

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 867**

51 Int. Cl.:

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.09.2011 E 11826088 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2616060**

54 Título: **Composiciones de ácido abscísico para la salud animal**

30 Prioridad:

17.09.2010 US 384020 P

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

16.09.2015

73 Titular/es:

**VALENT BIOSCIENCES CORPORATION (100.0%)
870 Technology Way
Libertyville, Illinois 60048, US**

72 Inventor/es:

**HERRERO, MARÍA PILAR y
SHAFER, WARREN E.**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 545 867 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

Composiciones de ácido abscísico para la salud animal

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a composiciones que comprenden ácido abscísico y/o sales de este, y métodos para su preparación y administración para y/o uso nutracéutico en animales.

10 Antecedentes de la invención

15 El ácido abscísico es una hormona vegetal de origen natural y una sustancia no tóxica segura. La química y la fisiología del ácido abscísico y sus análogos se describen por Milborrow, Ann. Rev. Plant Physiol. 1974, 25, 259-307. La forma enantiomérica de origen natural del ácido abscísico es (S)-(+)-ácido abscísico. La estereoquímica de la cadena lateral de la parte principal del ácido abscísico de origen natural es 2-cis-,4-trans-, ya que es el isómero que se produce de forma biosintética en todas las plantas verdes y en algunos microorganismos.

20 Ciertas sales de ácido abscísico, y/o derivados y análogos de este, como se describe en las solicitudes de Estados Unidos 12/011,846, 12/011,825,61/083,202, 61/083,203 y PCT/US08/01203, sin embargo, han demostrado altas concentraciones de ácido abscísico en sus composiciones.

25 Las formulaciones comerciales que comprenden ácido abscísico se usan en la agricultura y la horticultura en o alrededor de cultivos y plantas para mejorar la tolerancia al estrés, disminuir la velocidad de crecimiento, ajustar la fase de florecimiento. Se ha reportado además que el ácido abscísico posee cualidades para la inhibición de insectos. Ver las patentes de los Estados Unidos núms. 4,434,180 y 4,209,530. Otros han informado de posibles propiedades medicinales del ácido abscísico, por ejemplo, la solicitud de patente de Estados Unidos núm. 2006/0292215 describe métodos para usar ácido abscísico para propósitos anti-cáncer, y la solicitud internacional núm. WO 2007/042983 describe actividad antiinflamatorio de ácido abscísico. La solicitud de patente de Estados Unidos núm. 2007/0184060 describe el uso de ABA para el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

30 Aquí, los solicitantes han descubierto sorprendentemente que el ácido abscísico y/o sales de estos, tienen propiedades nutracéuticas en animales.

35 Resumen de la invención

La presente invención se dirige generalmente a las composiciones que comprende ácido abscísico y/o sales de este (denominados colectivamente como "ABA" en la presente descripción), del cual el (S)-(+)-ácido abscísico es un enantiómero (de aquí en adelante "S-ABA"), y métodos para usar como nutracéuticos. Los solicitantes encontraron que las composiciones de ABA puede usarse como nutracéutico.

40 Las composiciones de la presente invención generalmente comprenden ABA. Pueden incluirse opcionalmente otros componentes que potencian la actividad biológica del ABA.

45 En una modalidad, la presente invención se dirige a un método para aumentar las tasas de supervivencia postnatal de la cría que comprende administrar a un animal genitor o a la cría una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.

50 Otra modalidad de la presente invención se dirige a un método para aumentar la ganancia de peso postnatal que comprende administrar a un animal que lo necesita, o genitor lactantes de un animal que lo necesita, una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.

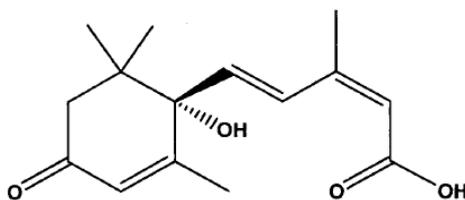
55 Finalmente en otra Modalidad, la presente invención se dirige a un método para aumentar el número de cría por camada que comprende administrar a un animal genitor una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.

Descripción detallada de la invención

60 La presente invención se dirige generalmente a composiciones que comprenden ABA, del cual S-ABA es un enantiómero, y métodos para usar como nutracéuticos. Los solicitantes encontraron que las composiciones de ABA pueden usarse como nutracéuticos, en fórmula infantil o como un ingrediente alimentario.

S-ABA es el compuesto preferido de las composiciones y usos en la presente descripción y tiene la estructura siguiente:

65



Ácido abscísico

Las composiciones y métodos de las invenciones abarcan las mezclas racémicas, las formas enólicas, las formas solvatadas y no solvatadas y las sales aceptables de los ácidos abscísicos descritos. Los ejemplos de sales adecuadas que pueden usarse incluyen sales inorgánicas tales como las sales de amonio, litio, sodio, potasio, magnesio, y potasio y sales amina orgánicas tales como las sales de trietanolamina, dimetanolamina y etanolamina. En una modalidad, la sal amina orgánica es la sal de trietanolamina. En otra modalidad, la sal amina orgánica es la sal de dimetiletanolamina. En aún otra modalidad, la sal amina orgánica es la sal de etanolamina. Estos ejemplos de sales no son limitantes cuando otras sales pueden también ser adecuadas para usar en la presente invención. Una sal preferida actualmente es la sal de amonio. Otras sales preferidas son las sales de sodio y de potasio. Las sales pueden prepararse al poner en contacto la forma ácida con una cantidad suficiente de la base deseada para producir una sal de forma convencional. Las formas ácidas libres pueden regenerarse al tratar la sal con una solución ácida acuosa diluida adecuada tal como ácido sulfúrico, clorhídrico o fosfórico acuoso diluido. Las formas ácidas libres difieren un tanto de sus formas de sales respectivas en ciertas propiedades físicas, tales como sus solubilidades en solventes polares, pero las sales son equivalentes a sus formas ácidas libres respectivas para los propósitos de la invención. (Ver, por ejemplo, S. M. Berge, y otros, "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66: 1-19 (1977)).

Definiciones

El término "Animal" se refiere a cualquier animal, o cría del animal, que recibe y/o se le administra la composición. El término "crías" se refiere a la progenie o descendientes del animal, e incluye progenie nacida, fetos y embriones. "Animales" incluirá pero sin limitarse a aves de corral, que incluyen pollos, que incluyen gallinas de engorde y gallinas ponedoras y ganado de reproducción macho y hembra, gansos, pato, pavo, faisán, gallinas de Cornualles, cerdo, vaca, que incluye la producción de carne y leche, oveja, y cabras. Adicionalmente, "animales" incluirá además pez gato, carpa, tilapia, trucha, ástaco, camarón, langosta, cangrejo, mamíferos acuáticos, salmón, y pez blanco.

El término "composición" incluye un producto que comprende ABA (y en las cantidades especificadas, si se indica), que incluye los productos con ABA exógeno o regulado positivamente, así como también cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de ABA con los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

El término "administrar" o "administración" incluye cualquier medio para introducir el ABA de la invención y otros agentes terapéuticos, en el cuerpo.

El término "cantidad eficaz" significa una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un animal para alcanzar un resultado deseado, es suficiente para ejercer tal resultado deseado. La "cantidad eficaz" variará en dependencia del compuesto, el beneficio de salud deseado, el resultado deseado, la edad y la salud relativa del animal, la vía y forma de administración, el criterio del médico asistente o de la persona encargada o que cuida el animal, y otros factores. La cantidad de ABA que es "eficaz" variará de composición a composición, en dependencia del uso en particular, el ABA particular, las sales, y similares. Por lo tanto, no siempre es posible especificar una "cantidad eficaz" exacta. Sin embargo, una "cantidad eficaz" adecuada en un caso individual puede determinarse por el experto en la materia mediante el uso de experimentación de rutina.

Como se usa en la presente descripción, los términos "reducir", "suprimir" e "inhibir" tienen su significado comúnmente entendido de reducir o disminuir. Como se usa en la presente descripción, el término "progresión" significa aumentar el alcance o severidad, avance, crecimiento o empeore. Como se usa en la presente descripción, el término "recurrencia" significa el retorno de un estado de pre-tratamiento después de un periodo de remisión.

Como se usa en la presente descripción, el término "nutracéutico" se entiende comúnmente para referirse a cualquier sustancia que contiene ABA que es un alimento o líquido, parte de un alimento o líquido, o adición al alimento o líquido, que desencadena una respuesta fisiológica independiente o en exceso de una sustancia que no contiene ABA exógeno o regulado positivamente. Tales productos pueden estar en el intervalo de nutrientes aislados, suplementos dietéticos, dietas específicas, alimentos diseñados mediante ingeniería genética, productos herbarios, y alimentos procesados, como los cereales, sopas, barras nutricionales, bebidas, tabletas, cápsulas, soluciones, emulsiones, barras, geles, batidos, yogures, panes, jugos, y otros nutracéuticos.

5 Como se usa en la presente descripción, todos los valores numéricos que se refieren a cantidades, porcentajes en peso y similares se definen como "aproximadamente" o "de forma aproximada" cada valor particular, específicamente, más o menos 10%. Por ejemplo, la frase "al menos 5% en peso" debe entenderse como "al menos 4,5% a 5,5% en peso." Por ello, las cantidades dentro del 10% de los valores reivindicados son abarcadas por el alcance de las reivindicaciones.

Composiciones para administración

10 En algunas modalidades, las composiciones de la presente invención pueden incluirse en un vehículo adecuado para la ingestión oral. Los portadores aceptables adecuados incluyen cargas o diluyentes sólidos y soluciones acuosas u orgánicas estériles. El compuesto activo está presente en tales composiciones en una cantidad suficiente para proporcionar el efecto deseado.

15 Las composiciones contempladas para usar en la práctica de la presente invención se puede utilizar en forma de un sólido, una solución, una emulsión, una dispersión, una micela, un liposoma, y similares, en donde la composición resultante contiene uno o más de los ingredientes activos en mezcla con un portador o excipiente orgánico o inorgánico adecuado para aplicaciones nasal, enteral, o parenterales.

20 Los ingredientes activos pueden combinarse, por ejemplo, con los portadores usuales no tóxicos, fisiológicamente aceptables para tabletas, gránulos, cápsulas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, supositorios, soluciones, emulsiones, suspensiones, cápsulas duras o blandas, comprimidos oblongos o jarabes o elixires y cualquier otra forma adecuada para uso. Los posibles portadores incluyen glucosa, lactosa, goma arábica, gelatina, manitol, pasta de almidón, trisilicato magnésico, talco, almidón de maíz, queratina, sílice coloidal, almidón de patatas, urea, triglicéridos de longitud de cadena media, dextranas, y otros portadores adecuados para usar
25 en la preparación de preparaciones, en forma sólido, semisólida, o líquida. Además, pueden usarse agentes auxiliares, estabilizantes, de espesamiento y colorantes.

30 En otra modalidad, las composiciones de la presente invención pueden formularse para una administración intranasal, intravenosa, transdérmica u oftálmica. Está dentro de la experiencia del experto en la técnica formular las composiciones para tal administración.

35 En una modalidad diferente, las composiciones de la presente invención pueden formularse con productos alimenticios para consumo oral. En otra modalidad, la composición de la presente invención puede formularse como un suplemento nutricional para consumo, por ejemplo, como un sólido o líquido, tal como una tableta, cápsula, solución, emulsión, barra, gel, batido o similares. En otras modalidades, las composiciones de la presente invención pueden formularse con yogures, cereales, panes, jugos y otros nutracéuticos. En más modalidades, las composiciones de la presente invención pueden incorporarse con yogures, cereales, panes, jugos y otros nutracéuticos que incluyen, pero sin limitarse a, productos alimenticios que proporcionan beneficios de salud.

40 En una modalidad diferente, las composiciones de la presente invención pueden formularse en una composición líquida para el consumo oral. Está dentro de un experto en la materia formular las composiciones en composiciones líquidas para el consumo oral.

45 En otras modalidades, las composiciones de la presente invención pueden administrarse a través de un genitor lactante de la cría, a través de transferencia transplacenta del padre a la cría, por IV, o en una fórmula infantil para la cría.

50 La presente invención se dirige a la reproducción y más específicamente a los métodos para aumentar las tasas de supervivencia y el peso postnatal que comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de ABA.

55 Un intervalo preferido de una cantidad terapéuticamente eficaz de ABA para los distintos métodos es de aproximadamente 0.1 mg/kg/día a aproximadamente 1000 mg/kg/día. Un intervalo más preferido de una cantidad terapéuticamente eficaz de ABA es de aproximadamente 10 mg/kg/día a aproximadamente 1000 mg/kg/día. Un intervalo especialmente preferido de una cantidad terapéuticamente eficaz de ABA es de aproximadamente 50 mg/kg/día a aproximadamente 500 mg/kg/día. Un intervalo especialmente preferido de una cantidad terapéuticamente eficaz de ABA es de aproximadamente 50 mg/kg/día a aproximadamente 200 mg/kg/día.

La composición preferida comprende S-ABA.

60 Una Modalidad de la presente invención son composiciones líquidas que pueden prepararse ya sea como diluciones listas para el uso o concentrados diluibles. La modalidad de la presente invención puede ser una solución que contiene de 0,5% a tanto como 50% en peso de ABA. Los concentrados diluibles pueden diluirse en agua directamente a una concentración final de aplicación o a cualquier dilución intermedia, sin riesgo de precipitación del ingrediente activo. Las formulaciones acuosas de acuerdo con una modalidad de la presente invención son baratas de fabricar, seguras de manejar y usar, y el ingrediente activo de ABA es estable bajo condiciones de almacenamiento y transporte. Una
65

persona que tiene experiencia en la materia podría ser capaz de determinar cómo preparar la concentración final de la solución acuosa para la aplicación directa a los animales sin experimentación en exceso, sin ningún riesgo de causar la precipitación del ingrediente activo, y sin agitación larga y laboriosa para dejar el ingrediente activo en solución.

5 Las composiciones de la presente invención pueden prepararse como una dosis unitaria única o como una pluralidad de dosis unitarias únicas. Como se usa en la presente descripción, una "dosis unitaria" significa una cantidad discreta de la composición que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad de ingrediente activo es generalmente igual a la dosificación del ingrediente activo que pudiera administrarse a un animal o una fracción de esta.

10 Las composiciones de la presente invención pueden ser líquidas o liofilizadas o de cualquier otra forma formulaciones secas e incluyen diluyentes de diverso contenido de amortiguador (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica, aditivos tales como albúmina o gelatina para prevenir la absorción a superficies, detergentes (por ejemplo, Tween 20™, Tween 80™, Pluronic F68™, sales de ácido biliar), agentes solubilizantes (por ejemplo, glicerina, polietileno glicerina), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, Thimerosal™, alcohol bencílico, parabenos), sustancias de carga o modificadores de la tonicidad (por ejemplo, lactosa, manitol), unión covalente de polímeros tales como polietilenglicol a la proteína, formación de complejos con iones metálicos, o incorporación del material en o sobre preparaciones en partículas de compuestos poliméricos tales como poliláctico acid, ácido poliglicólico, hidrogeles, etc., o en liposomas, microemulsiones, micelas, vesículas unilamelares o multilamelares, fantasmas de eritrocitos, o esferoplastos. Tales composiciones influenciarán el estado físico, solubilidad, estabilidad, velocidad de liberación in vivo, y velocidad de eliminación in vivo. Las composiciones de liberación controlada o sostenida incluyen la formulación en depósitos de lipófilos (por ejemplo, ácidos grasos, ceras, aceites).

Adicionalmente, como se usa en la presente descripción, los expertos en la técnica conocen los portadores aceptables e incluyen, pero sin limitarse a, 0.01-0.1 M y preferentemente 0.05M de amortiguador de fosfato o 0.9% de solución salina. Además, tales portadores aceptables pueden ser soluciones, suspensiones, y emulsiones acuosas o no acuosas. Los ejemplos de solventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables como oleato de etilo. Los portadores acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados.

30 Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro sódico, aceites fijos y de Ringer lactato. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de fluidos y nutrientes, reponedores de electrolitos tales como los basados en dextrosa de Ringer, y similares. Los conservantes y otros aditivos pueden estar presentes, tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes de compaginación, gases inertes y similares.

35 Las composiciones de liberación sostenida o controlada de conformidad con la invención incluyen formulación en depósitos lipofílicos (por ejemplo, ácidos graso, ceras, aceites). También están comprendidas por la invención las composiciones en partículas recubiertas con polímeros (por ejemplo poloxámeros o poloxaminas) y el compuesto acoplado a anticuerpos dirigidos contra los receptores específicos de tejido, ligandos o antígenos o acoplado a ligandos de los receptores específicos de tejido. Otras modalidades de las composiciones de acuerdo con la invención incorporan formas particuladas, recubrimientos protectores, inhibidores de proteasa o potenciadores de permeación para varias vías de administración, incluyendo parenteral, pulmonar, nasal y oral,

40 Se conoce que los compuestos modificados por la unión covalente de los polímeros solubles en agua tales como polietilenglicol, copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o poliprolina exhiben sustancialmente una vida media más larga en sangre después de la inyección intravenosa que los compuestos correspondientes no modificados. Tales modificaciones pueden aumentar además la solubilidad del compuesto en solución acuosa, eliminar la agregación, mejorar la estabilidad física y química del compuesto, y reducir grandemente la inmunogenicidad y reactividad del compuesto. Como resultado, la actividad biológica in vivo puede alcanzarse por la administración de tales compuestos-polímero con menos frecuencia o en dosis menores que con el compuesto sin modificar.

45 La preparación puede comprender el ABA, solo, o puede incluir adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable, y puede estar en forma sólida o líquida tal como tabletas, polvos, cápsulas, gránulos, soluciones, suspensiones, elixires, emulsiones, aerosoles, geles, cremas, o supositorios, que incluyen supositorios rectal u uretral. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen gomas, almidones, azúcares, materiales celulósicos, y mezclas de estos. La preparación que contiene el ABA puede administrarse a un animal, por ejemplo, por implantación subcutánea de un gránulo. La preparación puede administrarse además por inyección intranasal, intravenosa, intraarterial, o intramuscular de una preparación líquida. La administración puede llevarse a cabo con el uso de un supositorio rectal o un supositorio uretral.

60 Las preparaciones administrables por la invención pueden prepararse por procesos conocidos de disolución, mezcla, granulación, o formación de tabletas. Para la administración oral, ABA y similares se mezclan con aditivos habituales para este propósito, tales como vehículos, estabilizantes, o diluyentes inertes, y se convierten por métodos habituales en formas adecuadas para la administración, tales como tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas duras o de gelatina

blanda, soluciones acuosas, alcohólicas u oleosas. Los ejemplos de vehículos inertes adecuados son bases de tabletas convencionales tales como lactosa, sacarosa o almidón de maíz en combinación con aglutinantes tales como acacia, almidón de maíz, gelatina, con agentes desintegrantes tales como almidón de maíz, almidón de patatas, ácido algínico, o con un lubricante tal como ácido esteárico o estearato magnésico.

Los ejemplos de vehículos o solventes oleosos adecuados son aceites vegetales o animales tales como aceite de girasol o aceite de hígado de pescado. Las preparaciones pueden realizarse como gránulos secos y húmedos. Para administración parenteral (inyección subcutánea, intravenosa, intra-arterial, o intramuscular), el ABA y similares se convierte en una solución, suspensión, o emulsión, si se desea con las sustancias habituales y adecuadas para este propósito, por ejemplo, solubilizantes u otros auxiliares. Los ejemplos son los líquidos estériles tales como agua y aceites, con o sin la adición de un surfactante y otros adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Los aceites ilustrativos son los de petróleo, animal, vegetal, o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja, o aceite mineral. Generalmente, agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, y glicoles tales como propilenglicoles o polietilenglicol son portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables.

La preparación de composiciones que contienen un componente activo es bien entendida en la técnica. Tales composiciones pueden prepararse como inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas; sin embargo, formas sólidas adecuadas para solución en, o suspensión en, líquido antes de la inyección pueden prepararse también. La preparación puede ser emulsificada. Los ingredientes terapéuticos activos se mezclan frecuentemente con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerina, etanol, o similares o cualquier combinación de estos).

Además, la composición puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsificantes, agentes amortiguadores de pH que mejoran la efectividad del ingrediente activo.

Alimento animal

La composición de la invención puede tomar preferentemente la forma de alimento animal e incluye proteína, grasa, fibra, calcio, y fósforo. Un alimento preferido incluiría maíz y/o trigo, harina de soja, grasa, subproducto animal, harina de carne y hueso, y vitaminas y minerales.

El ABA puede mezclarse inicialmente en una premezcla. El término "premezcla" quiere decir una composición alimenticia que se prepara como una mezcla inicial que contiene el ingrediente activo y, por ejemplo, un portador, y se mezcla después en el alimento final. En la presente invención, se sugiere generalmente que, para la facilidad de cálculo y uso, la premezcla se mezcla con aproximadamente una tonelada métrica (MT) de alimento convencional, con el resultado de que se proporcionan a los animales los requerimientos de dosificación necesarios del ABA. Cuando se prepara una tonelada métrica (MT) de alimento terminado, la premezcla de la invención comprende preferentemente aproximadamente 1 a 2000, y más preferentemente, aproximadamente 5 a 500, gramos de ABA. Los portadores para usar en una premezcla se conocen bien por aquellos que tienen experiencia en la materia, y pueden determinarse fácilmente las concentraciones adecuadas.

El ABA puede añadirse al portador como un polvo seco o como una solución o suspensión líquida. Cuando se añade como un líquido, el ABA puede disolverse o suspenderse en un líquido con agitación a temperatura ambiente. Tal líquido puede ser agua o un solvente adecuado u otro producto usado para la alimentación animal que ya está en forma líquida. Debido a las características de solubilidad en líquido de ABA, este puede formar una suspensión. Una cantidad predeterminada de ABA se añade después a la premezcla convencional, y no se humedecerá demasiado. Una vez que se prepara la premezcla, la premezcla se añade después al alimento final, preferentemente a una velocidad en el intervalo de un cuarto de una libra (lb.) a cinco libras (lbs.) de la premezcla para una tonelada métrica (MT) de alimento, para suministrar los requerimiento diarios del ABA para las aves de corral.

El ABA sólido o en solución o en suspensión líquida puede añadirse directamente al material de premezcla, y después se mezcla. La mezcla puede lograrse mediante cualquier medio conocido, tal como mediante un agitador horizontal o vertical estándar. El tiempo de mezclado variará de nuevo en dependencia de los ingredientes particulares de la premezcla, y puede tomar el tiempo que sea necesario para asegurar que los ingredientes se mezclen perfectamente.

La premezcla se incorpora después en el alimento que se les dará a las aves de corral. En una modalidad más preferida, el ABA se mezcla con el portador para formar la premezcla, y la premezcla se mezcla directamente dentro del alimento final. Si bien no hay evidencia de que el uso de las cantidades superiores causaría algún problema de toxicidad en las aves de corral tratadas, esto afectará las consideraciones de costo. Debido a que la mezcla se añadirá generalmente a cargas de una tonelada de alimento (como es común en la industria), la correspondencia entre un gramo de ABA añadido a la premezcla rinde aproximadamente una concentración de 1 ppm de ABA en el alimento. Por lo tanto, 5 gramos de ABA añadido a una libra de la premezcla, que se añade a su vez a una tonelada métrica (MT) de alimento, rinde aproximadamente una concentración eficaz de ABA de 5 ppm.

Aunque el ABA puede mezclarse con un material de premezcla antes de la incorporación en el alimento terminado,

puede mezclarse la cantidad adecuada de ABA directamente en o rociada sobre el alimento. El intervalo aditivo preferido de ABA en el alimento terminado, ya sea añadido directamente o a través de una premezcla, es aproximadamente 1 a 2000 gramos por tonelada métrica (MT) de alimento; más preferentemente aproximadamente 5 a 500 gramos por tonelada métrica (MT) de alimento.

El alimento se prepara de forma convencional en una bandeja o mezcladora grande en la que se añaden los ingredientes del alimento en orden descendiente de peso de acuerdo con su prevalencia en la mezcla de alimentación final. Por lo tanto, el grano roto o molido pudiera ser el ingrediente primario. Los ingredientes menores se añaden después. Los microingredientes se añaden últimos. Estos incluyen vitaminas, fármacos, promotores de crecimiento, antibióticos, y, en el caso presente, ABA. Por lo tanto, el ABA puede ser uno de los microingredientes y se añade al alimento en la etapa de mezclado final. El alimento se mezcla por períodos de tiempo convencionales.

El alimento que comprende el ABA se le da al ganado y a los peces de forma estándar, tal como un puré, miga o gránulo, y a intervalos y velocidades de dosificación de alimentación estándares.

Otra modalidad de la presente invención son composiciones líquidas que pueden prepararse ya sea como diluciones listas para el uso o concentrados diluibles. La modalidad de la presente invención puede ser una solución que contiene de 0,5% a tanto como 50% en peso de ABA. Los concentrados diluibles pueden diluirse en agua directamente a una concentración final de aplicación o a cualquier dilución intermedia, sin riesgo de precipitación del ingrediente activo. Las formulaciones acuosas de acuerdo con una modalidad de la presente invención son baratas de fabricar, seguras de manejar y usar, y el ingrediente activo de ABA es estable bajo condiciones de almacenamiento y transporte. Una persona que tiene experiencia en la materia podría ser capaz de determinar cómo preparar la concentración final de la solución acuosa para la aplicación directa a los animales sin experimentación en exceso, sin ningún riesgo de causar la precipitación del ingrediente activo, y sin agitación larga y laboriosa para dejar el ingrediente activo en solución.

Otra modalidad de la presente invención es una solución acuosa de ABA que sirve como una fuente de bebida de agua para los animales. Tal solución acuosa complementada podría prepararse al disolver polvo seco de ABA en agua bebible o al usar una solución líquida o un concentrado en suspensión de ABA. El intervalo aditivo preferido de ABA en agua bebible es de aproximadamente 1 a 2000 partes por millón (ppm) o aproximadamente 1 a 2000 miligramos de ABA por litro de agua; más preferentemente aproximadamente 5 a 500 partes por millón (ppm) o aproximadamente 5 a 500 miligramos de ABA por litro de agua. Una persona que tiene experiencia en la técnica podría ser capaz de determinar cómo preparar la solución acuosa final para la aplicación directa a los animales sin experimentación en exceso, sin ningún riesgo de causar la precipitación del ingrediente activo, y sin agitación larga y laboriosa para dejar el ingrediente activo en solución.

En otra modalidad de la presente invención el ABA puede aplicarse directamente en el alimento animal una vez que ha sido preparado. Por ejemplo, como puede ser la práctica con algunas enzimas, el ABA puede aplicarse directamente al alimento terminado. En una modalidad preferida, se rocía una solución acuosa de ABA en el alimento terminado en su forma final, tal como un gránulo, antes de suministrar el alimento a los animales.

Las propiedades ventajosas de esta invención pueden observarse como referencia a los ejemplos siguientes que ilustran la invención. Estos ejemplos se proporcionan para los propósitos de ilustración y no se destinan a limitar el alcance de la presente invención.

EJEMPLOS

Las pruebas se realizaron con (S)-(+)-ácido abscísico de acuerdo con directrices y procedimientos estándar como se evidencia por las directrices para pruebas de toxicidad subcrónica EPA: 870.3050 - Dosis repetida día 28 - Estudio de toxicidad oral en roedores (julio de 2000); 870.3100 - día 90 Toxicidad oral en roedores (agosto 1998); 870.3650 - Estudio de toxicidad con dosis combinada repetida con prueba de tamizaje de toxicidad en Reproducción/Desarrollo (julio 2000); y 870.3200 - Días 21/28 Toxicidad dérmica (agosto 1998), así como también las directrices de la Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) para la prueba de sustancias químicas que incluyen: prueba núm. 407: Dosis repetida día 28 Estudio de toxicidad oral en roedores; prueba núm. 408: Dosis repetida día 90 Estudio de toxicidad oral en roedores; prueba núm. 416: toxicidad en la reproducción de dos generaciones ; y prueba núm. 410: Toxicidad dérmica en dosis repetida; estudio día 21/28.

Los ejemplos de datos a partir de estos estudios se presentan más abajo.

Estudio de toxicidad en la reproducción de dos generaciones

Este estudio se realizó para determinar los efectos adversos potenciales de la sustancia de prueba en reproducción en un estudio de 2da generación. Este incluyó determinar los efectos de la sustancia de prueba en procesos reproductivos masculinos y femeninos, incluyendo la función gonadal, ciclicidad estral, comportamiento de apareamiento, concepción, gestación, parto, lactancia, destete, y en el crecimiento y desarrollo de la cría. Un mínimo de 1 cría fue producida en cada generación.

5 Tres grupos de macho y hembra se les ofreció ABA, continuamente en la dieta durante al menos 70 días consecutivos antes del apareamiento. Las concentraciones de las sustancias de prueba objetivo fueron 10,000, 15,000, y 20,000 ppm para las generaciones F0 y F1. A un grupo de control concurrente de 30 ratas/sexo se le ofreció la dieta basal continua durante todo el estudio. Los animales F0 tenían aproximadamente 7 semanas de edad al inicio de la administración de la dieta de prueba. La dieta de prueba se administró a la descendencia seleccionado para convertirse en la generación F1 después del destete. Los machos F0 y F1 continuaron recibiendo la sustancia de prueba durante el apareamiento y continuando hasta el día antes de la eutanasia. Las hembras F0 y F1 continuaron recibiendo la sustancia de prueba durante el apareamiento, gestación, y lactancia, y continuando hasta el día antes de la eutanasia. Para las dos generaciones (F1 y F2), se seleccionaron 8 crías por camada (4 por sexo, cuando fue posible) para reducir la variabilidad entre las camadas. Las crías (30/sexo/grupo, si es posible) a partir del emparejamiento de los animales F0 fueron seleccionados para constituir la generación F1. Los machos y hembras F0 se expusieron por 127-130 días consecutivos y los machos y hembras F1 se expusieron por 178-186 días consecutivos.

15 Todos los animales se observaron dos veces al día para el aspecto y el comportamiento. Las observaciones clínicas, pesos corporales y el consumo de alimentos se registraron a intervalos apropiados para los machos en todo el estudio y para las hembras antes del apareamiento y durante la gestación y lactancia. Todas las hembras F0 y F1 se les permitió alimentar y criar a sus crías hasta el destete en el día 21 de lactancia. Las observaciones clínicas, pesos corporales y sexos se registraron para los crías F1 y F2 a intervalos adecuados. Los crías F1 no seleccionados y todos los crías F2 supervivientes se sometieron a necropsia. Los órganos seleccionados se pesaron a partir de 1 cría/sexo/camada a partir de crías F1 y F2 que se sometieron a necropsia. Cada animal F0 y F1 genitor sobreviviente recibió una necropsia macroscópica completa y detallada tras la finalización del destete de las crías F1 y F2, respectivamente; los órganos seleccionados se pesaron. Los puntos finales espermatogénicas se registraron para todos los machos F0 y F1, y el conteo de los folículo primordiales ováricos se registraron para todas las hembras F0 y F1 en los grupos de control y de alta exposición y todas las hembras F0 y F1 sospechosas de reducción de la fertilidad. Los tejidos designados de todos los animales genitores F0 y F1 se examinaron microscópicamente.

Reproducción

30 La Tabla 1 demuestra el aumento de las tasas de supervivencia postnatal de las crías en respuesta a los tratamientos con S-ABA.

Tabla 1

35

SUPERVIVENCIA POSTNATAL (% POR CAMADA)									
		DÍA POSTNATAL							
DOSIS (PPM)		0 (RELATIVO A # NACIDOS)	0-1	1-4 (PRESELECCIÓN)	4 (POST-SELECCIÓN)-7	7-14	14-21	NACIMIENTO-4 (PRESELECTO)	4 (POST-SELECTO)-21
	MEDIA	98.4	98.0	99.5	98.6	99.5	100.0	95.9	98.1
0	N	26	26	26	26	26	26	26	26
	MEDIA	99.7	100.0	98.9	99.5	100.0	100.0	98.6	99.5
10,000	N	25	25	25	25	25	24	25	24
	MEDIA	96.1	98.5	98.5	99.6	98.7	100.0	93.2	98.2
15,000	N	29	28	28	28	28	28	29	28
	MEDIA	98.5	99.7	98.5	98.5	99.5	100.0	96.8	98.0
20,000	N	25	25	25	25	25	25	25	25

55

60 Como resultado de estos datos de prueba, se observa que S-ABA aumenta las tasas de supervivencia de las crías postnatal. Por ejemplo, los días 4 a 7, una dosis de 10,000 ppm resultó en un incremento en la supervivencia media de 98.6% a 99.5% en ratas.

La Tabla 2 demuestra la ganancia de peso de las crías en respuesta a los tratamientos con S-ABA.

65

Tabla 2

PESO DE LA CRÍA (gramos)							
DOSIS (PPM)			DÍA POSTNATAL				
			1	4	7	14	21
		MEDIA	6.9	9.1	14.0	29.7	46.8
	macho	N	26	26	26	26	26
		MEDIA	6.5	8.5	13.0	28.2	44.4
0	hembra	N	26	26	26	26	26
		MEDIA	7.1	9.7	15.2	30.9	47.9
	macho	N	25	25	25	25	24
		MEDIA	6.6	9.1	14.3	29.9	45.5
10,000	hembra	N	25	25	25	25	24
		MEDIA	6.9	9.3	14.7	30.8	47.8
	macho	N	28	28	28	28	28
		MEDIA	6.6	8.8	14.0	29.8	45.8
15,000	hembra	N	28	28	28	28	28
		MEDIA	7.0	9.3	15.1	31.2	48.1
	macho	N	25	25	25	25	25
		MEDIA	6.6	8.8	14.5	30.5	46.6
20,000	hembra	N	24	24	24	24	24

35 Como resultado de estos datos de prueba, vemos que S-ABA aumenta la ganancia de peso de las crías. Por ejemplo, el día 21, una dosis de 10,000 ppm resultó en un incremento en el peso promedio de las crías de 46.8 gramos a 47.9 gramos en ratos macho. El aumento correspondiente en el peso promedio de las crías para las ratas hembra fue de 44.4 gramos a 45.5 gramos.

40 Este resultado sugiere además que ABA podría ser sustituido por antibióticos profilácticos que a menudo se utilizan en la reproducción animal.

La Tabla 3 demuestra la disminución de los niveles de mortalidad de las crías en respuesta a los tratamientos con S-ABA.

45

Tabla 3

DOSIS (PPM)	Crías nacidas	Se encontraron muertas
0	328	15
10,000	322	4
15,000	375	15
20,000	327	11

50

55

Como resultado de estos datos de prueba, vemos que S-ABA disminuye la mortalidad de las crías. Por ejemplo, una dosis de 10,000 ppm resultó en una disminución de 4.57% a 1.24%.

60

La Tabla 4 demuestra el aumento de la cría en vivo promedio por camada en respuesta a los tratamientos S-ABA.

65

Tabla 4

Dosis (PPM)	0	10,000	15,000	20,000
Vida media	11.8	12.3	13.1	12.3
Crías nacidas N	25	27	27	27

5

10 Como resultado de estos datos de prueba, vemos que S-ABA aumenta el número de crías vivas por camada. Por ejemplo, una dosis de 15,000 ppm resultó en un aumento en el número de crías promedio de 11.8 a 13.1 por camada.

Más datos de apoyo se pueden ver a continuación en las Tablas 2 y 3 que muestran que en la necropsia los números de feto y tamaño del folículo aumentan con la adición de S-ABA.

15

Tabla 5

DATOS DEL FETO EN LA NECROPSIA PROGRAMADA				
GRUPO		Sexo		FETOS VIABLES
		MACHO	HEMBRA	
1	N	154	179	343
	MEDIA	5.5	7.2	13.7
0 mg/kg/día				
2	N	187	181	368
	MEDIA	7.5	7.2	14.7
500 mg/kg/día				
3	N	188	166	354
	MEDIA	7.5	6.6	14.2
750 mg/kg/día				
4	N	170	208	378
	MEDIA	6.8	8.3	15.1
1,000 mg/kg/día				

20

25

30

35

40

Tabla 6

CONTEO DE FOLÍCULO PRIMORDIAL DE OVARIO				
HEMBRAS				
GRUPO	0 PPM	10,000 PPM	15,000 PPM	20,000 PPM
FOLÍCULOS PRIMORDIALES				
MEDIA	120.1	257.5	214.0	270.3
N	30	5	1	30

45

50

55

Salud del sistema inmunológico

60 Los estudios de toxicidad reproductiva de dos generaciones de S-ABA en ratas demostró la reducción del peso del bazo en machos y crías de segunda generación como se observa en la Tabla 7 y 8.

65

Tabla 7

MACHOS				
GRUPO	0 PPM	10,000 PPM	15,000 PPM	20,000 PPM
PESO DEL BAZO (GRAMOS)				
MEDIA	1.00	0.98	0.97	0.92
% DIFERENCIA		-2.0	-3.0	-8.9
N	30	30	28	30

Tabla 8

SUMARIO DE PESO DEL ÓRGANO Y PESOS RELATIVOS DEL ÓRGANO				
CRÍAS DE SEGUNDA GENERACIÓN				
GRUPO	0 PPM	10,000 PPM	15,000 PPM	20,000 PPM
PESO DEL BAZO (GRAMOS)				
MEDIA	0.2334	0.1989	0.1918	0.1979
% DIFERENCIA		-14.8	-17.8	-15.2
N	25	25	27	27

La reducción del tamaño del bazo, como se muestra en las tablas / datos anteriores, puede estar directamente relacionada con la mejora de la salud y la mejora de la mortalidad mostrada en las tablas /datos de reproducción anteriores.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para aumentar las tasas de supervivencia postnatal de la cría que comprende administrar a un animal genitor o a la cría una cantidad eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.
2. Un método para aumentar la ganancia de peso postnatal que comprende administrar a un animal que lo necesita, o genitor lactante de un animal que lo necesita, una cantidad eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.
- 10 3. Un método para aumentar el número de cría por camada que comprende administrar a un animal genitor una cantidad eficaz de ácido abscísico y/o sales de este.