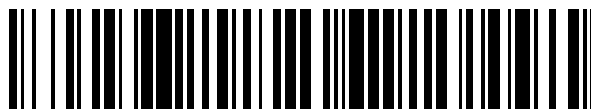


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 598**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7032 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 36/81 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 1/14 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01)

A61K 47/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2010 E 10740275 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2440213**

54 Título: **Uso de glicósido de 1,25-dihidroxivitamina-D3 en animales lactantes**

30 Prioridad:

10.06.2009 BE 200900354

14.09.2009 EP 09170222

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.02.2014

73 Titular/es:

EMMA (RTM) NUTRITION (100.0%)

Paardenmarkt 10

8970 Poperinge , BE

72 Inventor/es:

VERSCHAEVE, MAURICE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 444 598 T3

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).

DESCRIPCIÓN

Uso de glicósido de 1,25-dihidroxitamina-D3 en animales lactantes

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica que se produce principalmente en animales lactantes tales como vacas, vacas lecheras, ovejas, cabras, pero también en caballos. La enfermedad se da principalmente en animales mayores altamente productivos que ya han dado a luz múltiples veces. Aunque la hipocalcemia aparece principalmente como hipocalcemia subclínica en la fase post-parto temprana y en el periodo de lactancia varias semanas después del parto, el periodo en el que se manifiesta puede variar entre unas pocas semanas antes y unas pocas semanas después del parto. El ciclo de lactancia de una vaca lechera comienza inmediatamente después del parto y se extiende aproximadamente durante 10 meses del año.

Los primeros síntomas de la hipocalcemia son una pérdida de excitación mental y un apetito reducido. Los cambios se pueden producir en un periodo de tiempo relativamente corto de un par de minutos, hasta un periodo de tiempo mayor de varias horas. Se aconseja un tratamiento rápido del animal a fin de mejorar la respuesta. Se conocen casos graves de hipocalcemia que han provocado paresia de nacimiento o fiebre de lactancia que puede evolucionar hacia una parálisis predominantemente de la parte trasera del animal, pudiendo conducir a la muerte del animal.

La aparición de hipocalcemia se atribuye a un nivel de calcio en sangre excesivamente bajo, que se produce principalmente durante el periodo del parto. En este periodo, la cantidad de Ca necesaria para la producción del calostro es muy superior a la cantidad disponible en la sangre, obtenida por captación a través de los intestinos y mediante movilización desde los huesos. Durante el periodo seco, es decir, un periodo de aproximadamente dos meses precedentes al parto en los que el animal no tiene leche, la lactancia es mínima y las necesidades de Ca son significativamente menores. Entonces la vaca es capaz de reabsorber una cantidad suficiente de calcio desde el intestino. Durante este periodo seco, las necesidades de calcio para mantener el metabolismo y el crecimiento del feto son limitadas (< 30 g), mientras que la cantidad de calcio en la comida normal es sustancialmente mayor. Como resultado de esto, el cuerpo del animal reacciona disminuyendo la absorción gastrointestinal de calcio. Por lo tanto, la excreción de hormonas responsables de un transporte activo de calcio originado en el tracto gastrointestinal y para la movilización desde los huesos hasta la sangre (hormona paratiroide, 1,25-Dihidroxi-Vitamina D) se encuentra en mínimos durante este periodo. Alrededor del momento del parto, se induce la lactancia y las necesidades de calcio aumentan sustancialmente. Por consiguiente, la producción de leche pasa por un pico a las 4-6 semanas del parto. Entonces se transportan grandes cantidades de calcio desde la sangre hasta la glándula lactante, como resultado de lo cual la cantidad de calcio en la sangre disminuye significativamente. Si la concentración disminuye por debajo de 1,8 mMol/L, algunas vacas pueden mostrar síntomas de hipocalcemia. El inicio de la lactancia genera una importante presión sobre el equilibrio de Ca y, a pesar de la regulación hormonal, que provoca la activación de mecanismos dependientes de vitamina D, se produce una deficiencia de Ca (hipocalcemia) en un determinado grado en todas las vacas. La mayoría de las vacas poseen un mecanismo de resistencia natural que las permite proporcionar un suministro de calcio suficiente, independiente del calcio originado en la nutrición, a través de la captación desde los intestinos y reabsorción desde el esqueleto. Sin embargo, en un 5-20% de las vacas la recuperación del equilibrio de Ca no se alcanza mediante la intervención de la hormona paratiroide y desarrollan fiebre de lactancia o hipocalcemia.

En las vacas que padecen hipocalcemia generalmente se reconocen tres estadios de la enfermedad.

Estadio 1 de la enfermedad: sin síntomas típicos. Signos observados que solo atraen la atención después de observación durante aproximadamente 1 hora: falta de apetito, excitabilidad, nerviosismo, debilidad, cambio de la carga del peso y movimiento de las patas traseras, la vaca exhibe una pobre coordinación de sus movimientos, temblores y movimientos agitados de los músculos, enfriamiento de los grupos musculares grandes del animal, particularmente un extremo trasero frío del animal.

Estadio 2 de la enfermedad: que dura entre 1 y 12 h. Las vacas son incapaces de permanecer de pie pero pueden mantenerse recostadas, con la cabeza habitualmente girada hacia el cuerpo. Los animales afectados parecen torpes y apáticos. El tracto digestivo está inactivo, el ritmo cardíaco aumenta por encima de 100 pulsaciones por minuto (ppm) y la temperatura corporal se reduce.

Estadio 3 de la enfermedad: se observa una pérdida progresiva de la consciencia (finalmente, coma). Aumento adicional del ritmo cardíaco que puede alcanzar las 120 ppm y la temperatura corporal desciende aún más. Las vacas no tratadas pueden morir en menos de 12 h desde el inicio de los primeros signos clínicos.

Se han desarrollado varios métodos para el tratamiento de la hipocalcemia. Entre otros, los ejemplos incluyen la administración intravenosa (IV) de calcio que produce una recuperación en un plazo corto de tiempo; la administración IV de una infusión de Ca/Mg el día después del parto; la inyección de una preparación sintética de vitamina D a fin de estimular la captación de Ca en el intestino, que está prohibida en muchos países a pesar sus buenos resultados; la administración bucal de vitamina D2 ó la administración por inyección de vitamina D3 ó dihidrotaquisterol en los músculos. La desventaja es que estos compuestos todavía deben ser metabolizados y no son estables en un entorno orgánico. Asimismo, solo una pequeña parte de los compuestos administrados es convertida en el metabolito activo 1,25-dihidroxitamina D3, como resultado de lo cual se deben administrar grandes

cantidades para conseguir una concentración terapéutica del metabolito activo. Otro método está dirigido a controlar el equilibrio de anión-catión en la ración de pienso durante las últimas semanas previas al parto. Las raciones de pienso altamente aniónicas, que comprenden principalmente cloruro y azufre, parecen ser capaces de reducir el porcentaje de ocurrencia de la fiebre lactante, ya que reducen el pH de la sangre y por tanto incrementan la captación de Ca desde los huesos y desde la sangre.

La solicitud de patente EP 1162890 describe un método para la prevención de la hipocalcemia en un animal lactante, mediante el cual durante al menos una parte del periodo seco se suministra pienso que contiene una cantidad efectiva de un compuesto, que reduce la absorción de calcio desde el agua de bebida y/o desde la ración de pienso del animal uniendo el calcio libre presente en el canal gastro-enterítico. Puesto que el calcio libre no puede ser absorbido por el animal, el calcio natural que regula el mecanismo de defensa es estimulado. Los ejemplos de unión de calcio adecuados son el ácido oxálico, el oxalato sódico, el ácido fitínico, un fitato, arcillas minerales, zeolitas y otros. Sin embargo, este método requiere una organización estricta y una alimentación apropiada de las vacas que se encuentran en su periodo seco.

Gerloff et al., "Dry Cow Feeding and Metabolic Problems", 46th Minnesota Nutritional Conference and Monsanto Technical Symposium, 16-18 de septiembre de 1985, sugieren evitar una captación excesiva de calcio y fósforo en el periodo que precede al parto para evitar la fiebre lactante. Jorgensen, N. A., "Combating Milk Fever", Journal of Dairy Science, Vol. 57, N° 8, 1973, pág. 933-944, proporciona una visión general de los métodos conocidos para el tratamiento de la fiebre de lactancia. Como ejemplos se mencionan dietas preparto con un bajo nivel de calcio, que regulan la relación calcio/fósforo, la administración de alimentos ácidos, la administración preparto de ácidos minerales o cloruro amónico, la administración diaria de 90 a 100 g de cloruro cálcico durante un periodo corto, la administración preparto de grandes dosis de vitamina D ó 25-hidroxicolecalciferol. Howard, Ed., "Current Veterinary Therapy I: Food Animal Practice", W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1981, pág. 340-343, describe la administración antes del parto para reducir la aparición de la fiebre de lactancia. También se describe la administración oral de 90 a 100 g de cloruro cálcico durante dos o tres días antes del parto.

De la solicitud de patente US-A-4.931.290 se sabe que se reduce el riesgo de aparición de fiebre de lactancia tras el parto mediante la administración al animal después del parto, cada 8-16 horas, de una dosis oral de una cantidad efectiva de (1) una sal de calcio soluble en agua, (2) una cantidad efectiva de un agente complejante para complejar fósforo en un complejo de fósforo no soluble en agua, y (3) aproximadamente 17 mg de magnesio o un metal equivalente. La administración de Ca y la unión de fósforo en un complejo insoluble tienen el efecto de que las concentraciones de calcio en suero se mantienen en un nivel que previene las formas graves de la fiebre lactante. La dosis administrada también puede comprender vitamina D3. La dosis se administra en la forma de un polvo, un comprimido, cápsula o bolo. Se sugiere administrar las primeras tres dosis durante las primeras 30 horas tras el parto, tal como inmediatamente después del parto y tras 12 y 24 horas, típicamente seguidas de dosis adicionales a 36, 48 y 72 horas del parto. Sin embargo, la administración repetida tras el parto influye negativamente en el confort y el bienestar del animal y demanda un control intensivo por parte del criador de ganado. Una desventaja adicional es que la vitamina D3 no se metaboliza suficientemente.

La solicitud de patente US2006/270640 describe la administración transvaginal de 1[alfa]-hidroxivitamina D3 ó 1,25-dihidroxivitamina D3 para el tratamiento de hipocalcemia, más específicamente para el tratamiento de trastornos tales como astasia intraparto, que es una causa importante de muerte en vacas. Las vitaminas D, A y E bastante solubles en lípidos, y sólo un derivado especial de la vitamina D, pueden ser absorbidas a través de la vagina en una cantidad suficiente para evitar la fiebre de lactancia. Sin embargo, este método es incómodo para el animal.

El documento WO 2009/129818 A1 describe el uso de un extracto enriquecido de *Solanum glaucophyllum* con glicósidos de 1,25-dihidroxivitamina D3 o sus análogos sintéticos, junto con flavonoles, particularmente glicósidos de quercetina, para el tratamiento de paresia hipocalcémica en torno al parto en animales productores de leche y cualesquier enfermedades relacionadas con un descenso de los niveles de calcio en plasma durante el parto en reses y otros animales productores de leche. La administración puede ser oral, p. ej. en cápsulas o comprimidos. También son posibles formulaciones de retardo, pero el documento no describe cómo debería obtenerse ninguna liberación retardada, en particular no con administración oral a rumiantes. También puede haber presente materia inorgánica presente en la formulación como componentes inactivos. La administración se produce con vacas preñadas en una dosis única e inmediata de 5 g entre las 72h y las 24h previas al parto. Sin embargo, la solicitud de patente WO 2009/129818A1 no habla de las cantidades exactas de las sustancias activas administradas como partes de dicha dosis. Una desventaja de la descripción del documento WO 2009/129818 A1 es que primero es necesario preparar un extracto enriquecido de *Solanum glaucophyllum*, lo que añade complejidad adicional a la preparación de la composición que debe administrarse. Otra desventaja es que las sustancias activas se administran como dosis inmediata, cuyos efectos pueden reducirse bastante rápido con el tiempo, lo que representa un problema particular para ajustar el horario de administración a las vacas preñadas, en vista de la dificultad de predecir el momento exacto del parto. Otra desventaja adicional es que la composición propuesta en el documento WO 2009/129818 A1 es un fármaco sintético, que necesita pasar los diversos procedimientos de registro oficial de fármacos, que llevan mucho tiempo, son costosos y complejos, antes de poder ser comercializado. Por tanto, la solicitud de patente WO 2009/129818 A1 se refiere a la producción y administración de un fármaco sintético, y por lo tanto pertenece a un campo diferente del de la presente invención.

En la referencia "Using *Solanum glaucophyllum* as a source of 1,25-dihydroxyvitamin D to prevent hypocalcemia in dairy cows", Horst et al., Acta vet; scand. Suppl. 98-2003, se combate la hipocalcémica con bolos de gelatina que comprenden hojas de *Solanum glaucophyllum* (Sg). Se administraron bolos de gelatina a vacas que recibían una dieta con un equilibrio catiónico-aniónico reducido. Los bolos hechos de gelatina tienen la característica de disolverse relativamente rápido en el estómago, y de liberar sus ingredientes activos habitualmente en un periodo de 12 horas. La *Solanum glaucophyllum* (Sg) es una planta que comprende grandes cantidades de glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3. En dicha publicación se describen varios experimentos con bolos de gelatina. La conclusión final es que los mejores resultados se obtienen mediante una administración en fases. De este modo, desde los 5 días preparto hasta los 7 días postparto, se administró diariamente un bolo que comprendía 2 g de Sg, desde el día 8 hasta el día 14, se administró diariamente un bolo que comprendía 1 g de Sg, y en los días 15-21 el bolo diario comprendía 0,5 g. Aunque con este método se obtuvieron buenos resultados, el método es incómodo para el animal, ya que recibe la administración de un bolo diario, y para la persona que cuida de los animales, ya que la administración diaria de bolos es una actividad de trabajo intenso, y además la fecha preparto es difícil de predecir con precisión.

Aunque se han desarrollado varios remedios y métodos para la prevención y el tratamiento de la hipocalcemia, todavía existe una necesidad de un remedio que sea capaz de solventar la hipocalcemia de un modo eficaz, tanto en la fase temprana cuando se manifiesta la hipocalcemia en forma de reducción del apetito, como en la fase tardía en la que pueden aparecer signos de parálisis. Además, existe una necesidad de proporcionar el máximo confort posible al animal y a la persona que cuida del animal.

El objetivo de esta invención, por lo tanto, es prevenir un síntoma en un animal lactante, seleccionado entre apetito reducido, parálisis o una combinación de ambos, en el periodo posterior al parto o a dar a luz a crías, de un modo que proporcione un confort óptimo al animal y a la persona al cargo de su cuidado. Prevenir o evitar dichos efectos tiene una importancia significativa para los criadores de ganado lechero, tanto en términos de carga de trabajo como de estrés emocional, así como comercialmente, ya que influyen fuertemente en la producción de leche de los animales.

Esto se logra según la presente invención mediante la composición para uso como se define en la reivindicación 1.

Preferiblemente, las hojas proceden de *Solanum glaucophyllum*. El inventor ha descubierto que el glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 es captado por la sangre de forma casi inmediata, también cuando se administra oralmente. El glicósido se separa metabólicamente en el sistema gastro-enterítico, después de lo cual la 1,25-dihidroxivitamina D3 pasa a estar disponible biológicamente en el animal para proporcionar un aumento de la captación de calcio intestinal a través de la sangre. El efecto biológico del glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 comienza con en un corto periodo de tiempo después de la ingesta y asegura que el mecanismo de defensa natural del animal sea estimulado poco después de la ingesta. El glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 se metaboliza por ruptura del glicósido y se mueve directamente al intestino, donde puede ser asimilado por la sangre, al contrario que la propia vitamina D3. Administrando la composición antes de la lactancia, a un tiempo en el que el animal tiene un buen apetito y todavía no se ha producido la deficiencia de Ca, el animal tiene la capacidad de construir una buena resistencia, de tal modo que el riesgo de aparición de una reducción del apetito y de signos de parálisis asociados a la hipocalcemia tras dar a luz puede minimizarse en una etapa temprana. La liberación retardada del glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 asegura que la captación de Ca gastro-intestinal óptima se extiende a lo largo de un periodo de tiempo mayor. Esto es importante debido al hecho de que la pérdida de apetito y los signos de parálisis también pueden aparecer en una etapa algo posterior, es decir, entre unos pocos días y unas pocas semanas después del parto. La composición para uso según esta invención puede administrarse peroralmente de cualquier manera deseada, pero se administra preferiblemente con un mecanismo de administración puntual a través de la boca para asegurar una administración directa al estómago.

La composición para uso según esta invención preferiblemente tiene una densidad de al menos aproximadamente 1,25 kg/L y como resultado de ello se hunde, tras la ingesta en el estómago, directamente al fondo del estómago, más específicamente al fondo del segundo estómago o del primer estómago, donde permanece, con un riesgo mínimo de mezclarse con la comida que está siendo rumiada. De este modo, se garantiza una administración óptima del glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 al intestino. Sin embargo, preferiblemente la composición tiene una densidad que es al menos de 1,5 kg/L, más preferiblemente de 1,75 kg/L. Dicha elevada densidad puede, por ejemplo, obtenerse añadiendo uno o más metales o compuestos metálicos a la composición. Los ejemplos de metales adecuados son hierro, óxidos de hierro u otros compuestos de hierro. Éstos muestran un mínimo riesgo de intoxicación. También se pueden usar otros metales o compuestos metálicos, tales como polvo de zinc, polvo de cobre, pero su concentración debe elegirse de tal modo que se evite la intoxicación. Preferiblemente, se añade aproximadamente un 20-60 % p/p de polvo de metal a la composición para uso según la presente invención, más preferiblemente aproximadamente un 30-50 % p/p de polvo de metal, lo más preferiblemente aproximadamente un 40 % p/p de polvo de metal. Preferiblemente, el polvo de metal es polvo de hierro.

Debido a que el compuesto activo se libera de la composición de modo retardado, una única dosis puede ser suficiente, siempre que la dosis de glicósido de 1,25-dihidroxivitamina D3 esté elegida de forma adecuada. Gracias a la liberación retardada que se logra porque el material del bolo se descompone o erosiona físicamente de forma lenta, se obtiene un efecto similar al de una administración por fases de hojas que comprenden glicósido de 1,25-

dihidroxitamina D3, pero en este caso con una única administración. El hecho de que una única administración peroral sea suficiente, aumenta el confort del animal y de la persona a su cargo de forma considerable. La liberación retardada no se logra únicamente por el material del bolo que se erosiona lentamente, sino también porque la 1,25-dihidroxitamina D3 se liga a una estructura de glicósido, que tiene que ser atacada enzimáticamente en el metabolismo de la vaca, y porque la 1,25-dihidroxitamina D3 debe ser liberada primero de las hojas.

La ruptura del grupo glicósido en la flora del rumen, por ejemplo, requiere aproximadamente 8-12 horas. Como consecuencia, se libera la 1,25-dihidroxitamina D3. A continuación, dicha 1,25-dihidroxitamina D3 se vuelve disponible para la captación en 15 min – 6 horas. Debido a esta ruptura del glicósido, la administración de 1,25-dihidroxitamina D3 es retardada aún más.

Debido al hecho de que el compuesto activo glicósido de 1,25-dihidroxitamina todavía está encapsulado en las hojas, se logra una liberación aún más retardada de la sustancia activa, lo cual constituye una ventaja adicional para la acción de la composición para una administración única.

Finalmente, de este modo se obtiene una composición con una liberación retardada estable que dura aproximadamente 10-12 días, disminuyendo la liberación hacia el final. Debido a esta disminución hacia el final, se evita un habituamiento al producto, como resultado de lo cual normalmente no se produce un efecto de recaída al finalizar el tratamiento, y como tal, la condición fisiológica del animal se mantiene óptima. Una liberación retardada con un descenso hacia el final de este tipo no se conoce en la actualidad para la hipocalcemia con una administración única, y por tanto ofrece ventajas considerables tanto para el animal como para la persona que cuida del animal. Mediante la administración única y la acción retardada, se asegura la producción de leche después del parto, así como una buena condición del animal. La glándula paratiroide también puede comenzar lentamente a funcionar y retomar su producción de hormona paratiroide, y como resultado el proceso biológico global funciona con normalidad.

Mientras que las técnicas conocidas se centran únicamente en aumentar la concentración de Ca en sangre o en estimular la producción de Ca durante el periodo seco, y así intervenir en el metabolismo de Ca/Mg del animal lo que puede provocar efectos secundarios no deseados, esta invención se centra en posibilitar una utilización más suficiente del abundante Ca libre presente en el intestino a través de la comida, sin intervenir sustancialmente en el metabolismo de Ca/Mg. Ésta es una ventaja importante debido a que un cambio en las concentraciones de Ca/Mg puede dar lugar, entre otros, a la aparición de calambres.

El glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 usado en la composición para uso según esta invención deriva preferiblemente de la planta *Solanum glaucophyllum*. Preferiblemente se obtiene mediante la preparación de las hojas de *Solanum glaucophyllum*, más específicamente estandarizando el contenido de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 que se origina en la *Solanum glaucophyllum*. Así, grandes lotes de *Solanum glaucophyllum* son sometidos a una intensa molienda y mezclamiento, tras lo cual se determina la concentración media correcta de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, que se aplica al lote completo mediante una mezcla intensiva. Después de esto, se pueden pesar pequeñas cantidades de dichas hojas molidas para obtener con una precisión considerablemente elevada una cantidad específica determinada de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 por dosis (o bolo). De esta manera, se puede asegurar una cantidad constante y precisa de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 en el bolo. Dicha mezcla de *Solanum glaucophyllum* de partes de hojas que comprenden glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 se encuentra disponible comercialmente como una composición que comprende habitualmente 20 ppm de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 (20 mg por kg).

Para facilitar la administración y mantener así el confort del animal lo más elevado posible, la composición se administra en forma de comprimidos o bolos, siendo preferido el uso de bolos.

En el caso de que la composición se administre como un comprimido o un bolo, se administra preferiblemente a través de la boca usando un dispositivo de disparo de tal modo que se asegure que la composición acaba en el segundo estómago o en el primer estómago, y que el riesgo de rumiación se mantiene mínimo. Debido a su elevada densidad, el bolo permanecerá en el fondo del segundo estómago o del primer estómago con un riesgo muy bajo de ser rumiado, y el glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 es liberado desde el segundo estómago o desde el primer estómago en un proceso retardado. El rumen es el primer estómago, con una capacidad de aproximadamente 200 litros. Típicamente, el bolo permanecerá en este estómago, aunque el bolo puede en determinados casos moverse también hacia el segundo estómago o retículo. Si el bolo permanece en el retículo o en el rumen, prácticamente no supone mucha diferencia para su acción. Debido a la estructura fisiológica de los estómagos en los animales rumiantes, tales como las vacas, la posibilidad de que el bolo se mueva hacia un tercer estómago es muy improbable. Si el bolo fuera regurgitado y rumiado por el animal, esto seguiría sin ser problemático ya que la vaca rumia el alimento en trozos pequeños y dichos trozos acabarían en el fondo del retículo o del rumen, donde seguirían desintegrándose.

El inventor ha descubierto que debido a su elevada densidad, el bolo permanece después de la ingesta en el fondo del segundo estómago o del primer estómago, con un riesgo muy bajo de ser regurgitado durante la rumiación y de que el glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 sea liberado de las hojas mucho más rápido de lo deseado. El peso y

las dimensiones del bolo pueden variar dentro de un intervalo grande, pero preferiblemente se ajustan al peso del animal, de tal modo que una única administración es suficiente.

La dosis de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 administrada al animal preferiblemente es de al menos 460 µg, preferiblemente 550 µg. Esta dosis se elige de tal modo que la cantidad de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 administrada sea suficiente para alcanzar el efecto preventivo. Dicha dosis se elige de tal modo que la cantidad de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 administrada sea suficiente para alcanzar la cantidad de Ca, que es reabsorbido diariamente desde el canal gastro-entérico, que comprenda al menos una parte de la cantidad diaria normal, preferiblemente al menos la cantidad diaria normal. Una dosis de 450 a 500 µg dividida por un mínimo de 10 días da como resultado una administración media de máximo 50 µg al día. Si en lugar de las hojas se usan extractos de *Solanum glaucophyllum*, o si se administra 1,25-dihidroxitamina D3 sintética, la administración se retarda menos, lo que supone una desventaja. Tampoco se produce ruptura biológica del glicósido. Si no hay liberación retardada, o si hay una liberación menos retardada, la ventana para la administración terapéutica en una única administración se hace muy pequeña. El compuesto activo se liberará mucho más rápidamente que con la liberación retardada. Por consiguiente, el bolo tendrá que ser administrado en un momento exacto determinado antes del parto, que ha de determinarse con precisión. Si esto no se produce, se corre el riesgo de liberar el compuesto activo demasiado pronto o demasiado tarde. Sin embargo, puesto que el momento del parto es difícil de predecir, existe una probabilidad relativamente alta de que dicho bolo no sea administrado en el momento correcto. En este caso o en el caso de que accidentalmente algo vaya mal en la liberación retardada del compuesto activo desde la composición, y se libere una cantidad mayor del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 a un tiempo dado, no hay consecuencias negativas directas para el animal, pero posiblemente el efecto protector desaparecerá parcial o totalmente.

La liberación retardada de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 se logra encapsulando el glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 en un material o un compuesto que se descomponga o se erosione físicamente de manera lenta en el estómago. Los compuestos para este propósito se eligen del grupo de una grasa, por ejemplo aceite de ricino que puede estar parcial o completamente endurecido por hidrogenación, o una derivado graso, pero también se pueden usar de forma adecuada un polisacárido, una celulosa, una goma, un glicol y derivados de estos compuestos. El aceite de ricino que ha sido hidrogenado y comprimido muy fuertemente habitualmente funciona durante 10-12 días. Es importante que la velocidad de hidrólisis del compuesto sea suficientemente baja para ser capaz de asegurar una liberación retardada del compuesto activo. También es importante que el punto de fusión de la sustancia sea bastante elevado, preferiblemente alrededor y por encima de 88°C. Esto también es importante en la producción de la composición, dado que el compuesto debe mezclarse en fundido con las hojas y los demás ingredientes. Más adelante en la presente memoria, se describe una realización preferida de dicho proceso. Preferiblemente, se usa aceite de ricino completamente hidrogenado. Este compuesto es muy adecuado para producir una composición para una liberación retardada de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, dado la velocidad óptima a la que se erosiona físicamente el material. Este compuesto también puede comprimirse muy bien en combinación con, por ejemplo, polvo de hierro, que se usa para hacer la composición más pesada. Además del aceite de ricino, también se añade preferiblemente estearato de magnesio, como lubricante durante la compresión de la composición. Si se desea, la composición que contiene glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 puede ser encapsulada en una membrana, por ejemplo una membrana de los compuestos mencionados previamente o una lámina de un material plástico que sea biológicamente degradable en el estómago, tal como un poliéster, por ejemplo ácido poliláctico. Los compuestos que controlan la liberación retardada del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 se seleccionan de tal modo que la liberación continúe durante un periodo de al menos 3 días, preferiblemente de al menos 5 días. La liberación se detendrá normalmente en un periodo de 20 días después de la administración, preferiblemente en un periodo de al menos 10 días.

Preferiblemente, el tamaño y forma del bolo se determinan también en función del material o del compuesto elegido para el bolo, de tal modo que se obtienen los periodos de liberación del compuesto activo, tal como se han descrito antes en la presente memoria. En una realización preferida del bolo en la que se usa aceite de ricino endurecido o hidrogenado con un poco de estearato de magnesio como material de erosión lenta, el bolo puede, por ejemplo, tener una longitud de 80 mm y un espesor y una anchura de 25 mm, preferiblemente con formas y/o bordes redondeados para reducir el riesgo de lesiones.

La composición puede comprender además metabolitos de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3.

La composición para uso según esta invención está destinada a administración peroral, preferiblemente en un momento situado poco antes del parto, pero suficientemente antes del parto para garantizar una captación de Ca óptima durante tanto tiempo como exista una necesidad de Ca incrementada. Preferiblemente, la composición o el bolo se administran al menos 1 día antes del parto, preferiblemente 1 ó 2 días antes del parto.

En una realización útil, la composición para uso según esta invención comprende aditivos que pueden apoyar o mejorar el efecto de la composición, tal como por ejemplo otras vitaminas o derivados de los mismos, tal como vitamina A, B12, C, D, E, K, niacina, tiamina, colina, biotina, ácido fólico, riboflavina, ácido pantoténico, uno o más minerales, seleccionados del grupo de cobalto, cobre, manganeso, selenio, cinc o un vehículo para la 1,25-dihidroxitamina D3 o el glicósido. El uso de un vehículo puede ser útil para mejorar la dispersabilidad interna o

entre los demás componentes de la composición. Los ejemplos de materiales vehículos adecuados incluyen fibras de madera, serrín.

La composición para uso según la presente invención es adecuada para uso en animales lactantes, por ejemplo vacas, ovejas, cabras, caballos, burros, etc.

- 5 La descripción también se refiere al uso de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 para la preparación de una composición con una densidad de al menos 1,25 kg/L, lo que provoca una liberación retardada de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 con el propósito de aumentar la captación intestinal de calcio por parte de la sangre en un animal en la cercanía o después del parto.

- 10 Otro aspecto de esta descripción se refiere al uso de una composición que comprende glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 como se ha descrito antes en la presente memoria para prevenir un síntoma seleccionado entre apetito reducido, parálisis o una combinación de ambos en un animal después del parto.

Otro aspecto adicional de esta descripción se refiere al uso de una composición que comprende glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 como se ha descrito antes en la presente invención para aumentar la captación sanguínea de calcio en el intestino en un animal después del parto.

- 15 La invención se refiere además a una composición como la definida en la reivindicación 9.

El derivado graso preferiblemente es aceite de ricino, preferiblemente aceite de ricino al menos parcialmente hidrogenado, pero preferiblemente aceite de castor altamente o complemente hidrogenado o endurecido.

- 20 Las composiciones útiles tienen la forma de un comprimido o un bolo. Las composiciones útiles también pueden tener la forma de un bolo procesado en un envoltorio que preferiblemente es poroso para, por un lado, permitir la difusión de los jugos gástricos al contenido del paquete para disolver 1,25-dihidroxitamina D3 y, por otro lado, para permitir la difusión hacia el exterior del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3.

- 25 La composición puede comprender además otros ingredientes útiles tales como al menos otra vitamina o mineral, por ejemplo vitamina A, B12, C, D, E, K, niacina, tiamina, colina, biotina, ácido fólico, riboflavina, ácido pantoténico, uno o más minerales, elegidos del grupo de cobalto, cobre, manganeso, selenio, cinc, o un vehículo para el glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3.

La invención queda ilustrada adicionalmente a través de los siguientes ejemplos.

La forma natural de glicósido de la 1,25-dihidroxitamina D3 tal como se usa en las realizaciones preferidas ofrece una estabilidad única y características de solubilidad en agua para obtener una actividad incrementada. Esta forma también es resistente al calor hasta 100°C.

- 30 Esta realización preferida de un bolo permite la administración de un solo tratamiento, justo antes del parto. Una liberación sostenida del ingrediente activo durante un periodo de 10-12 días corresponde a una administración por fases, tal como se describe en la técnica anterior. En la técnica anterior, sin embargo, se deben administrar varios bolos de gelatina, lo que libera el ingrediente activo durante un periodo de aproximadamente 12 horas, mientras que la presente invención logra el mismo efecto con un único bolo.

35 EJEMPLO

- Antes de producir el bolo, las hojas de *Solanum glaucophyllum* son molidas y estandarizadas. Esto significa que las hojas son molidas y mezcladas en grandes cantidades para obtener un único lote uniforme. Posteriormente, se determina la concentración media de 1,25-dihidroxitamina D3 presente en las hojas con la mayor precisión posible. En base a dicha concentración, se dosifica la 1,25-dihidroxitamina D3 en porciones individuales, pesando una cantidad bien determinada de hojas molidas y mezclándolas de nuevo. Dado el mezclamiento intensivo y la molienda intensiva del lote de hojas, se puede asumir que la concentración de 1,25-dihidroxitamina D3 de toda la mezcla es prácticamente constante, y como resultado las dosis pesadas de hojas comprenderán todas aproximadamente la misma cantidad predeterminada de 1,25-dihidroxitamina D3.

- 45 Se colocó un bolo en un saquito poroso de nylon con poros de 37 µm con un peso de 70,2 g, preparado a partir de, entre otras cosas, 18,4 g de aceite de ricino hidrogenado (obtenido con la marca comercial Cutina® HR PH de COGNIS) y 23,3 g de Panbonis® suministrado por HERBONIS. Éste último es una composición de hojas de *Solanum glaucophyllum* molidas y estandarizadas, que comprendía aproximadamente 20 ppm de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3. Dicho bolo correspondía a una liberación diaria promedio de 38-46 µg del ingrediente activo, glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, a lo largo de 10-12 días. El bolo comprendía además 27,6 g de polvo de hierro y 0,9 g de estearato de magnesio. El polvo de hierro sólo tiene una función de lastre y sirvió para hacer más pesado el bolo de tal modo que permaneciera en el fondo del estómago del animal. El estearato de magnesio es un componente que junto con el aceite de ricino actúa como lubricante que permite la compresión del polvo obtenido.

Durante la producción del propio bolo, se mezcló el polvo de hierro con las hojas de *Solanum glaucophyllum* y se calentó hasta 85°C. El aceite de ricino hidrogenado (E498) también se calentó hasta por encima de su punto de fusión de 88°C. E498 es el número E del aceite de ricino. Los números E describen una lista de aditivos, permitidos en la Unión Europea para su uso en productos alimenticios para consumo humano. Posteriormente, dichos productos fueron mezclados a dicha temperatura elevada. Tras un mezclamiento intenso, la mezcla fue enfriada hasta 15°C. La mezcla de hojas de *Solanum glaucophyllum*, polvo de hierro y aceite de ricino fue enfriada hasta 15°C, tras lo cual fue molida muy finamente en forma de polvo. Tras esto, se añadió estearato de magnesio (E571) y se mezcló con el resto.

La mezcla final fue sometida a presión para conformar un bolo en una máquina de compresión con un molde con forma de bolo. La composición del bolo tenía una densidad de 1,75 kg/L. La composición fue comprimida en un bolo con forma sustancialmente cilíndrica con una longitud de 80 mm, un espesor de 25 mm y una anchura de 25 mm, con bordes redondeados.

Un análisis de la composición del bolo dio lugar a los resultados mostrados en la Tabla 1, en unidades de peso.

Tabla 1

agua	4,30%
proteína bruta	6,60%
grasa bruta	21,20%
fibra bruta	8,70%
ceniza bruta	53,60%
carbohidratos totales	5,53%

Se colgó un saquito con un bolo en el primer estómago de 15 vacas que ya había dado a luz 3 veces, y por tanto tenían un riesgo elevado de aparición de hipocalcemia, pérdida de apetito y signos de parálisis. Cada día a la misma hora se retiró el saquito del primer estómago, se lavó con agua y se pesó tras secar.

Durante los primeros 4 días se observó que el peso del bolo aumentaba por absorción de fluido del primer estómago. Después de este periodo el peso volvió a disminuir. El bolo había sido reabsorbido por completo a los 14 días. La evolución del peso del bolo en función del tiempo se muestra en la siguiente tabla.

No se determinó una pérdida de apetito para ninguna de las vacas, ni se produjeron signos de parálisis. La concentración de Ca en sangre en el periodo previo al parto y al menos 2 días después del parto permaneció estable.

Se midió el efecto sobre los parámetros sanguíneos en 9 vacas que habían dado a luz previamente 3 o más veces. En la Tabla 2 se muestra el contenido de calcio en sangre de las vacas para una primera muestra de sangre tomada tras aplicación del bolo 1-2 días antes del parto y para una segunda muestra de sangre tomada 24 horas después del parto. Las vacas 1 y 2 no recibieron bolo. Como contenido de calcio óptimo en el plasma sanguíneo de vacas lecheras, se acepta 2,2 mmol/L de Ca.

Tabla 2

Vaca	1-2 días antes de dar a luz (mmol/L Ca)	24 horas después de dar a luz (mmol/L Ca)
nº 1	2,33	2,13
nº 2	1,93	1,83
nº 3	1,87	2,47
nº 4	1,98	2,16
nº 5	1,96	2,16
nº 6	2,51	2,16
nº 7	2,1	2,21
nº 8	2,2	2,25
nº 9	2,24	2,33

La vaca 2 fue tratada después de la segunda toma de muestra debido a que se observaron síntomas de la enfermedad tales como inicio de parálisis. En esta vaca, se midió un contenido de Ca de 2,93 mmol/L en sangre 24 horas después de este tratamiento.

- 5 En la Tabla 3 se muestra la cinética del bolo. Se muestra el peso del bolo en función del número de días que el bolo está presente en el rumen. La Figura 1 muestra gráficamente el progreso del peso del bolo (m) expresado en gramos en función del número de días (N) que el bolo ha estado presente en el rumen.

Cinética del bolo y desintegración en el rumen:

Tabla 3

Días en el primer estómago (N)	Peso del bolo (m) (gramos)
1	72,6
2	85,0
3	96,2
4	100,0
5	84,4
6	79,3
7	77,7
8	79,0
9	75,0
10	74,5
11	55,2
12	24,7
13	15,5
14	8,7

- 10 A partir de estos experimentos, es claramente visible que el bolo según la presente invención aumenta la concentración de calcio en sangre, y como resultado disminuirá la frecuencia de aparición de hipocalcemia.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que contiene hojas que proceden de plantas que comprenden glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, siendo la composición para una administración peroral única en forma de comprimido o bolo, comprendiendo dicha composición:
 - 10 - un compuesto o un material que se descompone o erosiona físicamente de manera lenta en el estómago, compuesto o material en el que se encapsulan las hojas, y como resultado se produce una liberación retardada de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, siendo elegido el compuesto o material del grupo que consiste en una grasa o derivado de la misma, un polisacárido, una celulosa, una goma, un glicol y derivados de dichos compuestos útiles para la liberación retardada del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, donde los compuestos que controlan la liberación de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 se eligen de tal modo que la liberación continua durante un periodo de al menos 3 días, y
 - uno o más metales o compuestos metálicos, de tal modo que la composición obtenga una densidad másica que haga que se hunda, tras su administración, hacia el fondo del estómago, y que permanezca allí,
- 15 para uso en la prevención de un síntoma elegido entre reducción de apetito, parálisis o una combinación de ambos, con un animal después de haber dado a luz o de haber parido, donde la composición debe administrarse peroralmente en forma de administración única.
2. La composición para uso según la reivindicación 1, donde las hojas proceden de *Solanum glaucophyllum*.
- 20 3. La composición para uso según la reivindicación 1 ó la reivindicación 2, donde la composición tiene una densidad de al menos 1,5 kg/L.
4. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde en la composición para administración única se administra al animal al menos una cantidad de hojas que comprende 0,460 mg de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 en forma de dosis única.
- 25 5. La composición para uso según la reivindicación 4, donde la cantidad de hojas comprende 0,550 mg de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3.
6. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde se elige un derivado graso y donde el derivado graso es un aceite de ricino al menos parcialmente endurecido o hidrogenado.
7. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la composición se proporciona para administración al menos 1 día antes del parto, preferiblemente 1 ó 2 días antes del parto.
- 30 8. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la composición comprende además uno o más componentes elegidos del grupo de vitamina A, B12, C, E, K, niacina, tiamina, colina, biotina, ácido fólico, riboflavina, ácido pantoténico, uno o más minerales, elegidos del grupo de cobalto, cobre, manganeso, selenio, cinc.
- 35 9. Una composición para prevenir por administración de una única administración peroral un síntoma seleccionado entre reducción de apetito o signos de parálisis o una combinación de las mismas asociadas a dar a luz en un animal que, en una forma adecuada para administración peroral en forma de un comprimido o bolo, comprende hojas de plantas con, en dichas hojas, al menos 0,460 mg de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, así como un compuesto o material que se descompone o se erosiona físicamente de forma lenta en el estómago, compuesto o material en el cual están encapsuladas las hojas, siendo elegido el compuesto o material del grupo que consiste en una grasa o derivado de la misma, un polisacárido, una celulosa, una goma, un glicol y derivados de dichos compuestos útiles para la liberación retardada del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3, donde los compuestos que controlan la liberación del glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3 se eligen de tal modo que la liberación continúe durante un periodo de al menos 3 días, y uno o más metales o compuestos metálicos, de tal modo que la composición obtenga una densidad másica que haga que se hunda tras ser administrado hacia el fondo del estómago, y que permanezca allí.
- 40 10. La composición según la reivindicación 9, donde las hojas contienen al menos 0,550 mg de glicósido de 1,25-dihidroxitamina D3.
- 45 11. La composición según la reivindicación 9 ó la reivindicación 10, donde se elige un derivado graso y donde el derivado graso es un aceite de ricino al menos parcialmente endurecido o hidrogenado.
- 50 12. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9-11, donde la composición se presenta en la forma de un bolo y se suministra en un envoltorio que es poroso.

13. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, donde la composición tiene la forma de un bolo.

14. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9-13, donde la composición comprende además una vitamina o mineral.

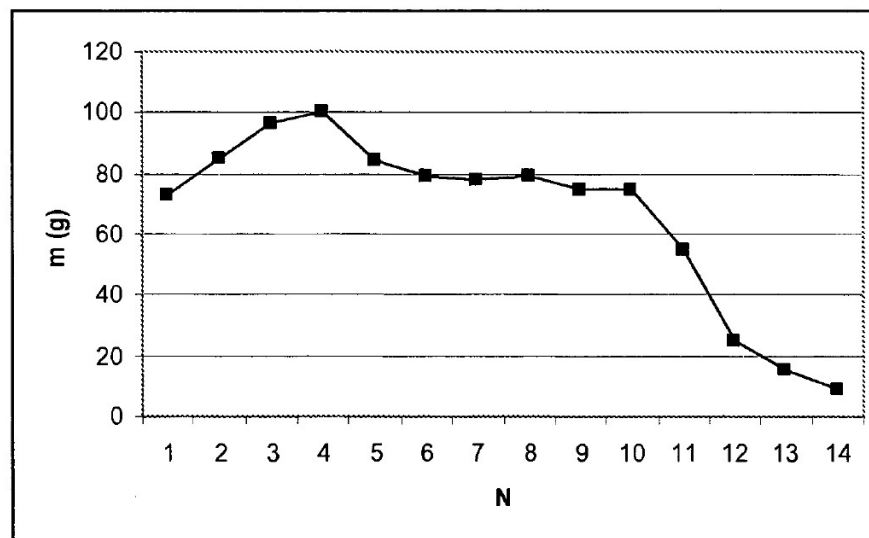


Figura 1