtención de salinomicina, caracterizado porque se cultiva el microorganismo Streptomices alpe en



408050

1 un caldo de cultivo usado para el cultivo de Aclinomycetes por cultivo sumergido y extrayendo a continuación la Salinomicina tanto del aglutinado micelial como del caldo y purificándola a continuación.

5 2ª. - Procedimiento de obtención de Salinomicina, en todo de acuerdo con la anterior reivindicación, caracterizado porque el microorganismo productor de la salinomicina es el Streptomices albus ochenta mil seiscientos catorce.

10 3ª. - Procedimiento de obtención de Salinomicina, en todo de acuerdo con las anteriores reivindicaciones, caracterizado porque el caldo de cultivo tiene aproximadamente un pH siete y, la temperatura está entre veinticinco a treinta grados centígrados, el tiempo de cultivo es entre setenta y dos a ciento veinte horas, ajustando posteriormente el resultado a un pH ocho, para filtrarlo a continuación, extrayendo tanto el aglutinado micelial como el caldo por medio de disolventes  
15 y concentrado a continuación el aglutinado al vacío; se hace desaparecer el disolvente del aglutinado y se mezcla el aglutinado concentrado con el caldo filtrado y se los concentra al vacío para pasar a continuación por una columna donde se absorben los componentes, sometiendo  
20 los después a la acción de disolventes activos y se las concentra al vacío, sometiendo a continuación al concentrado en un repetido tratamiento cromatográfico para obtener al fin la salinomicina.

4ª. - "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE SALINOMICINA".

25 Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria descriptiva que consta de dieciocho hojas mecanografiadas por una sola cara, acompañadas de sus dibujos.

30

408050



1

Madrid, 27 OCT. 1972

El Agente Oficial

MIGUEL FERNANDEZ LOAYSA PINZON  
P. P.

5

10

15

20

25

30

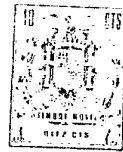


FIG. 1

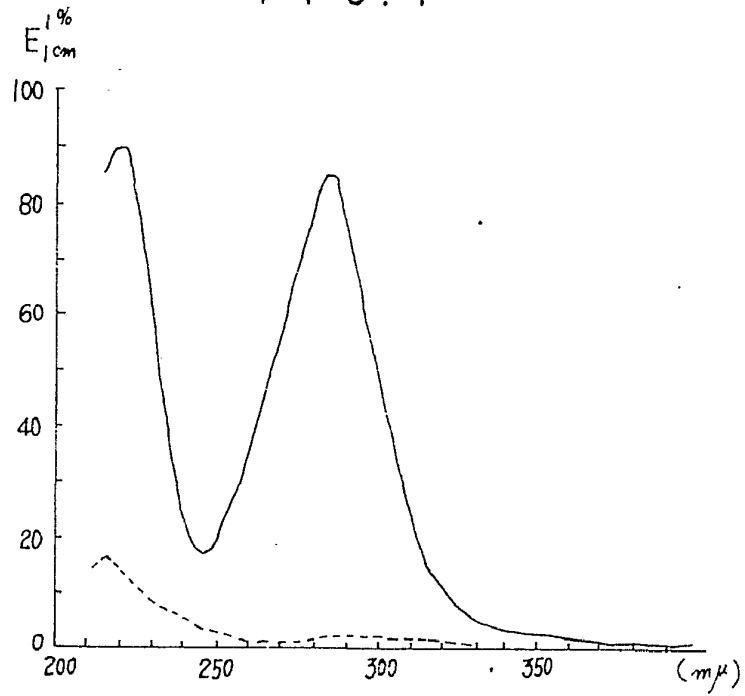
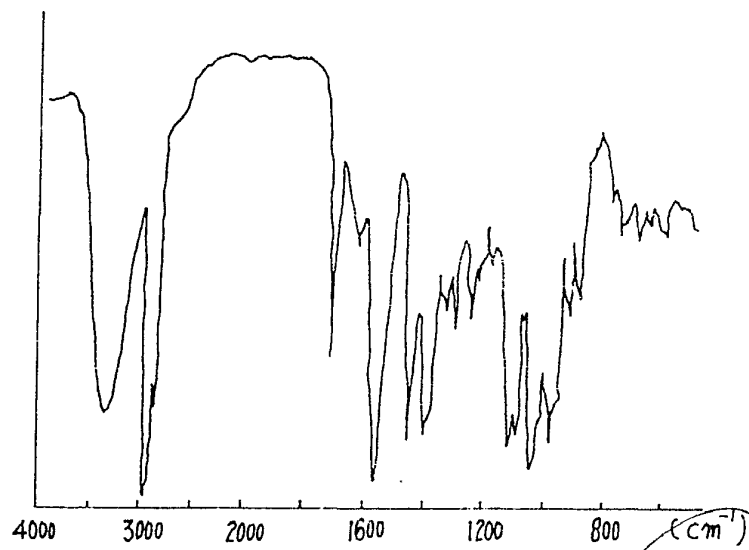


FIG. 2



Escala variable

Madrid 27 OCT. 1972

El Agente Oficial

MIGUEL FERNANDEZ-LOAYSA PINZON  
P. P.