



19 ES	11 21	NUMERO 439.071	10 AI
	22	FECHA DE PRESENTACION	

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
29503/74	3.7.74	INGLATERRA
06450/75	14.2.75	INGLATERRA

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D/A01N	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	---	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE SALES ZWITERIONICAS DE ANTIBIOTICOS DE POLIENO.

71 SOLICITANTE (S)

GIST-BROCADES N.V.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Wateringseweg 1, DELFT, Holanda.

72 INVENTOR (ES)

Dirk Aart SMINK

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

D. JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO.

PATENTE DE INVENCION

SPA-2038

Memoria Descriptiva

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE SALES
ZWITERIONICAS DE ANTIBIOTICOS DE POLIENO.

Solicitante: GIST-BROCADES N.V., entidad holandesa,
residente en Wateringseweg 1, DELFT,
Holanda.

La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de sales zwiterionicas de antibióticos de polieno, de acción antifugal, que encuentran aplicación en productos de la agricultura tal como la fruta, verduras, tubérculos, raíces tubérculas, bulbos de flor y rizoma.

5



Frutas cítricas, particularmente, por ejemplo, naranjas pero también limones y pampelmusa, se exportan en grandes cantidades de los países en los que los producen a muchos otros países. Esto comprende el transporte durante periodos de tiempo prolongados bajo todo tipo de condiciones y circunstancias, una mayor parte de los cuales inducen al deterioro de la fruta por crecimiento de hongos. Además, normalmente la fruta se almacena por periodos prolongados antes de su llegada al consumidor, que también favorece las condiciones para que aparezca el crecimiento de hongos.

Para evitar el deterioro, la fruta cítrica generalmente se trata con un agente antifungal antes de ser transportada. No obstante, y a pesar de tratar la fruta cítrica con un agente antifungal (fungicida), el crecimiento de hongos todavía ocurre hasta tal punto que una parte considerable de la fruta cítrica no puede ser vendida cuando llega al país de destino, y una naranja, por ejemplo, atacada por hongos es capaz de atacar perjudicialmente todas las frutas a su alrededor.

Ya se ha descubierto que la natamicina (pimaricina, cf. Merck Index, 8ª Edición (1968) página 834) es un agente antifungal muy activo. Para el tratamiento de fruta cítrica, no obstante, es necesario introducir suficientes cantidades de natamicina en la piel de la fruta cítrica, particularmente cuando la infección ha ocurrido varios días antes del tratamiento, que es lo que normalmente ocurre. El uso de una suspensión de natamicina en agua no da la suficiente penetración hasta el interior de la piel y por consiguiente no proporciona protección suficiente contra el crecimiento de hongos. Hemos encontrado que la prolongada inmersión, hasta por lo me-

5. nos una hora, incrementa el efecto antifungal de la natamicina, pero esta práctica es, no obstante, altamente no práctica y anti-económica. Por otro lado, hemos encontrado que una solución de natamicina en dimetilulfóxido (DMSO) si demuestra la acción deseada contra el crecimiento de hongos, pero el olor de DMSO es tan penetrante que esta solución no es apropiada para su uso práctico. También encontramos que el éster metílico de natamicina, tratada con ácido undecilénico, demuestra un efecto mejorado, pero la penetración de la piel de la fruta cítrica sigue siendo insuficiente, aparentemente debido a un equilibrio hidrofílico-lipofílico desfavorable.

10. Ahora hemos encontrado que se pueden obtener sales zwitteriónicas altamente útiles y efectivas mediante la combinación de natamicina, u otro antibiótico de polieno, con un alcohol y un ácido orgánico. En esta combinación de compuestos, la solubilidad de natamicina u otro antibiótico de polieno es suficiente para penetrar la piel de la fruta cítrica hasta tal punto que se inhibe casi totalmente el crecimiento de hongos, incluso durante prolongados periodos de transporte y almacenaje que algunas veces son inevitables. Adicionalmente, si una fruta cítrica fuera a ser atacada por el crecimiento de hongos, la esporulación es fuertemente controlada, de modo que el crecimiento de hongos ocurre solo localmente sin riesgo de que cajas enteras de fruta cítrica sean atacadas por el crecimiento de hongos.

15. Se ha encontrado, además, que las sales arriba indicadas también puede ser aplicada a otros productos agrícolas, tales como frutas, tubérculos, raíces tubérculas, bulbos de flor, y rizoma, con ventajas similares. Tal como con
20. frutas cítricas, la penetración de la piel o pared de los
25.
30.

otros productos agrícolas es marcadamente superior a la de composiciones anteriormente indicadas.

5. Por consiguiente, la presente invención proporciona sales zwiteriónicas para el tratamiento de productos agrícolas tales como frutas, verduras, tubérculos, raíces tubérculas, bulbos de flor y rizoma, comprendiendo una cantidad de un antibiótico de polieno efectivo en la prevención o inhibición del crecimiento de hongos en productos agrícolas, disuelta en una mezcla de un alcohol inferior y un ácido alcohólico inferior.

10. Ejemplos apropiados de antibióticos de polieno son, por ejemplo, natamicina (pimaricina), aureofungina y lucenomicina, o sales o ésteres de éstos, pero un ejemplo preferente es la natamicina; dicho antibiótico puede ser utilizado en forma de sal, por ejemplo sal sódica, o éster, por ejemplo éster metílico. La natamicina se disuelve hasta un punto de 500 a 1000 ppm en una mezcla de un alcohol inferior y un ácido alcohólico inferior, y tal combinación es suficiente para el tratamiento de productos agrícolas tales como frutas, 15. verduras, tubérculos, raíces tubérculas, bulbos de flor y rizoma, con el fin de inhibir el crecimiento de hongos hasta 20. un alto nivel y durante periodos prolongados.

25. Se debe entender que el término "inferior", según se aplica aquí en cuanto a alcoholes y ácidos alcohólicos, indica que el alcohol o ácido contiene un máximo de 8 átomos de carbono, preferentemente 2 ó 3 átomos de carbono; los átomos de carbono pueden estar dispuestos en cadena recta o ramificada. El alcohol puede contener hasta un grupo hidroxilo por cada átomo de carbono, y preferentemente contiene un grupo 30. hidroxilo en la molécula. Alcoholes preferidos son alcoholes me-

5. tílicos, etílicos y propílicos. El ácido alcanóico puede contener 1 ó 2 grupos carboxi. Acidos alcanóicos preferidos son los ácidos acético y propiónico. El ácido alcanóico puede contener substituyentes tal como 1 ó 2 grupos hidroxí, por ejemplo ácido láctico, y/o 1 o más átomos de halógeno, preferentemente átomos de cloro, por ejemplo ácido cloroacético y ácido tricloroacético. También pueden utilizarse otros ácidos más complicados, por ejemplo ácido cítrico y ácido ascórbico. Será aparente que cuando los productos agrícola se entienda para consumo humano, se deberán emplear aquellos alcanoles y ácidos orgánicos que no dejan residuos en los productos agrícola que sean dañinos y/o desagradables cuando se consumen los productos.
- 10.

15. Las sales zwiteriónicas según la presente invención preferentemente se forman con aproximadamente entre 10 y 99,9% de alcanol (por razones prácticas, preferentemente entre 15 y 50% de alcanol), y preferentemente entre aproximadamente 0,05 y 5 % del ácido alcanóico, más preferentemente entre 0,5 y 1,5 % de ácido alcanóico. Las sales zwiteriónicas pueden combinarse también con agua y materiales adicionales tal como componentes de revestimiento, por ejemplo emulsiones plásticas tal como emulsiones de acetato de polivinilo, antioxidantes, por ejemplo ácidos ascórbicos, agentes de humectación y espesantes tal como gelatina.
- 20.

25. La natamicina se utiliza preferentemente como el antibiótico. Se utiliza, en la formación de las sales zwiteriónicas, por ejemplo, en cantidades de aproximadamente entre 0,05 y 0,5%, preferentemente entre 0,1 y 0,2%, de la preparación

30. Ejemplos de productos agrícola que pueden ser tratados con preparaciones según esta invención son frutas, tal co-

5. mo frutas cítricas, por ejemplo naranjas, limones y pampelmu-
sa, otras frutas tal como plátanos, aguacate, papaya, mangos,
liches, melones, manzanas, peras, ciruelas, cerezas, melocoto-
nes, uvas, tomates y pepinos, verduras tales como repollo,
apio, tubérculos tales como patatas, boniato, nabos, otras
variaciones de apio, rábanos, cebollas y dalias, raíces tu-
bérculas tales como zanahorias y remolacha, bulbos de flores
tales como bulbos de tulipanes, bulbos de narciso, crocus
corms, bulbos de gladioles, bulbos de jacinto y bulbos de
10. flor de lis, y rizoma tal como caña de azúcar.

15. Las sales zwiteriónicas según la presente invención
pueden utilizarse como baños para sumergir los productos agrí-
colas. Cortos periodos de inmersión, preferentemente entre 1
y 10 minutos, más preferentemente entre 1,5 y 3 minutos, son
totalmente adecuados para impartir a los productos agrícolas
una protección duradera contra el crecimiento de hongos. Los
productos agrícolas pueden sumergirse directamente en la so-
lución. Según otro procedimiento, las preparaciones pueden
ser aplicadas a los productos agrícolas por empastado con
20. brocha, por ejemplo se disponen brochas rotativas de modo un
poco inclinadas y se hacen desplazar los productos agrícolas
por encima de las brochas rotativas. Se humedecen las brochas,
por ejemplo, por rotación a través de la superficie de la
preparación. Según aún otro método, se pueden pulverizar las
25. preparaciones sobre los productos agrícolas.

30. Las sales zwiteriónicas, según la presente inven-
ción, se preparan fácilmente por disolución del antibiótico
de polieno, por ejemplo natamicina, en el alcohol inferior
y el ácido alcanóico inferior. El procedimiento de su
preparación forma el aspecto de la presente invención.



ción.

La presente invención se ilustra por los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

5. Se utilizaron naranjas. Las cortezas de las naranjas fueron arañadas y las naranjas sumergidas en una suspensión de aproximadamente 150.000 esporos por ml. (esporos mezclados de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* mezclados, hongos que ocurren normalmente en naranjas) por un periodo de 15 segundos, y después se secaron las naranjas durante una noche.

10. Las naranjas así tratadas fueron sumergidas durante 2 minutos en las soluciones indicadas a continuación, y almacenadas durante 7 días a una temperatura de 26°C. y una humedad relativa de 95%. Para cada prueba se utilizaron 10 naranjas, mientras que se utilizaron otras 10 como testigo. Los resultados son según se detallan a continuación:

<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
Testigo	10
20. Alcohol metílico + 0,1% de ácido láctico + 0,1% de natamicina	1
Agua + 0,1% de ácido láctico + de natamicina	6
Agua + 0,1% de Mertect 340 (Marca registrada correspondiente a 2,4-tiazolilbencimidazol, también llamado tiabendazol o TBZ)	6

25. Es evidente que la mejor inhibición se obtiene con la solución de natamicina en alcohol y ácido orgánico.

EJEMPLO 2

30. En este Ejemplo se utilizaron naranjas denominadas "Jaffa" y fueron inoculadas del mismo modo que el indicado en



el Ejemplo 1, a excepción de que se utilizó una suspensión de 120.000 esporos por ml. Las condiciones de almacenaje fueron también iguales a las del Ejemplo 1. Se obtuvieron los siguientes resultados.

	<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
5.	Testigo	10
	Alcohol metílico + 0,1% de ácido láctico + 0,1% de natamicina	0
	Alcohol etílico + 0,1% de ácido láctico + 0,1% de natamicina	1
10.	Alcohol n-propílico + 0,1% de ácido láctico + 0,1% de natamicina	1
	Alcohol metílico + 0,1% de ácido láctico + 0,1% de natamicina	0
	Alcohol metílico + 0,1% de ácido propiónico + 0,1% de natamicina	0
15.	Agua + 0,1% de Mertect 340	8

Este Ejemplo muestra que se obtienen buenos resultados por el uso de varios diferentes alcoholes y varios diferentes ácidos.

20. EJEMPLO 3

Para este Ejemplo se utilizaron naranjas Jaffa, y fueron inoculadas del mismo modo que en el ejemplo 1. Las condiciones de almacenaje también fueron como las del ejemplo 1, a excepción de que el periodo de almacenaje fue de 8 días. Se obtuvieron los siguientes resultados:

	<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
25.	Testigo	8
	Alcohol etílico-agua (1:1) + 0,1% de ácido acético + 0,1% de natamicina	6

30.



<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
Alcohol etílico-agua (1:1) + 0,5% de ácido acético + 0,1% de natamicina	3
Alcohol etílico-agua (1:1) + 1,0% de ácido acético + 0,1% de natamicina	2

5.

Los resultados demuestran que se obtiene una mejor inhibición del crecimiento de hongos incrementando la concentración de ácido.

EJEMPLO 4

10.

En este Ejemplo se comparó el tratamiento por inmersión con el tratamiento de aplicación con brocha. Se inocularon naranjas de acuerdo con lo indicado en el Ejemplo 1, a excepción de que se utilizó una suspensión de esporos de 120.000 esporos por ml. Las condiciones de almacenaje fueron las mismas que en el Ejemplo 1, excepto que el periodo de almacenaje fué de 10 días. Se utilizaron 20 naranjas por cada prueba.

15.

<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
--------------------	---

20.

Testigo	13
Sumergido por 2 minutos en alcohol etílico-agua (1:1) + 1% de ácido acético + 0,1% de natamicina	2
Aplicación con brocha de alcohol etílico-agua (1:1) + 1% de ácido acético + 0,2% de natamicina	2

25.

Aplicación con brocha de agua + 0,2% de Mertect 340 (Marca registrada correspondiente a 2,4-tiazolilbencimidazol, también llamado tiabendazol o TBZ)	8
--	---

30.

Este Ejemplo demuestra que el tratamiento con brocha proporciona el mismo resultado que el tratamiento por inmersión cuando se utiliza una doble cantidad de antibiótico para el tratamiento con brocha. Además, el resultado con



los preparados según la presente invención proporcionan resultados bastante mejores que los de la conocida preparación Mertedt en la misma concentración.

(1) estas soluciones también contenían 10% de soluciones de acetato de polivinilo.

5.

EJEMPLO 5

Se arañaron limones no tratados y a continuación se sumirgieron en una suspensión de aproximadamente 900.000 esporos por ml durante un periodo de 15 segundos. Se secaron los limones durante la noche. Las preparaciones indicadas a continuación fueron aplicadas a los limones secos con brocha. Las condiciones de almacenaje fueron las mismas que las indicadas en el Ejemplo 1, excepto que el periodo de almacenaje fué de 17 días en vez de 7 días.

10.

15.

<u>Tratamiento</u>	<u>Número atacado por crecimiento de hongos</u>
30% de alcohol etílico + 1% de ácido acético + 10% de polivinilacetato	7
30% de alcohol etílico + 1% de ácido acético + 0,2% de natamicina	2
30% de alcohol etílico + 1% de ácido acético + 0,2% de aurenofungina	1
30% de alcohol etílico + 1% de ácido acético + 0,2% de lucensomicina	2

20.

25.

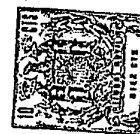
La Tabla demuestra que los antibióticos de polieno indicados proporcionan una buena protección contra el crecimiento de hongos.

EJEMPLO 6

Se lavaron "manos" de plátanos recién cosechados con agua y se secaron. Entonces se trataron los plátanos con las preparaciones indicadas a continuación por inmersión durante aproximadamente 15 segundos, retirados y empaquetados

30.

**POOR
QUALITY**



en cartones después del secado. Se mantuvieron los cartones a una temperatura de 12,5°C durante 14 días y entonces se dejaron madurar durante 7 días. El grado de putrefacción de tallo que ocurrió en cada mano fué relacionado como cero (ningún ataque fungal) o entre 1 y 4, indicando grados progresivamente mayores de ataque fungal. Se utilizaron 6 cajas con 8 manos por caja para cada tratamiento.

5.

10.

15.

<u>Tratamiento</u>	<u>% de putrefacción fungal</u>	
	<u>Cushions</u>	<u>Finger staltz</u>
Agua	46	22
30% de alcohol etílico + 0,5% de ácido acético + agua destilada hasta el 100%	44	23
30% de alcohol etílico + 0,5% de ácido acético + 0,2% de natamicina + agua destilada hasta el 100%	8	7
Agua + 0,2% de natamicina	34	18

Este Ejemplo demuestra una clara mejoría de la inhibición de hongos por utilización del alcohol y el ácido orgánico en la preparación.

20.

EJEMPLO 7

25.

Se arañaron naranjas, y a continuación se sumergieron en una suspensión de 500.000 esporos por ml durante un periodo de 15 segundos. Entonces las naranjas infectadas fueron tratadas con las soluciones indicadas a continuación con brocha, y almacenadas durante 6 semanas a 18°C y una humedad relativa de 95%. Se utilizaron 14 naranjas para cada prueba. Los resultados son los siguientes:



	<u>Tratamiento</u>	<u>Número de frutas podridas</u>
	Testigo	12
	Propanol-agua (3:7 v/v) + 1% de gelatina + 1% de ácido acético	10
5.	propanol-agua (3:7 v/v) + 1% de gelatina + 1% de ácido acético : 0,2% de natamicina	0
	propanol-agua (2:8 v/v) + 1% de gelatina + 1% de ácido acético	11
	propanol-agua (2:8 v/v) + 1% de gelatina + 1% de ácido acético + 0,2% de natamicina	2
10.	0,2% de Mertect 340	12
	0,2% de natamicina en agua	13

15. Este Ejemplo demuestra que se obtienen buenos resultados incluso después de periodos de almacenaje prolongados, cuando las preparaciones antifungales contenían alcohol y ácido orgánico.

EJEMPLO 8

Desinfectado de patatas

20. A. Se dejaron patatas infectadas con Rhizoctonia solani en la oscuridad, a temperatura ambiente, para que germinaran. Se recortaron los vástagos de las patatas por medio de un taladrador de corcho y, después de su secado, se sumergieron los pedazos en parafina fundida para proteger el exterior de los pedazos. Entonces se trataron 50 pedazos durante 30 minutos en las soluciones desinfectantes indicadas en la tabla a continuación. Después del tratamiento, se secaron los pedazos y se plantaron en tierra esterilizada. Se dejaron crecer los vástagos durante un periodo de 21 días a 20°C y 95 % de h.r. (humedad relativa). Después de ese periodo,

25.

30. se examinaron los vástagos afecciones tempranas (vástagos



completamente podridas) e infección tardía (vástagos con micelio y/o pequeñas lesiones marrones).

5.

% suspendido o disuelto en agua:			% de tallos afectados.		
natamicina	alcohol etílico	ácido acético	pronta	tarde	no afectada
0.1	50	0.1	2	8	84
-	50	0.1	24	60	14
-	-	-	54	30	16
0.1	-	-	18	42	40

10.

15.

La Tabla demuestra que el desinfectado de patatas con natamicina en presencia de alcohol etílico y ácido acético es bastante mejor que solamente con la natamicina.

20.

B. Para este experimento se utilizaron esclerotia, recortadas de patatas infectadas con *Rhizoctonia solani*. Se suspendieron 100 g de la esclerotia, durante 2 minutos, en soluciones según se indican en la Tabla a continuación, y a continuación se filtraron sobre algodón y se secaron. 3 días después se pusieron las esclerotia sobre platos petri con una capa de agua-agar de modo que cada plato petri obtuvo 25 piezas de esclerotia grande y 25 piezas de esclerotia pequeña (cortando las piezas grandes. Se observaron los platos petri después de 21 días y se contaron la cantidad de esclerotia que mostraban nanencias de lifae de *Rhizoctonia*.

25.



% de suspensión o solución acuosa			Número de esclerotia vivos	
natamicina	alcohol etílico	ácido acético	grande	pequeño
5. 0.2	50	0.1	0	0
0.2	10	0.1	0	0
0.2	-	0.1	3	7
10. no tratado			23	23

La Tabla demuestra que la combinación de natamicina con alcohol etílico y ácido acético es mejor que la combinación de natamicina con solamente ácido acético.

15. C. En otra prueba se sumergieron patatas durante 5 minutos a 12°C en las formulaciones desinfectantes indicadas en la Tabla a continuación. A continuación se secaron las patatas (Sientje) y se permitieron germinar durante un periodo de 7 días a 25°C. Entonces se plantaron las patatas en un cubilete de vidrio que contenía arena fina y húmeda y se mantuvo durante 3 semanas a 14°C. El contenido de humedad de la arena era de 20%. Después de 3 semanas, se examinaron las patatas individualmente para la presencia de micelio en la piel y sobre los vástagos, y para la presencia de las lesiones marrones típicas de la Rhizoctonia.

20. Como desinfectantes de prueba se utilizaron algunas formulaciones de natamicina, una forma cristalina basta de natamicina y un producto llamado Ardisan (basado en bromuro de etilmercurio). Cada grupo de prueba comprendía 15 patatas fuertemente infectadas. Una patata mostrando un vástago con

5.
10.
15.
20.
25.
30.



lesiones o con micelio no se consideraba como desinfectada.

	% de los siguientes componentes (en agua)			tipo de crecimiento			Número sin desinfectar	
	natamicina	alcohol		acético	AAR-disan	micelio		lesiones
		etilo	propilo					
5.	-	-	-	-	-	15	11	15
	-	10	-	0.1	-	15	6	15
	0.1 (i)	10	-	0.1	-	6	5	6
	0.2 (i)	10	-	0.1	-	2	1	2
10.	0.2 (ii)	10	-	0.1	-	0	0	0
	-	-	-	-	0.3	0	0	0
	-	-	10	0.1	-	14	7	14
	0.1 (i)	-	10	0.1	-	1	0	1
15.	0.2 (i)	-	10	0.1	-	1	0	1

(i) natamicina purificada

(ii) cristales crudos de natamicina

20. La Tabla demuestra que la formulación de 0,2% de natamicina, en combinación con alcohol y ácido acético, tiene un poder desinfectante contra Rhizoctonia solani que es, como mínimo comparable a un tratamiento normal con una formulación conocida.

EJEMPLO 9

25. Para este experimento se utilizaron bulbos de flor de lis, llamados Prof. Blaauw, de tamaño 10. Un experimento se efectuó en un invernadero, y otro experimento se efectuó al intemperie.

30. Para el experimento efectuado en invernadero, se inocularon los bulbos con una suspensión conteniendo 1,8 x



10⁵ gérmenes de flor de lis Fusarium oxysperum. Un grupo tes-
tigo no fué inoculado. La desinfección se efectuó durante 20
minutos en un tanque de 10 litros que contenía los líquidos
desinfectantes detallados en la Tabla a continuación. Des-
pués de la desinfección, se pusieron los bulbos en pequeñas
nolsas y se secaron al aire ambiental a 17°C y 60% h.r. du-
rante un periodo de 11 días. Después del secado, se planta-
ron los bulgos en un invernadero. La temperatura de la tie-
rra fué de 18 - 21°C. Antes de florecer, se inspeccionaron
los bulgos por ataque de Fusarium.

Grupo	% suspendido o disuelto en agua:					bulbos atacados
	nata- micina	estrop- to- micina	etilico alcohol	ácido acéti- co	Benlato (1)	
A	0.04	0.008	-	-	-	42
B	0.04	0.008	20	0.1	-	8
C	-	-	-	-	0.2	30
D	-	-	-	-	-	309
E	sin inocular, sin desinfectar					9

(1) un polvi humectable conteniendo 50% de carbamato de me-
til-butyl-carbamoil-benzimidazolilo.

Los líquidos desinfectados contenían un poco de es-
treptomycin en forma de su sulfato con el fin de evitar
infecciones por bacteria.

En el experimento efectuado al intermperie se tra-
taron los bulbos de modo similar, a excepción de que la sus-
pensión de inoculación contenía 1,5 x 10⁵ gérmenes por ml.



La temperatura de la tierra era de 14 - 17°C. Los resultados se indican en la Tabla a continuación.

Grupo	% suspendido o disuelto en agua:						bulbos atacados
	nata- micina	estropto- micina	TMTD (2)	alcohol etílico	ácido acéti- co	Benla- to	
A	0.04	0.008	0.3	-	-	-	17
B	0.04	0.008	0.3	20	0.1	-	4
C	-	-	0.3	-	-	0.2	10
D	-	-	0.3	-	-	-	168
E	sin inocular, sin desinfectar						0

(2) añadida una formulación humectable de disulfuro de tetrametiluram, para evitar infección de pitio.

Ambas Tablas demuestran que las formulaciones B, según la invención, son marcadamente mejor que las formulaciones de natamicina sin alcohol etílico y ácido acético (formulación A), e incluso mejor que Benlate, que es otra formulación utilizada amenudo para la desinfección de bulbos.

En estas especificaciones los porcentajes detallados son generalmente volumen/volumen a excepción de cuando los porcentajes están relacionados con la natamicina y otro antibiótico de polieno, en cuyo caso son de peso/volumen.

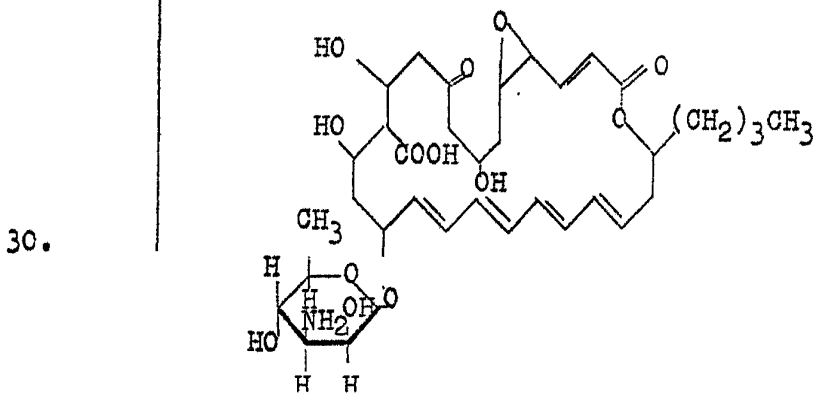
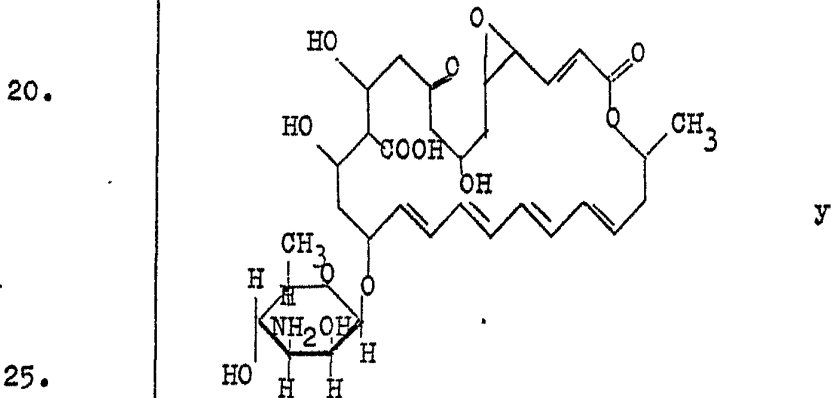
NOTA

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 unas Solicitudes de Patente, presentadas en Inglaterra, bajo los números y fechas siguientes:

5. 29503/75 de 3 de Julio de 1.974 y 06450/75 de 14 de febrero de 1.975; 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:
10. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE SALES ZWITERIONICAS DE ANTIBIOTICOS DE POLIENO; caracterizándose por lo siguiente:

1.- Procedimiento para la obtención de sales zwitteriónicas de antibióticos de polieno, de acción antifungal, utilizables en y sobre productos agrícolas tales como frutas, 15. verdura, tubérculos, raíces tubérculas, bulbos de flores y rizomas, caracterizado porque comprende hacer reaccionar en disolución un antibiótico de polieno, tal como aquellos de fórmula:



con una mezcla de un alcohol inferior y un ácido alcanoico inferior, a presión y temperatura ambientes.

5 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el antibiótico de polieno es natamicina, aureofungina o lucensomicina, o sales ó ésteres de éstos.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el alcohol inferior o ácido alcanoico inferior contiene un máximo de 8 átomos de carbono que pueden estar en cadena recta o ramificada.

10 4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el alcohol contiene hasta un grupo hidroxilo por cada átomo en la molécula.

15 5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el alcohol es alcohol metílico, etílico o propílico.

6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el ácido alcanoico contiene uno o dos grupos carboxilo y hasta 2 grupos hidroxilo.

20 7.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el ácido alcanoico contiene uno o más átomos de halógeno, preferentemente de cloro.

25 8.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el ácido alcanoico es ácido acético, propiónico, láctico, cítrico, ascórbico, cloroacético o tricloroacético.

9.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la cantidad de antibiótico que entra en reacción es de aproximadamente 0,05 - 0,5% preferentemente entre 0,1 a 0,2%.

30 10.- Procedimiento según la reivindicación 1, caract

terizado porque la cantidad de alcohol que entra en reacción es de aproximadamente 10 - 99%, preferentemente entre 15 y 50%.

5 11.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la cantidad de ácido alcanoico que entra en reacción es de aproximadamente 0,05 - 5%, preferentemente entre 0,5 y 1,5%.

10 12.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se agregan al medio reaccional agua y materiales adicionales, tales como, emulsiones plásticas, tal como emulsiones de acetato de polivinilo, antioxidantes tal como ácido ascórbico, agentes humectantes y espesantes tal como gelatina.

15 13.- Procedimiento para la obtención de sales zwitteriónicas de antibióticos de polieno, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 20 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 16 MAYO 1977

GIST-BROCADES N.V.

JOSE MANUEL GARCIA Y PONS
Presidente de la Junta Directiva

