

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 015**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/26</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/50</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/12</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/14</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/198</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.04.2011 PCT/US2011/031511**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.10.2011 WO11127236**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2011 E 11766698 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2017 EP 2588089**

54 Título: **Micropartículas para la administración oral en animales**

30 Prioridad:

**07.04.2010 US 321604 P**

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

**01.12.2017**

73 Titular/es:

**KEMIN INDUSTRIES, INC. (100.0%)  
2100 Maury Street  
Des Moines, Iowa 50317, US**

72 Inventor/es:

**MARCELLO, ARDUINI y  
LAURO, ARDUINI**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 645 015 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**

Micropartículas para la administración oral en animales

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere generalmente a composiciones en forma de micropartículas y, más específicamente, a micropartículas destinadas al uso en el campo zootécnico y/o en el campo veterinario.

10 La administración oral de sustancias activas en el campo zootécnico es un problema que no es fácil de resolver, en particular en lo que respecta a la posibilidad de asegurar la absorción intestinal de dosis adecuadas de dichas sustancias, evitando su degradación masiva durante el paso a través del tracto digestivo del animal, especialmente en el caso de los rumiantes.

15 Los aspectos de la fisiología del tracto digestivo de los rumiantes y de otros animales denominados de compañía o ganado productivo se describen en detalle en muchas monografías especializadas. Entre estas, algunas también reseñan los problemas relacionados con la administración oral de ingredientes activos en estos animales, así como las posibles soluciones en términos de tecnología de formulación (Development and formulation of veterinary dosage forms 2<sup>a</sup> Edición, G.E. Hardee, J.D. Baggot (Ed.) Marcell Dekker, Nueva York 1998; S.H.W. Wu, A. Papas, Rumen stable  
20 delivery systems, Advanced drug delivery reviews 28 (1997) 323-334). Los ingredientes activos y los suplementos de la dieta del animal experimentan, en el tracto proximal del sistema digestivo, una degradación enzimática y química antes de llegar al lumen intestinal, que es el sitio de absorción de dichas sustancias. En los rumiantes, esta degradación es particularmente sustancial debido a la presencia en el rumen de una microflora que degrada sustancialmente muchas de las sustancias que pasan a través del rumen. Debe considerarse además la lentitud con que dichas sustancias pasan a través del rumen. Esto provoca que solamente una pequeña parte de las sustancias activas o los suplementos  
25 alimenticios sean absorbidos por los rumiantes a nivel intestinal, ya que la microflora del rumen degrada casi el 100 % de estas moléculas. Por lo tanto, para permitir que tales sustancias sean absorbidas en el intestino y apliquen su eficacia, es necesario protegerlas contra la degradación a nivel ruminal. De hecho se conoce que, por ejemplo, una sustancia tal como la colina o sus sales son capaces de aumentar la producción de leche en bovinos cuando se administran directamente al nivel posruminal (S.R. Haretewell et al., J. Dairy Sci. (2000) 83, 2097-2017 y K.N. Deulcher et al., J. Dairy Sci, (1998) 81, 238-242).

35 La patente de Estados Unidos núm. 4,533,557 describe la composición de suplementos para rumiantes en forma de gránulos o tabletas que contienen una mezcla de sustancias biológicamente activas, quitosano y materiales protectores constituidos por ácidos monocarboxílicos alifáticos saturados o insaturados, con una cadena que tiene de 14 a 22 átomos de carbono. El concepto detrás de esta invención consiste en el uso de sustancias hidrófobas para construir una matriz que es capaz de retardar la penetración de los fluidos biológicos en su interior y, por consiguiente, de provocar una liberación más lenta de la sustancia. Por lo tanto, el objetivo es prolongar el tiempo de liberación de la sustancia mediante la reducción de la cantidad de esta que se libera durante el tránsito ruminal. Además, la presencia de  
40 quitosano debe proporcionar una protección específica contra el ambiente ruminal: el pH del fluido contenido en el rumen varía entre 5 y 8; el quitosano es apenas soluble en este intervalo de pH, pero en lugar de ello se disuelve en un pH ácido (<5). Por lo tanto, la presencia de este tipo de polímero debe proporcionar mayor integridad a la matriz durante la retención ruminal.

45 La patente de Estados Unidos núm. 5,190,775 describe la composición de partículas o gránulos para la administración oral con una densidad relativa entre 0,3 y 2 g/ml, que contiene una sustancia bioactiva que se encapsula por medio de un revestimiento hidrófobo constituido preferentemente por aceites vegetales hidrogenados revestidos en su superficie con una capa de surfactante para evitar que flote dentro del rumen. En el caso específico en el que la sustancia bioactiva sea cloruro de colina, esta se adsorbe sobre un sustrato vegetal derivado de cereales. En otra patente, concedida a Morgan Manufacturing Co., Inc. (patente de Estados Unidos núm. 5,496,571), se describe un método para  
50 fabricar microcápsulas destinadas a la administración oral y diseñadas para proteger el cloruro de colina contra la degradación provocada por las bacterias ruminales para aumentar la producción de leche en rumiantes. Estas microcápsulas contienen composiciones líquidas de cloruro de colina revestidas con una capa externa de material lipídico seleccionado entre grasas animales hidrogenadas y no hidrogenadas o entre aceites vegetales hidrogenados.

55 Una serie de otras patentes reivindica métodos y composiciones que implican revestir un núcleo que contiene una sustancia bioactiva por medio de materiales que son capaces de soportar al menos parcialmente la degradación ruminal y de disolverse y/o degradarse en el abomaso o en la parte distal del intestino de los rumiantes. Entre estas patentes, pueden citarse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núm. 4,713,245, núm. 3,451,204, núm. 4,876,097, 524469 y la patente EP 0477135.

60 La patente de Estados Unidos núm. 4,832,967 reivindica una composición para la administración a rumiantes constituida por un núcleo que contiene la sustancia bioactiva, revestido con dos capas protectoras. El primero de dichos revestimientos es una sustancia polimérica que es capaz de formar una película que es estable a pH > 5 pero que es capaz de liberar la sustancia bioactiva a pH <3,5. El segundo revestimiento es una sustancia hidrófoba. La preparación

de microesferas poliméricas multicapa para la liberación controlada de fármacos, fertilizantes, insecticidas e indicadores químicos se reivindica en la patente US-5.912.017, concedida al Instituto de Tecnología de Massachusetts.

5 La solicitud publicada de Estados Unidos núm. 2005/0019413 describe una composición en forma de partículas que contienen cloruro de colina administrado en una forma protegida contra el rumen. Las partículas se encuentran constituidas por un núcleo que consiste principalmente en cloruro de colina en forma de polvo cristalino, revestido por una doble capa protectora: externamente, una capa continua de cera de carnauba e internamente una capa continua de una sustancia hidrófoba tal como aceite de soya hidrogenado. Por otra parte, el núcleo puede contener sustancias adicionales que actúan como modificadores del flujo (silicato, aluminosilicatos, zeolitas, sílice, perlita) en cantidades que no excedan el 8 % del peso del núcleo, y/o que actúen como agentes aglutinantes que tienen una función de barrera contra la humedad (estearatos) en una cantidad igual a 7 % del peso del núcleo.

15 La solicitud publicada de Estados Unidos núm. 2006/0067984 describe composiciones en forma de gránulos para la liberación controlada de sustancias fisiológicamente activas para el uso zootécnico. Estas composiciones comprenden: i) un núcleo constituido por la sustancia fisiológicamente activa y por una matriz de cera de carnauba y/o cera microcristalina; ii) una primera capa de revestimiento hidrófobo, que consiste en un material que pertenece a la categoría de grasas, ácidos grasos, aceites hidrogenados, mono- o diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos o alcoholes de cadena larga (12 a 22 átomos de carbono), con un punto de fusión entre 40 y 74 °C; iii) una segunda capa de revestimiento sobre la primera, constituida por ceras microcristalinas, ceras parafínicas, ceras vegetales y ceras sintéticas con un punto de fusión entre 80 y 100 °C.

25 La patente WO 2008015203 A2 describe micropartículas o gránulos que tienen un tamaño entre 0,1 y 5000 micras y destinados al uso en el campo zootécnico y/o más generalmente en el campo veterinario, constituidos por un núcleo que contiene una o más sustancias que tienen una acción farmacológica, suplementos alimenticios o medios de diagnóstico, dicha sustancia o sustancias se caracterizan por la presencia, dentro de su estructura química, de una función catiónica o de una función aniónica o de una función neutra pero fácilmente ionizable para obtener una carga neta, mezclada íntimamente o adsorbida con un silicato hidratado de magnesio, aluminio, calcio y sodio, que es capaz de absorber agua y provocar hinchamiento reversible; dicho núcleo se encuentra revestido por una doble capa de grasa constituida por dos grasas o ceras, en la que la que tiene el punto de fusión más alto constituye la capa interna (en contacto con el núcleo) mientras que la que tiene el punto de fusión más bajo se dispone para formar la capa externa. La patente EP 0467401 describe aditivos alimentarios que comprenden lisina.

#### Resumen de la invención

35 La invención posibilita la liberación controlada de ingredientes activos en el tracto gastrointestinal de animales, particularmente rumiantes. La tecnología y las formulaciones descritas en las reivindicaciones son capaces de controlar la liberación de una o más sustancias que tienen una acción farmacológica o desempeñan un papel como suplementos alimenticios. En tales composiciones, la sustancia o sustancias transportadas por las micropartículas se encuentran protegidas contra la degradación que puede producirse en la primera parte del tracto digestivo, en particular en el rumen, y en lugar de ello pueden liberarse y absorberse en el intestino.

45 La presente invención, en una modalidad, es una composición en forma de micropartículas con un contenido de ingredientes activos de al menos 30 %. La presente invención, en otra modalidad, es una composición en forma de microcápsulas con una liberación modificada de los ingredientes activos; en particular la liberación después de un ensayo de disolución en 24 horas es menos de 30 % del contenido de los ingredientes activos.

#### Breve descripción de las figuras

50 La Figura 1 es un gráfico del nivel, respecto al valor inicial, de la colina protegida denominada CBTC liberada de 0 a 20 horas después de una comida

La Figura 2 es un gráfico del nivel, respecto al valor inicial, de la colina protegida denominada DSMcp/d liberada de 0 a 20 horas después de una comida

55 La Figura 3 es un gráfico del nivel, respecto al valor inicial, de la lisina liberada de 0 a 20 horas después de una comida para tres productos, P1BT (x) y P2BT (●), en comparación con lisina HCl (◆).

#### Descripción de la invención

60 Las composiciones de la presente invención se describen en las reivindicaciones y se refieren a un sistema para la liberación controlada de una o más sustancias fisiológicamente o farmacológicamente activas, en forma de micropartículas que tienen un tamaño entre 0,1 y 5000 micras y destinadas al uso en el campo zootécnico y/o el campo veterinario. Las composiciones contienen un núcleo que consiste en una o más sustancias que tienen una acción farmacológica o desempeñan un papel como suplemento alimenticio (en lo sucesivo denominada ingrediente activo) y uno o más ácidos carboxílicos y/o sus sales. Dicho núcleo se encuentra revestido por una capa externa de grasas o ceras, y por una mezcla de glicéridos de ácidos grasos.

65

Dicho ingrediente o ingredientes activos se caracterizan por la presencia de un grupo funcional amino dentro de su estructura química, o más generalmente contienen un grupo funcional con características básicas; el núcleo contiene, además, uno o más ácidos carboxílicos y/o sus sales, caracterizados por la presencia de un grupo funcional ácido dentro de su estructura química, y añadidos en su superficie. Estos ácidos carboxílicos o sales se caracterizan por la presencia de al menos un grupo carboxilo y un grupo funcional lipófilo: la función ácida interactúa con la función básica del ingrediente activo y el grupo funcional lipófilo ayuda a aumentar la lipofilicidad del núcleo favoreciendo la adhesión de la capa externa de grasa con el propio núcleo.

Los ingredientes activos con un grupo funcional básico adecuados para el propósito citado anteriormente son: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, selenocisteína, serina, tirosina, arginina, histidina, colina, betaina, carnitina, tiamina, piridoxina, estreptomycin, colistina, tiamulina, neomicina, arginina, glucosamina, niacinamida y sus sales, particularmente cloruro de colina, clorhidrato de betaina, clorhidrato de lisina, clorhidrato de tiamina, mononitrato de tiamina, clorhidrato de piridoxina, sulfato de colistina y fumarato de tiamulina. Los ejemplos de ácido carboxílico con un grupo funcional ácido adecuados para el propósito citado anteriormente incluyen, pero no se limitan a: ácidos grasos saturados e insaturados de cadena larga y media y sus sales tales como ácidos láurico, palmítico, esteárico, oleico araquídico y sus sales, ácidos carboxílicos aromáticos tales como ácido benzoico y sus sales, ácidos dicarboxílicos tales como ácidos adípico, sebácico y sus sales.

Dicho núcleo se encuentra revestido por una capa externa de grasas o ceras, y preferentemente por una mezcla de glicéridos de ácidos grasos. La capacidad de controlar eficazmente la liberación está determinada por la acción sinérgica de dos fenómenos: una interacción entre la función básica y el grupo carboxilo en el núcleo, y el efecto de barrera de la capa externa de grasa.

El sistema de liberación controlada de acuerdo con la presente invención se proporciona mediante la preparación de micropartículas con un método compuesto por las etapas descritas a continuación.

- Se prepara una mezcla que comprende el ingrediente o ingredientes activos y el ácido o ácidos carboxílicos. La cantidad de ingrediente o ingredientes activos se encuentra comprendida entre 30 y 100 % y preferentemente entre 50 y 100 %, aún con mayor preferencia entre 60 y 100 % del peso de la mezcla. La cantidad del ácido o ácidos carboxílicos se encuentra comprendida entre 0 y 70 %, y preferentemente entre 0 y 50 %, aún con mayor preferencia entre 0 y 40 %. La mezcla puede realizarse con mezcladores convencionales de cuerpo fijo o giratorio, puesto que la elección del tipo de mezclador no es particularmente crítica con respecto al resultado deseado. A partir de dicha mezcla, se forman microgránulos con las técnicas descritas comúnmente para procesos de granulación o aglomeración en el campo farmacéutico y en la industria de alimentos o piensos. Los ejemplos en este sentido se describen con abundancia en la literatura especializada, tal como, por ejemplo, en *Pharmaceutical principles of solid dosage forms*, J.T. Carstensen (Ed.) (1993), Technomic Publishing Co., Lancaster (EE.UU.), o *Pharmaceutical Pelletization Technology I*. Ghebre-Sellassie (Ed.) (1989), Marcel Dekker, Nueva York (EE.UU.), o *Principi di tecnologia farmaceutiche*, P. Colombo et al. (Eds.) (2004), Casa Editrice Ambrosiana, Milán (Italia)), y se representan, por ejemplo, mediante los procesos de extrusión y esferonización, granulación en lecho fluidizado, granulación en placa giratoria, granulación a alta velocidad, granulación en húmedo, granulación en estado fundido, extrusión en estado fundido, aglomeración en estado fundido.

Como alternativa al método descrito anteriormente, el polvo del núcleo puede transformarse en microgránulos mediante su pulverización o mezcla con una solución acuosa que contiene el ingrediente o ingredientes activos. En este caso, la concentración de dicha solución se encuentra comprendida entre 0,05 y 0,95 g/ml y preferentemente entre 0,2 y 0,8 g/ml. La cantidad de solución de sustancia activa que se añade es tal que la cantidad de ingrediente activo se encuentra comprendida entre 0,1 y 50 % en peso del núcleo y preferentemente entre 0,5 y 40 % en peso del núcleo, aún con mayor preferencia entre 1 y 30 % en peso del núcleo.

También en este caso, el método para producir los gránulos puede ser, por ejemplo, extrusión y esferonización, granulación en lecho fluidizado, granulación en placa giratoria, granulación a alta velocidad, granulación en húmedo, granulación en estado fundido, extrusión en estado fundido y aglomeración en estado fundido.

Como alternativa al método descrito anteriormente, el ácido o ácidos carboxílicos pueden añadirse al núcleo mediante su pulverización sobre la superficie de los microgránulos preformados. También en este caso la cantidad de ácido o ácidos carboxílicos se encuentra comprendida entre 0 y 70 %, y preferentemente entre 0 y 50 %, aún con mayor preferencia entre 0 y 40 % en peso del núcleo. Dicho ácido o ácidos pueden aplicarse a la superficie de los núcleos preparados como se describió anteriormente, después de la fusión de dicho ácido o ácidos, por medio de una técnica denominada de lecho fluidizado o de congelación por pulverización o por revestimiento en mezclador de tambor o en cualquier caso con un método de revestimiento tal como los que se muestran, por ejemplo, en la monografía *Coated pharmaceutical dosage forms. Fundamentals, manufacturing techniques, biopharmaceutical aspects, test methods and raw materials*, K.H. Bauer, K. Lehmann, H.P. Hosterwald, G. Rothgang (Edts), CRC Press, Boca Raton 1998.

En el caso de que el ingrediente activo esté disponible en su forma pura (>96 %) como un granulado no se necesita excipiente para, por ejemplo, absorber un producto líquido.

En todos los métodos de producción descritos anteriormente, una vez que se han obtenido los gránulos o microgránulos, estos se secan si es necesario con un método de secado que usa un lecho estático o dinámico.

5 Los núcleos así obtenidos se encuentran revestidos con una capa de aceites, grasas o ceras, y preferentemente con una mezcla de glicéridos de ácidos grasos con un punto de fusión comprendido entre 50 y 80 °C y preferentemente entre 55 y 62 °C. La grasa se encuentra constituida preferentemente por mezclas de glicéridos de ácidos grasos hidrogenados. En particular, las condiciones preferidas proporcionan un contenido de triglicéridos de ácidos grasos C-16 comprendido entre 40 y 70 % y C-18 entre 30 y 50 % del contenido total de ácidos grasos.

10 El contenido de humedad de los ingredientes activos y los núcleos puede afectar no solo el almacenamiento de las materias primas y los productos terminados, sino también las relaciones de mezcla. El contenido de humedad también puede afectar negativamente la viscosidad debido a la interacción de la lisina y un aceite vegetal hidrogenado preferido durante el proceso de mezcla inicial. La naturaleza higroscópica de la lisina se ha demostrado claramente. El aumento de la humedad afectará negativamente la formación de la matriz, la fabricación por condensación y potencialmente el rendimiento/estabilidad de los productos terminados. El potencial de adsorción de humedad de la materia prima soporta la necesidad de condiciones de almacenamiento de clima controlado para la lisina en proceso y la selección de materiales y procedimientos de almacenamiento adecuados durante la recepción y manipulación del inventario de materias primas.

20 Dicha grasa puede aplicarse a la superficie de los núcleos preparados como se describió anteriormente, después de la fusión de dicha grasa, por medio de una técnica denominada de lecho fluidizado o de congelación por pulverización o por revestimiento en mezclador de tambor o en cualquier caso con un método de revestimiento tal como los que se muestran, por ejemplo, en la monografía Coated pharmaceutical dosage forms. Fundamentals, manufacturing techniques, biopharmaceutical aspects, test methods and raw materials, K.H. Bauer, K. Lehmann, H.P. Hosterwald, G. Rothgang (Edts), CRC Press, Boca Raton 1998.

25 La cantidad total de dicha grasa de revestimiento aplicada está entre 10 y 60 % y preferentemente entre 15 y 50 % del peso final de las micropartículas.

30 Una característica particular de la presente invención es que la capacidad de controlar eficazmente la liberación y, por consiguiente, de reducir la degradación ruminal de las sustancias activas, está determinada por la acción sinérgica de dos fenómenos: una interacción entre la función básica del ingrediente activo y la función ácida del ácido carboxílico contenido en el núcleo; y el efecto de barrera de la capa de grasa de revestimiento. La interacción entre las funciones básica y ácida ayuda a retardar la liberación del ingrediente activo. Esta capacidad de controlar la liberación se verifica con un ensayo de disolución en agua en 24 horas realizado con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 100 rpm y 38 °C, la liberación después de un ensayo de disolución en 24 horas es menos de 30 % del contenido de los ingredientes activos.

40 A modo de demostración no limitante, los ejemplos relacionados con las preparaciones y las características de la invención se citan a continuación.

Ejemplo 1. Formulación de liberación controlada basada en un núcleo que contiene ingredientes activos y ácido carboxílico íntimamente mezclado en este

45 Composición:

50 Núcleo		Monoclorhidrato de L-lisina (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	12,6 kg
	Ingrediente activo	L-lisina en solución acuosa al 50 % (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	2 kg
	Ácido carboxílico	Ácido esteárico (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	2 kg
55 Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	4,4 kg

60 El monoclorhidrato de L-lisina seco se mezcló con L-lisina básica líquida y ácido esteárico a 70 °C en un mezclador de arado durante 30 minutos. Después, el núcleo se enfrió a 40 °C y la capa de revestimiento se aplicó a 65 °C mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

65 Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

## ES 2 645 015 T3

Después de 24 horas la L-lisina liberada era 18,7 % con una desviación estándar de 0,8.

Ejemplo 2. Formulación de liberación controlada basada en un núcleo que contiene ingredientes activos y ácido carboxílico añadido en su superficie

5

Composición:

10

		Monoclorhidrato de L-lisina (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	240,38 kg
Núcleo	Ingredientes activos	L-lisina en solución acuosa al 50 % (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	9,62 kg
	Ácido carboxílico	Ácido esteárico (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	44,6 kg
Capa de revestimiento		Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	62,4 kg

15

El monoclorhidrato de L-lisina seco se mezcló con L-lisina básica líquida a 45 °C en un mezclador de cinta. El líquido se pulverizó sobre el monoclorhidrato de L-lisina seco mediante el uso de una boquilla de pulverización a una presión de 2 bar durante un tiempo de 5 minutos. Después, los gránulos se secaron en un lecho fluidizado. Se añadió ácido esteárico a 70 °C a la superficie de los microgránulos preformados mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, el núcleo se enfrió a 40 °C y la capa de revestimiento se aplicó a 65 °C mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

20

Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

25

Después de 24 horas la L-lisina liberada era 6,0 % con una desviación estándar de 0,6.

Ejemplo 3. Uso de un excipiente en la capa de revestimiento

30

Composición:

35

Núcleo	Ingredientes activos	Monoclorhidrato de L-lisina (ADM, Decatur IL, EE.UU.)	6523,8 g
		L-lisina en solución acuosa al 50 % (ADM, Decatur IL, EE.UU.)	476,2 g
	Ácido carboxílico	Ácido esteárico (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	1000 g
Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	1980 g
	Excipiente	Lecitina de soya	20 g

40

El monoclorhidrato de L-lisina seco se mezcló con L-lisina líquida a 45 °C en una máquina de granulación giratoria. Después, los gránulos se secaron en un lecho fluidizado. Se añadió ácido esteárico a 70 °C a los microgránulos preformados mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, el núcleo se enfrió a 40 °C y se revistió a 65 °C con la grasa líquida que contiene la lecitina. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

45

Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

50

Después de 24 horas la L-lisina liberada era 13,8 % con una desviación estándar de 0,4.

Ejemplo Comparativo 4. Formulación sin el ácido carboxílico en el núcleo

55

Para demostrar la importancia de la interacción de la función básica del ingrediente activo con el ácido carboxílico se produjo, además, una formulación sin el ácido carboxílico y con la capa de grasa de revestimiento solamente y se ensayó la liberación del ingrediente activo.

Composición:

60

Núcleo	Ingredientes activos	Monoclorhidrato de L-lisina (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	7810 g
Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil PH, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	3190 g

65

## ES 2 645 015 T3

El monoclóhidrato de L-lisina seco se revistió con aceite vegetal hidrogenado líquido a 70 °C. Esto se realizó en un revestidor de bandeja. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

5 Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

Después de 24 horas la L-lisina liberada era 80 %.

10 Ejemplo 5. Formulación de liberación controlada basada en un núcleo que contiene ingrediente activo y sal de ácido carboxílico íntimamente mezclada en este

Composición:

15	Núcleo	Ingrediente activo y sal de ácido carboxílico	Taminizer® C (Taminco NV, Gent, Bélgica)	210 kg
	Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	199 kg
20		Excipiente	Lecitina de soya	1 kg

25 Taminizer® C es un producto de marca comercial fabricado de acuerdo con la patente WO2010072842 A1 y que contiene cloruro de colina y al menos una sal de ácido graso de cadena media a larga. Taminizer® C se usó como núcleo y se revistió a 65 °C con la grasa líquida, que contiene la lecitina, mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

30 Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

Después de 24 horas el cloruro de colina liberado era 12,9 % con una desviación estándar de 0,6.

35 Ejemplo de referencia 6. Formulación de liberación controlada basada en un núcleo que contiene un excipiente a una concentración muy baja

Composición:

40	Núcleo	Ingrediente activo	DL-metionina (Sumitomo Chemical, Tokio, Japón)	9730 g
		Excipiente	Almidón licatab M (Roquette, Freres 62136 Lestrem Francia)	270 g
		agua	Agua destilada FU ACEF spa (Fiorenzuola, PC, IT)	675 ml
45		Ácido carboxílico	Ácido esteárico (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	1785 g
	Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	2500 g

50 La DL-metionina seca se mezcló con almidón y agua en la cámara de una máquina de granulación giratoria. Después, los gránulos se secaron en un lecho fluidizado. Posteriormente, se añadió el ácido esteárico a 70 °C a los microgránulos preformados mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, el núcleo se enfrió a 40 °C y la capa de revestimiento se aplicó a 65 °C. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C

55 Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

Después de 24 horas la DL-metionina liberada era 11,4 % con una desviación estándar de 1,2.

Ejemplo 7. Formulación de liberación controlada basada en un núcleo que contiene un excipiente a alta concentración

Composición:

5	Núcleo	Ingrediente activo y excipiente	Cloruro de colina al 70 % en un portador a base de cereal (Balchem Corporation, NY, EE.UU.)	4000 g
			L-lisina en solución acuosa al 50 % (ADM, Decatur Illinois, EE.UU.)	143
10		Ácido carboxílico	Ácido esteárico (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	857 g
	Capa de revestimiento	Grasa	Vegetoil S, aceite vegetal hidrogenado (BBC srl, Torre Boldone BG, IT)	3489,5 g
15		Excipiente	Lecitina de soya	10,5 g

El cloruro de colina al 70 % es un producto comercial seco que contiene cloruro de colina en un portador a base de cereal. Se mezcló con L-lisina básica líquida y ácido esteárico a 70 °C en un mezclador de arado durante 30 minutos. Después, el núcleo se enfrió a 40 °C y la capa de revestimiento se aplicó a 65 °C mediante su pulverización en un revestidor de bandeja. Después, las micropartículas se enfriaron a 45 °C.

Se realizó un ensayo de disolución de liberación con un aparato de paleta USP (Aparato 2) a 38 °C y 100 rpm, en 700 ml de agua destilada.

Después de 24 horas el cloruro de colina liberado era 4,0 % con una desviación estándar de 2,1.

Ejemplo 8. Liberación de productos en un modelo de rumen

Se usó un modelo de desviación del rumen *in vitro* para evaluar la tasa de desviación. Este modelo ha mostrado resultados que se correlacionan bien con la acción de desviación observada en rumiantes.

Este método sigue el procedimiento descrito por Goering y Van Soest (Goering, H.K. y P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. Agric. Handbook 379. ARS, USDA, Washington, D.C.) con algunas modificaciones tanto en la preparación del inóculo ruminal como en los medios de incubación como se describe por Bossen (Bossen, D., D.R. Mertens y M.R. Weisbjerg. 2008. Influence of Fermentation Methods on Neutral Detergent Fiber Degradation Parameters. Journal of Dairy Science. 91:1464). El extracto del rumen no se filtra sino que se usa en la condición en que se recolectó. Este procedimiento posibilita suministrar el fluido ruminal a los recipientes de incubación dentro de los 20 minutos de extracción de cada animal donante para limitar los efectos negativos sobre los protozoos ruminales. Una parte de la maraña de fibras naturales se incluye en el extracto para ayudar a mantener la integridad de la población natural de los microorganismos que degradan las fibras.

La tasa de desviación del rumen se ha evaluado para un producto de metionina que se prepara por encapsulación de grasa convencional que se realiza típicamente mediante el uso de enfriamiento por pulverización o congelación por pulverización. La tasa de inclusión máxima de la lisina en la matriz de aceite vegetal hidrogenado para este tipo de metionina protegida contra el rumen es de aproximadamente 50 %.

La tasa de desviación se evaluó durante un período de 12 horas. Se observó una tasa de desviación de 64 % en el sistema modelo.

En estos experimentos se ha evaluado, además, la tasa de desviación del rumen para un producto de metionina al 70 % que se ha preparado de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1. Se observó una tasa de desviación de 98 % en el modelo de desviación del rumen.

Se realizó un experimento similar para una colina protegida producida de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 5 y etiquetada como CBTC. La tasa de desviación del rumen puede compararse con un producto de colina que se prepara por encapsulación de grasa convencional que se realiza típicamente mediante el uso de enfriamiento por pulverización o congelación por pulverización. Sin embargo, estos productos tienen típicamente una concentración más baja del ingrediente activo debido al aumento de la viscosidad a niveles más altos del ingrediente activo en el aceite vegetal hidrogenado fundido antes de la congelación por pulverización o el enfriamiento por pulverización. El producto evaluado en este experimento se preparó mediante el uso de la técnica de congelación por pulverización y se etiquetó como DSMcp/d. Los resultados muestran que ambos productos tienen una desviación del rumen muy significativa (Figuras 1 y 2). El producto preparado de acuerdo con el método descrito en esta invención tiene una tasa de desviación del rumen superior.

65

Ejemplo 9. Mejora de las tasas de desviación evaluadas en un ensayo en rumiantes *in vivo*

5 El análisis de los niveles de lisina en la sangre después de administrar diferentes productos de lisina encapsulados a vacas, así como Lisina.HCl libre puede usarse para demostrar por qué las soluciones anteriores no funcionan para productos que contienen un nivel más alto de ingredientes activos. Se compararon tres productos. El primer producto se produce de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 2 y se etiquetó como P1BT. El segundo producto se produce de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1 y se etiquetó como P2BT

10 El siguiente cálculo se usó para medir el efecto de la administración de 150 gramos de lisina HCL (118 g de lisina) por vaca.

El valor inicial a la hora cero se resta de todos los puntos posteriores a la hora cero para las mediciones de lisina en la sangre, para mostrar el aumento absoluto de lisina en la sangre medida en  $\mu\text{mol/l}$ .

15 Los resultados muestran la tasa de desviación superior para el producto descrito en la presente invención. Ambos productos P1BT y P2BT producen mejores niveles de lisina plasmática que el clorhidrato de lisina no protegido (Figura 3). El área total por encima del valor inicial representa el aumento total de concentración del ingrediente activo respecto a los animales de control durante las 20 horas de duración del experimento.

20

Reivindicaciones

- 5 1. Un sistema para la liberación controlada de una o más sustancias fisiológica o farmacológicamente activas para usar en el campo zootécnico y/o veterinario que comprende composiciones en forma de micropartículas que tienen un tamaño entre 0,1 y 5000 micras, que comprenden un núcleo que consiste en una o más sustancias que tienen una acción farmacológica o que actúan como suplemento alimenticio,

10 en donde las sustancias activas se seleccionan del grupo que consiste en isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, selenocisteína, serina, tirosina, arginina, histidina, colina, betaína, carnitina, tiamina, piridoxina, estreptomycin, colistina, tiamulina, neomicina, arginina, glucosamina, niacinamida y sus sales, particularmente cloruro de colina, clorhidrato de betaína, clorhidrato de lisina, clorhidrato de tiamina, mononitrato de tiamina, clorhidrato de piridoxina, sulfato de colistina y fumarato de tiamulina,

15 dichas una o más sustancias se caracterizan, por la presencia, dentro de su estructura química, de un grupo funcional básico, dicho núcleo tiene, además, uno o más ácidos carboxílicos y/o sales de estos añadidos en su superficie, dichos uno o más ácidos carboxílicos o sales de estos se caracterizan por la presencia de al menos un grupo carboxilo y un grupo funcional lipófilo, en donde dicho grupo funcional ácido interactúa con el grupo funcional básico de la sustancia activa,

20 el núcleo tiene un revestimiento externo que comprende una mezcla de glicéridos de ácidos grasos.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la una o más sustancias fisiológica o farmacéuticamente activas están presentes en una cantidad entre 30 y 100 %.
- 25 3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la una o más sustancias fisiológica o farmacéuticamente activas están presentes en una cantidad entre 50 y 100 % del núcleo.
4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la una o más sustancias fisiológica o farmacéuticamente activas están presentes en una cantidad entre 60 y 100 % del núcleo.
- 30 5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el uno o más ácidos carboxílicos o sales de estos están presentes en una cantidad de hasta 70 % en peso del núcleo.
6. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el revestimiento comprende una mezcla de glicéridos de ácidos grasos hidrogenados.
- 35 7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el revestimiento comprende un contenido de triglicéridos de ácidos grasos C-16 de entre 40 y 70 % y un contenido de triglicéridos de ácidos grasos C-18 de entre 30 y 50 % del contenido total de ácidos grasos.
- 40 8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cantidad total de revestimiento está entre 10 y 60 % del peso final de las micropartículas.
9. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la cantidad total de revestimiento está entre 15 y 50 % del peso final de las micropartículas.

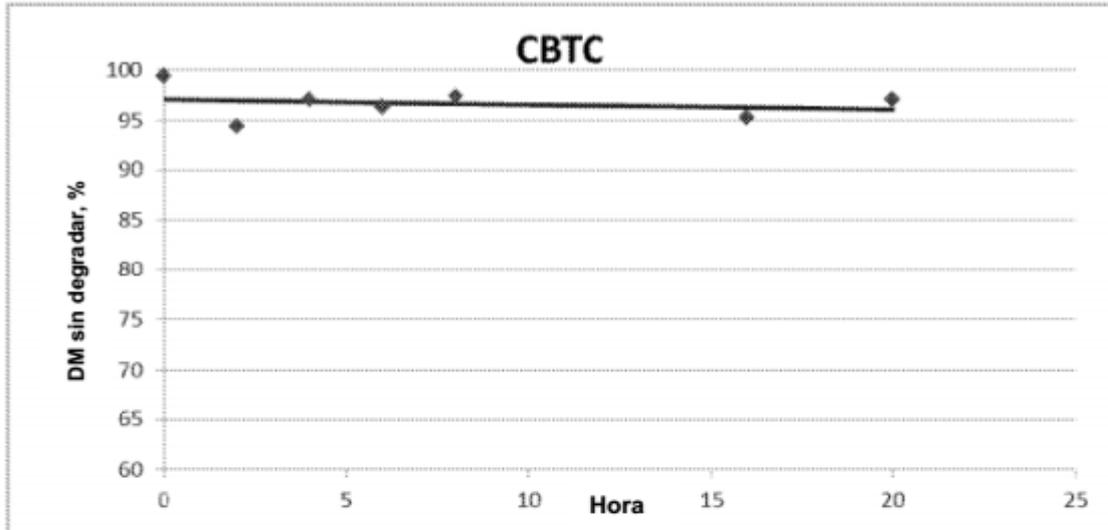


Figura 1

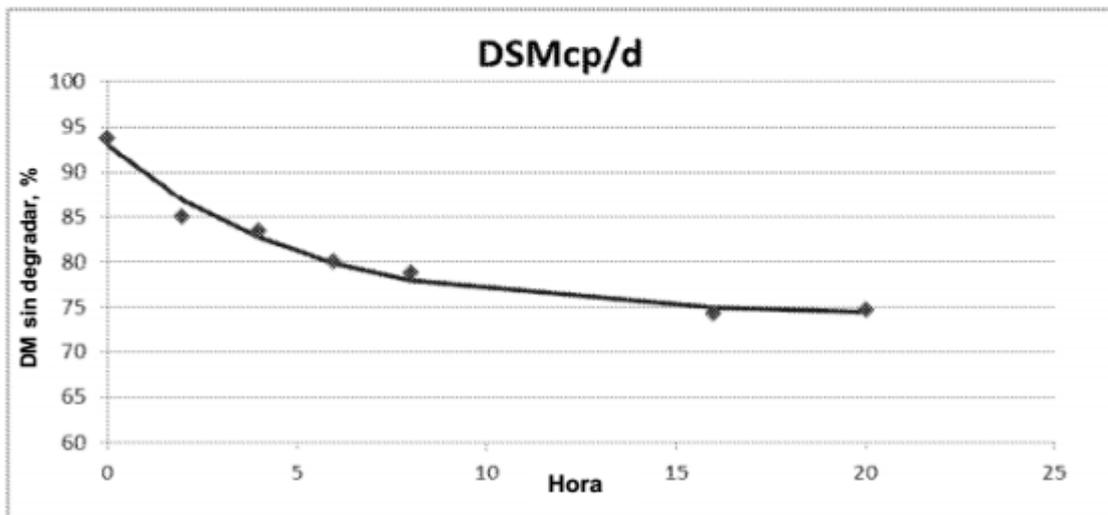


Figura 2

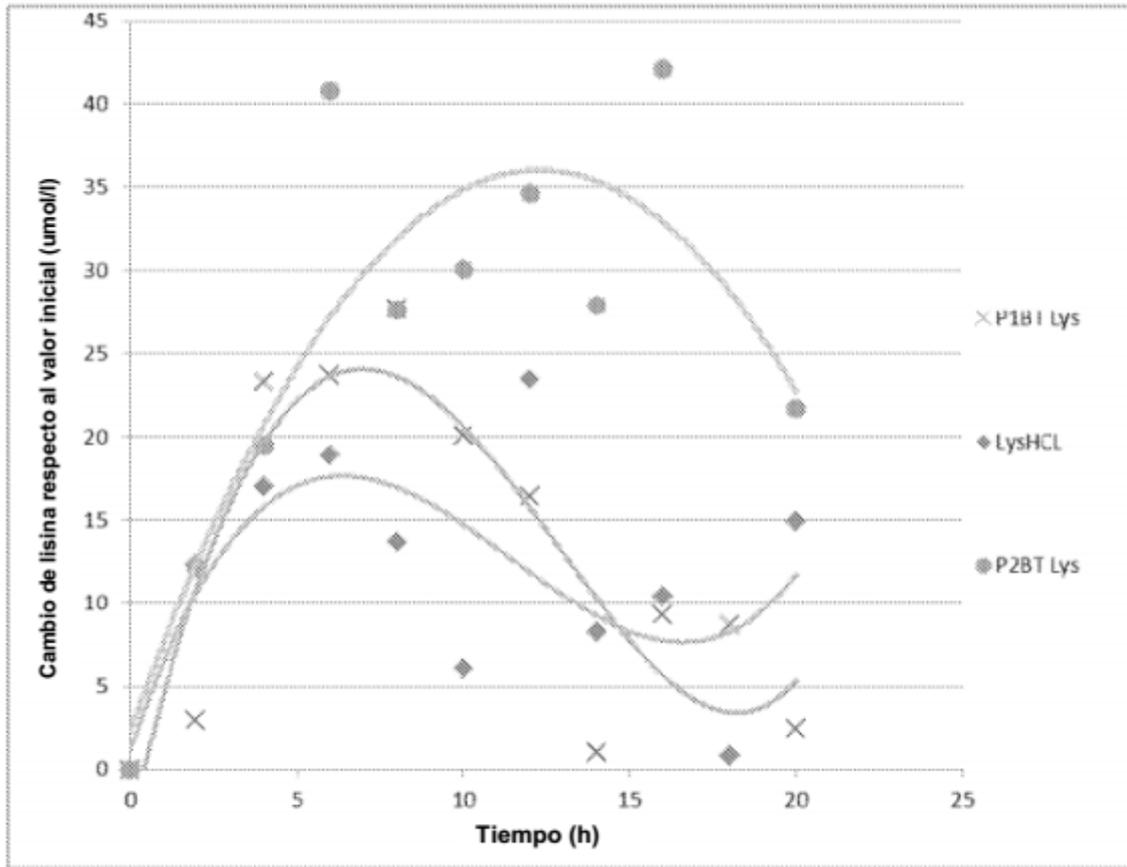


Figura 3