

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 360**

51 Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06460014 .1**

96 Fecha de presentación: **14.06.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1734131**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.12.2006**

54 Título: **Un procedimiento de fabricación de una preparación de lectina, la preparación de lectina y procedimientos de administración de la preparación a mamíferos**

30 Prioridad:
16.06.2005 PL 37574605

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.12.2012

73 Titular/es:
**BIOLEK SP. Z O.O. (100.0%)
UL. PLOCKA 15C LOK. 72
01-231 WARSZAWA, PL**

72 Inventor/es:
**LAUBITZ, DANIEL;
MICHALOWSKI, PAWEL;
VALVERDE PIEDRA, JOSE L.;
PIERZYNOWSKI, STEFAN G.;
WESTRÖM, BJÖRN R.;
WOLINSKI, JAROSLAW y
ZABIELSKI, ROMUALD**

74 Agente/Representante:
ARIAS SANZ, Juan

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 393 360 T3

DESCRIPCIÓN

Un procedimiento de fabricación de una preparación de lectina, la preparación de lectina y procedimientos de administración de la preparación a mamíferos

5 Un objetivo de la invención es el procedimiento de fabricación de una preparación de lectina y la preparación de lectina, especialmente para aumentar la ganancia de peso en lechones destetados.

La vía de administración de la preparación es por la boca (oral).

10 La preparación que evita la diarrea en lechones, especialmente en el periodo de destete de sus madres, se conoce a partir de la descripción de la patente polaca n.º P.332344 y contiene el óxido de cinc y sulfaguanidina mezclados en cantidades adecuadas con el vehículo. Esta preparación se prepara escogiendo la cantidad apropiada de estos compuestos y su mezcla exacta para lograr la sustancia homogénea. Después de su análisis positivo, la preparación se envasa en recipientes herméticos y se distribuye.

15 El procedimiento para reducir la tasa de diarrea tras el destete en mamíferos jóvenes, especialmente en animales de granja, y la diarrea en niños, conocido a partir de la descripción de la solicitud polaca de la invención n.º P.330777, se caracteriza por inducir la maduración precoz del intestino y el proceso de su adaptación a los alimentos mediante la aceleración del intercambio de las células del epitelio del aparato digestivo mediante la administración oral o en el estómago de las lectinas adicionales, de forma provechosa fitohemaglutinina, aislada a partir de la alubia roja en una dosis de desde 10 hasta 500 mg/kg de peso corporal antes del destete para satisfacer los requisitos de digestión correcta y utilización de los alimentos.

20 Pusztai A. y Watt W.B. (Biochim. Biophys. Acta, vol. 365, 1974, pág. 57-71) divulga preparaciones de lectina seca obtenidas a partir de alubias rojas y se refiere a una publicación anterior de Pusztai A. y Watt W.B. (Biochim. Biophys. Acta, vol. 207, 1970, pág. 413-431) que proporciona la definición de la unidad de hemaglutinina y un ensayo para determinarla, que ha de usarse de acuerdo con la invención.

25 Radberg K. *et al.* (J. Anim. Sci., vol. 79, 2001, pág. 2669-2678) y Evilevitch L. *et al.* (Biol. Neonate, vol. 87, 2004-09-16, pág. 20-26) divulgaron que las preparaciones de lectina así obtenidas se pueden administrar a lechones lactantes. En los experimentos descritos, se administraron 100 miligramos de lectina por kilogramo de peso corporal a los animales.

30 Carvalho M.R.B. *et al.* (J. Nutri. Sci. Vitaminol., vol. 44, 1998, pág. 685-696) divulgaron otro procedimiento para purificar lectina a partir de alubias (*Phaseolus vulgaris* L) y para realizar una preparación adecuada para su administración en animales. Las lectinas se extraen a partir de harina de alubias (es decir, alubias molidas) con una solución salina ácida, seguido de fraccionamiento por medio de diálisis y centrifugación en una fracción de albúmina y una fracción de globulina y, finalmente, liofilización (es decir, coagulación) de las fracciones.

Sumario de la invención

35 El primer objeto de la invención es el uso de lectina en la fabricación de una preparación para aumentar la ganancia de peso en un lechón destetado, donde dicha preparación de lectina se encuentra en forma seca o líquida y se administra por vía oral a dicho lechón una vez entre el 10º y el 15º día de vida como una dosis unitaria que comprende 320 unidades de actividad de hemaglutinina (UH) para animales que pesan menos de 2 kg y 640 UH para animales que pesan 2-5 kg, en la que una unidad de actividad de hemaglutinina (UH) es la cantidad de material (en mg) que provoca una aglutinación del 50 % de 1 ml de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de 25 °C y en la que dicha preparación de lectina:

40 - se reparte en recipientes con un nivel marcado hasta el cual se puede introducir agua para obtener la suspensión con actividad de hemaglutinina de 320 UH o 640 UH/ml o

45 - se encuentra en una forma seca de comprimidos, que contienen polvo secado de lectina y talco y/o monosacáridos, preferentemente lactosa y/o celulosa cristalina y/o lubricantes, preferentemente estearato de magnesio, y dichos comprimidos están recubiertos con la película o azúcar para facilitar su deglución y la actividad de hemaglutinina de cada comprimido o comprimido recubierto o gragea es de 320 UH o 640 UH o

- se encuentra en una forma seca de cápsulas de gelatina o celulosa, que contienen el polvo secado de lectina y la carga, en la que la actividad de hemaglutinina de cada cápsula es de 320 UH o 640 UH.

50 El segundo objeto de la invención es una preparación de lectina para su uso en el aumento de la ganancia de peso de lechones destetados, donde dicha preparación de lectina se administra por vía oral a dicho lechón una vez entre el 10º y el 15º día de vida en una dosis que comprende 320 unidades de actividad de hemaglutinina (UH) para animales que pesan menos de 2 kg y 640 UH para animales que pesan 2-5 kg, en la que una unidad de actividad de hemaglutinina (UH) es la cantidad de material (en mg) que provoca una aglutinación del 50 % de 1 ml de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de 25 °C.

Descripción detallada de las realizaciones

55 La siguiente descripción comprende información adicional que facilita las realizaciones de la invención definida

anteriormente. Se dan únicamente con fines ilustrativos y no deberían tomarse como el alcance de la invención reivindicada.

5 El procedimiento de fabricación de la preparación de lectina de acuerdo con la invención se distingue porque la preparación se obtiene en el procedimiento en una etapa de extracción ácida de semillas de plantas leguminosas trituradas en presencia de antioxidantes naturales solubles en agua, y ese procedimiento de molienda de las semillas de plantas leguminosas se realiza a una temperatura inferior a 80 °C y, después de la separación de las partes sólidas, se somete el extracto a un procedimiento de concentración, después del cual se realiza un análisis para garantizar la actividad biológica. Después de la estandarización, el producto se envasa en recipientes o el extracto en bruto se seca por pulverización y, después de la estandarización, se dirige al empaquetado.

10 Es provechoso que la actividad hemaglutínica UH (unidad hemaglutínica) se marque como actividad biológica, definida como una cantidad de material expresada en mg/ml en la última dilución que provoca una aglutinación del 50 % de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de +25 °C, y que las semillas de plantas leguminosas sean semillas de alubia roja.

15 Además, es provechoso que la extracción ácida de las semillas de plantas leguminosas trituradas se lleve a cabo en presencia de antioxidantes naturales, que el procedimiento de molienda de las semillas de plantas leguminosas se realice a la temperatura de 30-40 °C, que la concentración y separación del extracto se realice usando la tecnología de ósmosis inversa, que se estandarice el extracto concentrado y que se añadan conservantes y estabilizantes para la forma líquida de la preparación.

20 De acuerdo con la invención, para obtener una forma seca de la preparación, se somete el extracto concentrado a secado. El extracto seco se analiza para determinar la actividad hemaglutínica UH y después se estandariza y se añaden los conservantes y estabilizantes. Es provechoso que el procedimiento de secado del extracto concentrado se lleve a cabo con un procedimiento de secado por pulverización.

25 La preparación de lectina para mamíferos se distingue porque, como forma seca para la suspensión extemporánea, contiene un polvo secado de lectina obtenido mediante la extracción ácida en una etapa de semillas de plantas leguminosas trituradas en presencia de antioxidantes naturales solubles en agua y, sucesivamente, la concentración y separación con la técnica de la ósmosis inversa y la técnica del secado por pulverización con actividad hemaglutínica UH definida en un volumen concreto (ml) de la suspensión, que contiene sustancias estabilizantes de la suspensión y/o aromáticas y/o sustancias de sabor agradable.

30 Es provechoso que la preparación de lectina para preparar la suspensión extemporánea esté embotellada o empaquetada con un nivel marcado hasta el cual se puede añadir agua para obtener la suspensión con una actividad hemaglutínica de 320-640 UH/ml.

La otra primera preparación de lectina para mamíferos se distingue porque la forma seca son comprimidos que contienen polvo secado de lectina y talco y/o monosacáridos, especialmente lactosa, y/o celulosa cristalina, y/o lubricantes, de forma provechosa, estearato de magnesio.

35 Es provechoso que los comprimidos de la primera preparación de lectina diferente estén recubiertos con la película o el recubrimiento de azúcar para facilitar su deglución y que la actividad hemaglutínica de cada comprimido o comprimido recubierto o gragea sea de 320-640 UH.

40 La otra segunda preparación de lectina para mamíferos se distingue porque la forma seca son cápsulas de gelatina o celulosa que contienen polvo secado de lectina y las sustancias auxiliares, y la actividad hemaglutínica de cada cápsula es de 320-640 UH.

La otra tercera preparación de lectina para mamíferos se distingue porque la forma líquida de suspensión son el polvo secado de lectina o el extracto de lectina concentrado, sustancias conservantes, estabilizantes y/o de sabor agradable, de forma provechosa monosacáridos, y/o sustancias aromáticas y agua o soluciones salinas acuosas, y la actividad hemaglutínica de la suspensión es de 320-640 UH/ml.

45 La otra cuarta preparación de lectina para mamíferos se distingue porque la forma líquida en gel son el polvo secado de lectina o el extracto de lectina concentrado, sustancias conservantes, estabilizantes y/o de sabor agradable, de forma provechosa monosacáridos, y/o sustancias aromáticas, sustancias gelatinosas y agua, y la actividad hemaglutínica del gel es de 320-640 UH/ml.

50 Es provechoso que la preparación en forma líquida se prepare en jeringuillas de tubo con o sin la posibilidad de fijar la dosificación o que se prepare en recipientes adaptados a dosificadores automáticos con o sin la posibilidad de fijar la dosificación.

55 La preparación de lectina para mamíferos se administra como una forma seca o líquida por la boca (por vía oral) a mamíferos clínicamente sanos una vez entre el 10^o y el 15^o día de vida, especialmente a lechones, con una actividad de 320 unidades hemaglutínicas para animales que pesan menos de 2 kg y 640 unidades hemaglutínicas para animales que pesan 2-5 kg.

En casos razonables, la preparación de lectina se administra a los mamíferos por intubación al esófago y/o al

estómago directamente.

De acuerdo con la invención, la preparación de lectina administrada por la boca (por vía oral) actúa de forma superficial y, de forma provechosa, sobre el aparato digestivo, provocando un aumento de la ganancia de peso y una mejor utilización del alimento.

- 5 De acuerdo con la invención, la preparación de lectina se somete a la prueba hemaglutínica, que es el único procedimiento para cualificar su actividad biológica UH, no su cantidad. El procedimiento en una etapa de extracción ácida de semillas trituradas permite obtener un residuo sólido que, tras la separación del extracto acuoso, es una fuente rica de proteínas desprovista de sustancias antinutricionales y que, tras su desecado y estandarización, se puede usar como aditivo rico en proteínas en la producción de alimento. La manera de producir las formas líquidas y secas garantiza una alta estabilidad de la preparación de lectina y da la posibilidad de una administración fácil de la preparación.
- 10

El objetivo de la invención se explica con precisión a continuación como el ejemplo de su producción.

- 15 La preparación de lectina, con nombre comercial Suilectin, se fabrica en un procedimiento en una etapa de extracción ácida de semillas de alubia trituradas en presencia de antioxidantes naturales solubles en agua a una temperatura inferior a +30 °C y, tras la separación de la fase sólida, se somete el extracto al procedimiento de concentración y separación mediante la técnica de ósmosis inversa. El extracto concentrado se analiza para calcular la actividad biológica. Para unificar y simplificar la evaluación del contenido en lectina biológicamente activa en la preparación administrada a los animales, se mide la actividad hemaglutínica UH tanto en la preparación terminada como en las fases indirectas de la fabricación de la preparación comercial Suilectin.

- 20 Una unidad de actividad hemaglutínica UH se define como una cantidad del material en mg/ml en la última dilución que provoca una aglutinación del 50 % de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de +25 °C de acuerdo con el procedimiento de Pusztai y Watt, con la modificación de 1974.

- 25 El extracto concentrado de acuerdo con una forma final de la preparación de lectina se procesa como sigue, para obtener formas líquidas se somete al procedimiento de estandarización y se añaden conservantes y estabilizantes o para obtener formas secas se realiza el procedimiento de secado.

El procedimiento de secado del extracto concentrado se realiza usando una técnica de secado por pulverización, tras la cual se analiza un polvo seco para calcular la actividad hemaglutínica UH y estandarizarlo.

La preparación de lectina para mamíferos se puede obtener en forma seca y líquida. Las formas secas de la preparación incluyen el polvo para obtener la suspensión extemporánea, comprimidos y cápsulas.

- 30 La forma seca de la preparación para preparar la suspensión extemporánea es el polvo secado obtenido mediante la extracción ácida en una etapa, la concentración y el secado del extracto de semillas de plantas leguminosas trituradas con una actividad hemaglutínica UH definida en 1 ml de la suspensión, que contiene sustancias estabilizantes y/o aromáticas y/o sustancias de sabor agradable. La preparación se prepara en los recipientes con un nivel marcado hasta el cual se introduce agua para obtener la suspensión con una actividad hemaglutínica de 320-640 UH/ml.
- 35

La forma seca de comprimidos contiene polvo secado de lectina y talco y/o monosacáridos, de forma provechosa lactosa, y/o celulosa cristalina y/o lubricantes, de forma provechosa estearato de magnesio. Los comprimidos están recubiertos con película o recubrimiento de azúcar para facilitar su deglución y la actividad hemaglutínica de cada comprimido o comprimido recubierto o gragea es de 320-640 UH.

- 40 La forma seca de cápsulas de gelatina o celulosa contiene polvo secado de lectina y las sustancias auxiliares y tiene una actividad hemaglutínica de 320-640 UH/cápsula.

La forma líquida de suspensión contiene polvo secado de lectina o extracto de lectina concentrado, las sustancias conservantes, estabilizantes y/o de sabor agradable, de forma provechosa monosacáridos, y/o sustancias aromáticas y/o agua, y la actividad hemaglutínica de la suspensión es de 320-640 UH/ml.

- 45 La forma líquida en gel contiene polvo secado de lectina o extracto de lectina concentrado, las sustancias conservantes, estabilizantes y/o de sabor agradable, de forma provechosa monosacáridos, y/o sustancias aromáticas, sustancias gelatinosas y/o agua, y la actividad hemaglutínica es de 320-640 UH/ml.

La preparación en forma líquida se prepara en jeringuillas de tubo con o sin la posibilidad de fijar la dosificación o en recipientes adaptados para dosificadores automáticos con o sin la posibilidad de fijar la dosificación.

- 50 Los efectos ejemplares de la preparación de lectina Suilectin en granjas de cerdos.

Participaron en el estudio cuatro granjas de cerdos de las provincias polacas de Lubelskie, Mazowieckie y Podlaskie. Se incluyeron en el estudio una cantidad total de 298 lechones de ambos sexos en la edad postnatal de 10-63 días y se analizaron las camadas completas, que consistían en 9-14 animales. En cada granja, los lechones se dividieron al azar en un grupo experimental y uno de control. En el 10^o-14^o día de vida, los lechones clínicamente sanos del grupo experimental recibieron Suilectin en una única dosis oral (por la boca) de 320 UH para lechones que pesaban menos

55

- de 2 kg y de 640 UH para lechones que pesaban 2-5 kg. Se alimentó a los lechones tanto del grupo de control como del experimental con leche materna hasta el destete. En las granjas 3 y 4, presentadas en la tabla 1, los lechones recibieron adicionalmente el alimento de iniciación desde el 14^o día de vida. Los lechones se destetaron en el 28^o día de vida y después se les alimentó con alimento de destete completo de acuerdo con el procedimiento de alimentación estándar de la granja. En las granjas 1 y 3 en la tabla 1, el alimento se preparó individualmente con el uso de materiales propios y la mezcla de vitaminas y minerales Lutamiks (BASF, Kutno, Polonia), que no contenía óxido de cinc, antibióticos y otros promotores del crecimiento. En las granjas 2 y 4 en la tabla 1, se alimentó a los lechones con el pienso completo adecuado para su edad que contenía promotores del crecimiento antibióticos y óxido de cinc.
- El peso corporal de los lechones se controló en el día de administración de Suilectin, en el día del destete, 3 y 7 días después del destete y, después de eso, en intervalos semanales hasta el 49^o, 56^o o 63^{er} día de vida. En 2 granjas se controló el consumo diario de alimento. Tras completar el estudio, se siguió alimentando a los lechones y se alojaron de forma rutinaria hasta alcanzar la masa corporal para la matanza.
- Los resultados del estudio indican el efecto provechoso de la preparación de lectina administrada una vez por la boca (por vía oral) en forma de cápsulas o suspensión en el 10-14^o día de vida a lechones clínicamente sanos. En el 49^o día de vida, los lechones del grupo experimental tenían un peso corporal significativamente mayor en comparación con los lechones del grupo de control como se muestra en la tabla 1.
- La dinámica de la ganancia de peso corporal medida entre el día de administración de la preparación de lectina y el destete fue mayor en el grupo de lechones que recibieron preparación de lectina en comparación con los de control. La tasa de conversión de alimento indicó una mejor utilización del pienso por cerdos de los grupos experimentales que en los de control.
- Tabla 1. El peso corporal y las ganancias de peso diarias promedio en el grupo de control y en el grupo tratado con Suilectin. Los valores representan los resultados promedio \pm DE de las 2 granjas mayores n^o 1 y 2, y las 2 granjas menores n^o 3 y 4 en las que se aplicó el alimento que contenía promotores del crecimiento antibióticos + ASW o sin - ASW.

Granja	Edad	Peso corporal en kg		Aumentos diarios del peso corporal en g	
		Suilectin	Control	Suilectin	Control
1	10-14	4,1 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1		
-ASW	28	8,0 \pm 0,2	8,1 \pm 0,3	230 \pm 7,3	225 \pm 8,8
n=109	63	20,9 \pm 0,3*	19,4 \pm 0,7	367 \pm 10,0**	324 \pm 15,0
2	10-14	4,1 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1		
+ASW	28	7,5 \pm 0,2*	7,0 \pm 0,2	198 \pm 7,2	177 \pm 6,0
n=108	49	13,6 \pm 0,4***	10,8 \pm 0,2	298 \pm 14,2	182 \pm 7,2
3	10-14	4,2 \pm 0,2**	3,6 \pm 0,2		
-ASW	28	9,8 \pm 0,4**	8,3 \pm 0,3	325 \pm 15,1**	278 \pm 12,0
n=38	56	18,4 \pm 0,7	16,8 \pm 0,8	309 \pm 22,5	301 \pm 24,8
4	10-14	3,4 \pm 0,2	3,6 \pm 0,2		
+ASW	28	6,4 \pm 0,4	6,3 \pm 0,3	177 \pm 16,8	158 \pm 11,4
n= 43	56	18,1 \pm 0,1	17,1 \pm 0,9	334 \pm 17,0	261 \pm 37,6

Las diferencias estadísticas se evaluaron con la prueba de la t de Student. * p < 0,05. ** p < 0,01. *** p < 0,001.

REIVINDICACIONES

1. Uso de lectina en la fabricación de una preparación para aumentar la ganancia de peso en un lechón destetado, donde dicha preparación de lectina se encuentra en forma seca o líquida y se administra por vía oral a dicho lechón una vez entre el 10º y el 15º día de vida como una dosis unitaria que comprende 320 unidades de actividad de hemaglutinina (UH) para animales que pesan menos de 2 kg y 640 UH para animales que pesan 2-5 kg, en la que una unidad de actividad de hemaglutinina (UH) es la cantidad de material (en mg) que provoca una aglutinación del 50 % de 1 ml de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de 25 °C y en la que dicha preparación de lectina:
- 5
- 10 - se prepara en recipientes con un nivel marcado hasta el cual se puede introducir agua para obtener la suspensión con actividad hemaglutínica de 320 UH o 640 UH/ml o
- se encuentra en una forma seca de comprimidos que contienen polvo secado de lectina y talco y/o monosacáridos, preferentemente lactosa y/o celulosa cristalina y/o lubricantes, preferentemente estearato de magnesio, y dichos comprimidos están recubiertos con la película o azúcar para facilitar su deglución y la actividad hemaglutínica de cada comprimido o comprimido recubierto o gragea es de 320 UH o 640 UH o
- 15
- se encuentra en una forma seca de cápsulas de gelatina o celulosa que contienen el polvo secado de lectina y la carga, en la que la actividad hemaglutínica de cada cápsula es de 320 UH o 640 UH.
2. Una preparación de lectina para su uso en el aumento de la ganancia de peso de un lechón destetado, donde dicha preparación de lectina se administra por vía oral a dicho lechón una vez entre el 10º y el 15º día de vida en una dosis que comprende 320 unidades de actividad hemaglutínica (UH) para animales que pesan menos de 2 kg y 640 UH para animales que pesan 2-5 kg, en la que una unidad de actividad hemaglutínica (UH) es la cantidad de material (en mg) que provoca una aglutinación del 50 % de 1 ml de una suspensión de eritrocitos al 2 % a una temperatura de 25 °C, en la que dicha preparación de lectina:
- 20
- 25 - se prepara en recipientes con un nivel marcado hasta el cual se puede introducir agua para obtener la suspensión con actividad hemaglutínica de 320 UH o 640 UH/ml o
- se encuentra en una forma seca de comprimidos que contienen polvo secado de lectina y talco y/o monosacáridos, preferentemente lactosa y/o celulosa cristalina y/o lubricantes, preferentemente estearato de magnesio, y dichos comprimidos están recubiertos con la película o azúcar para facilitar su deglución y la actividad hemaglutínica de cada comprimido o comprimido recubierto o gragea es de 320 UH o 640 UH o
- 30
- se encuentra en una forma seca de cápsulas de gelatina o celulosa que contienen el polvo secado de lectina y la carga, en la que la actividad hemaglutínica de cada cápsula es de 320 UH o 640 UH.