

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 051**

51 Int. Cl.:

<b>A23K 40/30</b>	(2006.01) <b>A61K 9/16</b>	(2006.01)
<b>A23K 40/35</b>	(2006.01) <b>A61K 9/50</b>	(2006.01)
<b>A23K 20/00</b>	(2006.01) <b>A61K 31/19</b>	(2006.01)
<b>A23K 50/10</b>	(2006.01) <b>A61K 31/198</b>	(2006.01)
<b>A23P 20/10</b>	(2006.01)	
<b>A23L 29/20</b>	(2006.01)	
<b>A23L 29/269</b>	(2006.01)	
<b>A23L 33/10</b>	(2006.01)	
<b>A23L 33/12</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/131</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2013 PCT/US2013/050051**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14011857**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2013 E 13816624 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2871973**

54 Título: **Composiciones de matriz y de capa para la protección de agentes bioactivos**

30 Prioridad:

**12.07.2012 US 201261670817 P**

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

**06.03.2019**

73 Titular/es:

**NOVUS INTERNATIONAL INC. (100.0%)  
20 Research Park Drive  
St. Charles, Missouri 63304, US**

72 Inventor/es:

**SMITH, HOUSTON STEPHEN;  
FISCHER, MATTHEW J.;  
ARHANCET, GRACIELA B.;  
KARNATI, RANGARANI;  
HUME, JOHN A. y  
WANG, XIAOJUN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 703 051 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 matriz y de capa para la protección de agentes bioactivos

**Campo de la invención**

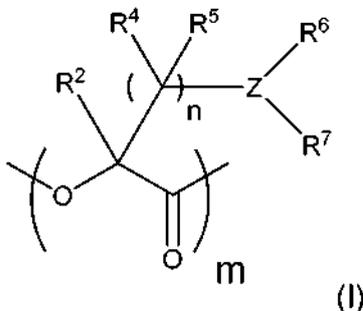
5 La invención se refiere a composiciones de matriz y capa. La composiciones de matriz y capa son útiles en el suministro y protección de agentes bioactivos. La invención se define estrictamente en las reivindicaciones.

**Antecedentes de la invención**

10 La suplementación de dietas humanas y animales con aminoácidos esenciales y/o otros agentes bioactivos mejora la salud y el rendimiento. Los agentes bioactivos pueden ser sensibles a la degradación, sin embargo, deben proporcionarse con un perfil de liberación particular. Combinar el agente bioactivo en una composición de matriz particular o una composición de revestimiento de capa que comprende un polímero es una forma de administrar agentes bioactivos protegidos con un perfil de liberación deseado. Proporcionar aminoácidos y/o agentes bioactivos a rumiantes, en particular, es un reto porque los microbios en el rumen pueden digerir y degradar el agente bioactivo de interés antes de que el animal pueda absorberlo y utilizarlo. A través de los años, se han tomado diversos enfoques de protección, pero con resultados mixtos. El documento US 2003/143661 A1 desvela una composición protegida frente al rumen que comprende un agente bioactivo comprendido en un núcleo, recubierto con una capa que comprende heteropolímeros de 2-hidroxi-4-(metiltio)butanoato (HMTBa) junto con metionina oligomérica. El documento WO 2008/061078 A2 desvela el uso de mezclas de ácidos grasos/HMTBa como matriz para incluir ácidos orgánicos para liberarlos intactos después del paso de la composición a través del rumen de los animales. Por lo tanto, lo que es necesario es un medio mejorado para la protección de agentes bioactivos. En particular, las composiciones que proporcionan una liberación dependiente del pH proporcionan ventajas en la liberación de bioactivos.

**Sumario de la invención**

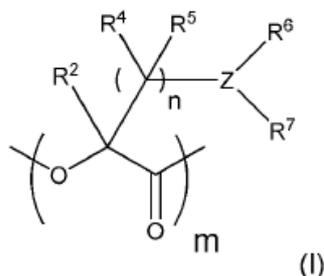
25 En una realización de la presente divulgación, se proporciona una composición que comprende una capa formada sobre un núcleo. El núcleo comprende un agente bioactivo y la capa comprende un primer polímero que consiste en una unidad de repetición de fórmula (I) y al menos un agente adicional, teniendo la unidad de repetición de fórmula (I) la siguiente estructura:



en la que,

30  $R^2$ ,  $R^4$ , y  $R^5$  se selecciona cada uno independientemente entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;  
 $R^6$  se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;  
 $R^7$  no está presente;  
 Z se elige entre azufre, sulfona, sulfóxido y selenio;  
 n es un número entero  $\geq 1$ ; y  
 35 m es un número entero  $> 1$ ; y en la que el al menos un agente adicional se elige entre polímeros, ceras, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos o agentes de flujo.

Se describe adicionalmente una composición aglomerada que comprende una pluralidad de agentes bioactivos incluidos en una matriz. La matriz comprende un primer polímero que comprende una unidad de repetición de fórmula (I):



en la que,

$R^2$ ,  $R^4$ , y  $R^5$  se selecciona cada uno independientemente entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

$R^6$  se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

5  $R^7$  está opcionalmente presente, cuando está presente, se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

Z se elige entre azufre, sulfona, sulfóxido y selenio;

n es un número entero  $\geq 1$ ; y

m es un número entero  $> 1$ .

10 Otras iteraciones de la divulgación se proporcionan con más detalle a continuación.

#### REFERENCIA A LOS DIBUJOS A COLOR

El archivo de patente o solicitud contiene al menos un dibujo realizado a color.

#### Breve descripción de los dibujos

15 La **Figura 1** documenta la liberación dependiente del pH del ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMTBa) a partir de diversas preparaciones de partículas recubiertas, que se describen en Tablas 1 y 2. Se muestra la liberación a pH 2,5 o 6,5 en función del tiempo. La **Figura 1A** muestra la liberación del prototipo 1. La **Figura 1B** presenta la liberación del prototipo 2. La **Figura 1C** muestra la liberación de los prototipos 3 y 4. La **Figura 1D** presenta la liberación del prototipo 5. La **Figura 1E** muestra la liberación de los prototipos 6 y 7. La **Figura 2** ilustra la degradación *in situ* de las partículas recubiertas cuyas composiciones se describen en las Tablas 1 y 2. La **Figura 2A** presenta el porcentaje de materia seca restante en función del tiempo en el rumen. La **Figura 2B** presenta el porcentaje de materia seca restante a las 24 horas para cada muestra.

20 La **Figura 3** muestra la liberación *in vitro* de HMTBa a pH 2,5 y 6,5 a partir de una preparación de matriz aglomerada.

25 La **Figura 4** presenta la liberación *in vitro* de HMTBa a partir de las formulaciones indicadas en función del pH y el tiempo. Las muestras se incubaron a pH 6,5 desde el momento 0 hasta la hora 16, a pH 2,5 desde la hora 16 hasta la hora 18 y a pH 6,5 desde la hora 18 hasta la hora 40.

La **Figura 5** documenta de liberación de partículas recubiertas en una prueba de bolsa *in vitro* simulada. La composición de las partículas recubiertas se detalla en la Tabla 6. Se muestra el porcentaje de HMTBa liberado en función del pH.

30 La **Figura 6** presenta la cinética de liberación *in vitro* a pH 2,5 de las partículas recubiertas detalladas en la Tabla 6. Se muestra el porcentaje de HMTBa liberado a lo largo del tiempo.

La **Figura 7** muestra la resistencia física de las partículas recubiertas detalladas en la Tabla 7 y una formulación de referencia. Se representa es el porcentaje de HMTBa o D, L-metionina liberada después del número indicado de impactos de peso.

35 La **Figura 8** presenta la liberación de las partículas recubiertas detalladas en la Tabla 7 y una formulación de referencia en una prueba de bolsa *in situ* simulada. Se representa el porcentaje de HMTBa o D, L-metionina liberada en función del pH.

40 La **Figura 9** muestra la cinética de liberación *in vitro* a pH 2,5 de las partículas recubiertas detalladas en la Tabla 7 y una formulación de referencia. Se muestra el porcentaje de HMTBa o D, L-metionina liberada a lo largo del tiempo.

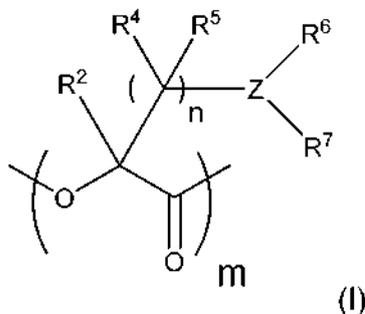
#### Descripción detallada de la invención

##### **I. Composición que comprende una capa formada sobre un núcleo**

45 La presente divulgación proporciona una composición que comprende una capa formada sobre un núcleo. Como se describe con más detalle en el presente documento, la capa comprende un primer polímero que consiste en una unidad de repetición de fórmula (I) y al menos un agente adicional y el núcleo comprende un agente bioactivo.

(a). capa

La capa de la composición comprende un primer polímero. El primer polímero consiste en una unidad de repetición de fórmula (I):



5 en la que,

$R^2$ ,  $R^4$ , y  $R^5$  se selecciona cada uno independientemente entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

$R^6$  se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

$R^7$  no está presente;

Z se elige entre azufre, sulfona, sulfóxido y selenio;

10 n es un número entero  $\geq 1$ ; y

m es un número entero  $> 1$ ; y en la que el al menos un agente adicional se elige entre polímeros, ceras, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos o agentes de flujo.

15  $R^2$  se elige entre hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido e hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^2$  puede ser grupos alquilo de cadena menor, incluyendo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y hexilo. En otra realización,  $R^2$  puede ser fenilo, bencilo, o fenilo o bencilo. En realizaciones preferidas,  $R^2$  puede ser hidrógeno.

20  $R^4$  y  $R^5$  se seleccionan independientemente de hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido. El  $-(CR^4R^5)_n-$  puede constituir una cadena de hidrocarbilo que puede ser lineal o ramificada, representando n el número de átomos de carbono unidos en la cadena. En varias realizaciones, n puede ser igual o mayor que 1. En algunas realizaciones, n puede variar de 1 a 20 y la cadena hidrocarbilo comprende de 1 a 20 átomos de carbono unidos. En una realización, n puede variar de 1 a 5. En aún otra realización, n puede ser igual a 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20.  $R^4$  y  $R^5$  puede ser hidrógeno a lo largo de la cadena, en otros aspectos,  $R^4$  y  $R^5$  determinados puede ser hidrocarbilo o hidrocarbilo sustituido.

25 La fórmula (I) también contiene un grupo Z heteroátomo. El Z es selenio, azufre, sulfóxido o grupos sulfona. Los átomos de selenio o azufre se pueden cargar y/o estar presentes en diversos estados de oxidación dentro de la molécula. Cuando la Z porta una carga, la composición puede comprender además un contraión que incluye, pero sin limitación, litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y similares.

30  $R^6$  en la Fórmula (I) se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido. Cuando  $R^6$  es un hidrocarbilo, puede ser cualquier cadena de alquilo, pero es, preferentemente, un grupo alquilo de cadena inferior, tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. Los grupos alquilo inferiores pueden ser adicionalmente ramificados o cíclicos. Los ejemplos no limitantes incluyen isopropilo, isobutilo, sec-butilo, f-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y similares. En otra realización,  $R^6$  puede ser fenilo, bencilo, o fenilo o bencilo. En una realización de ejemplo,  $R^6$  puede ser metilo.

$R^7$  no está presente.

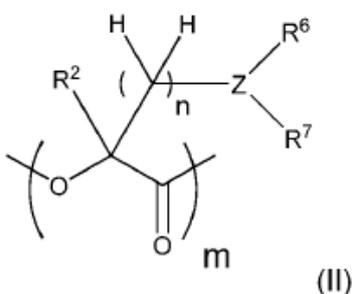
35 El peso molecular del primer polímero puede variar y variará en diferentes realizaciones. La variable m representa el número de unidades de repetición en el polímero. En general, m es mayor de 1. En una realización, m es mayor de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20. En otras realizaciones, m puede ser mayor que 20. En realizaciones particulares, m oscila entre 2 y 10.

40 En algunas realizaciones, el peso molecular del primer polímero puede ser de al menos 500 Da, o al menos 600 Da, o al menos 700 Da, o al menos 800 Da, o al menos 900 Da, o al menos 1,000 Da, o al menos 1.100 Da, o al menos 1.200 Da, o al menos 1.300 Da, o al menos 1.400 Da, o al menos 1.500 Da, o al menos 1.600 Da, o al menos 1.700 Da, o al menos 1.800 Da, o al menos 1.900 Da, o al menos 2.000 Da. En otro aspecto, el peso molecular del polímero puede variar de 800 Da a aproximadamente 10.000 Da, o de aproximadamente 2.000 Da a aproximadamente 5.000 Da, o de aproximadamente 2.000 Da a aproximadamente 10.000 Da. En una realización adicional, el peso molecular del polímero puede ser mayor que aproximadamente 10.000 Da. El peso de una mezcla de polímeros se puede caracterizar por su peso molecular promedio en peso. En algunos aspectos, el peso molecular promedio en peso de los polímeros puede ser de al menos 500 Da, o al menos 600 Da, o al menos 700

5 Da, o al menos 800 Da, o al menos 900 Da, o al menos 1.000 Da, o al menos 1.100 Da, o al menos 1.200 Da, o al menos 1.300 Da, o al menos 1.400 Da, o al menos 1.500 Da, o al menos 1.600 Da, o al menos 1.700 Da, o al menos 1.800 Da, o al menos 1.900 Da, o al menos 2.000 Da. En otros aspectos, el peso molecular promedio en peso puede ser de aproximadamente 2.000 Da, aproximadamente 3.000 Da, aproximadamente 4.000 Da o aproximadamente 5.000 Da. El peso molecular se puede determinar por cromatografía de permeación en gel u otros medios conocidos en la técnica.

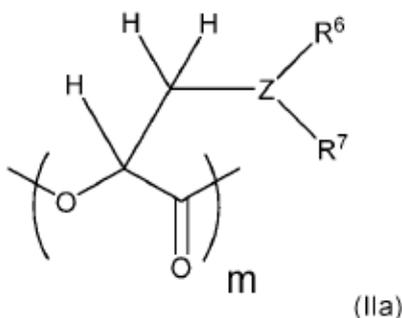
10 En ciertas realizaciones, el primer polímero puede también caracterizarse por un porcentaje de monómero. Un porcentaje de monómero es el porcentaje de la composición del polímero que es monomérico. En algunos aspectos, el porcentaje de monómero es inferior al 20 %. En otros aspectos, el porcentaje de monómero es inferior al 15 %. Más preferentemente, el porcentaje de monómero es inferior al 10 %. En diversos aspectos, el porcentaje de monómeros es inferior al 9 %, inferior al 8 %, inferior al 7 %, inferior al 6 %, inferior al 5 %, inferior al 4 %, inferior al 3 %, inferior al 2 % o inferior al 1 %.

En una realización preferida, el primer polímero consiste en una unidad de repetición que comprende la Fórmula (II):



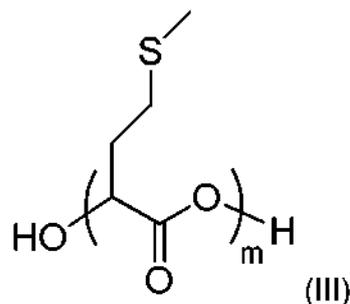
15 en la que, R<sup>2</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, Z, n y m son como se definen para la Fórmula (I).

En otra realización alternativa, el primer polímero consiste en una unidad de repetición que comprende la Fórmula (IIa):



en la que, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y m son los definidos para la Fórmula (I) y Z se selecciona entre azufre, sulfona, sulfóxido y selenio.

20 En otra realización ilustrativa, el primer polímero consiste en una unidad de repetición que comprende Fórmula (III):



en la que, m es como se define para la Fórmula (I).

En algunos aspectos de la invención, el primer polímero puede tener centros quirales. En particular, el carbono alfa a la unidad carbonilo en el compuesto de fórmula (I), (II) o (III) puede ser quiral y puede tener una configuración R o S.

En algunas realizaciones, la configuración en esta posición puede ser *R*. En otras realizaciones, la configuración en esta posición puede ser *S*. En varios aspectos, las unidades de repetición pueden ser todas *R*, todas *S*, o comprenden una combinación de unidades de repetición *R* y *S*, por ejemplo, la configuración de las unidades de repetición puede alternar en bloque o aleatoriamente.

5 La capa que comprende el primer polímero comprende al menos un agente adicional. El agente adicional puede elegirse entre polímeros, incluidos los polímeros cristalinos y semicristalinos. Ejemplos de polímeros adecuados, sin limitación, son polímeros de acrilatos, aminoacrilatos, alquilensuccinatos, alquilenoxalatos, amidas, aminoácidos, anhídridos, arilatos, carbonatos, celulosa (incluyendo, pero sin limitación, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa y etilcelulosa), caprolactona, cianoacrilatos, dihidropiranos, dioxano, dioxanonas, éter éter cetonas, etilenglicol, fumaratos, hidroxialcanoatos, hidroxil-ésteres, imidas, cetales, lactidas, metacrilatos, metilolefinas, ortoésteres, fosfazinas, estirenos, tereftalatos, carbonato de trimetileno, uretanos, acetatos de vinilo, vinilcetonas, haluros de vinilo, derivados, isómeros y mezclas de los mismos. El agente adicional también puede ser una cera, incluyendo ceras naturales y sintéticas; ácidos grasos, incluyendo ácidos grasos C<sub>12</sub>-C<sub>30</sub> y ésteres de ácido graso, incluyendo monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. Los ejemplos no limitantes incluyen aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, ácido láurico, ácido linoleico, ácido oleico, aceite de palma, ácido palmítico, aceite de soja, aceite de grano de soja, ácido esteárico, estearina, aceite de semilla de girasol, aceite vegetal y combinaciones de los mismos. Los aceites pueden estar hidrogenados, no hidrogenados o parcialmente hidrogenados. El agente adicional puede ser un agente de flujo, incluyendo carbonatos y talcos, y combinaciones de los mismos. Los carbonatos pueden seleccionarse entre carbonato de cobre, carbonato de cinc, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato potásico, carbonato sódico y combinaciones de los mismos.

En una realización, El agente adicional es un polímero sensible al pH y puede elegirse entre polímeros naturales y modificados (por ejemplo, quitosano), incluyendo mezclas con monómeros. Los agentes adicionales pueden ser polímeros de tipo amino. Los polímeros de tipo amino incluyen, pero sin limitación, piridina, derivados de piridina, monómeros de tipo aminoacrilato, tales como acrilato de dialquilaminoetilo, estireno, derivados de estireno (tales como poli-2-vinilpiridina-co-estireno), acrilonitrilo, monómeros tipo acrilato de ácido acrílico, ésteres de vinilo, acetato de vinilo y anillos heterocíclicos sustituidos con vinilo que contienen fusiones de nitrógeno (tal como vinilcarbazol, vinilquinolona y N-vinilpirrol). En una realización preferida, el agente adicional es poli-2-vinilpiridin-co-estireno.

En una realización alternativa, la composición de la capa está libre de etilcelulosa.

Además, se describe una composición de capa en la que el primer polímero comprende el 100 % de la capa. En otras realizaciones, el primer polímero es de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 50 % en peso de la matriz y el agente adicional comprende de aproximadamente 50 % a aproximadamente 95 % en peso de la matriz. En varias realizaciones, el agente adicional comprende aproximadamente el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, o 90 % de la capa. En realizaciones en las que se proporcionan dos o más agentes adicionales en la capa, cada agente puede proporcionarse en cualquier proporción sin limitación.

El porcentaje de peso total de la capa puede y variará. En algunas realizaciones, la capa varía de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % en peso de la composición total. Más preferentemente, la capa varía de aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 % en peso o de aproximadamente 8 % a aproximadamente 12 % en peso. En algunas realizaciones, el porcentaje en peso total de la capa es inferior a aproximadamente el 1 %, inferior a aproximadamente el 2 %, inferior a aproximadamente el 3 %, inferior a aproximadamente el 4 %, inferior a aproximadamente el 5 %, inferior a aproximadamente el 6 %, inferior a aproximadamente el 7 %, inferior a aproximadamente el 8 %, inferior a aproximadamente el 9 %, inferior a aproximadamente el 10 %, inferior a aproximadamente el 11 %, inferior a aproximadamente el 12 %, inferior a aproximadamente el 13 %, inferior a aproximadamente el 14 % o inferior a aproximadamente el 15 % en peso.

*(b). núcleo*

La composición comprende además un núcleo que comprende un agente bioactivo. En algunas realizaciones, el núcleo contiene uno bioactivo. En otras realizaciones, el núcleo contiene más de un agente bioactivo. Cuando hay más de un agente bioactivo presente en el núcleo, se pueden proporcionar en cualquier proporción. Por ejemplo, cuando están presentes dos bioactivos, pueden estar presentes en una relación de aproximadamente 99:1, 95: 5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, o 50:50 en porcentaje en peso, o en cualquier proporción entre las proporciones indicadas. Cuando hay más de dos bioactivos presentes, igualmente pueden estar presentes en cualquier proporción sin limitación.

El agente bioactivo puede estar presente en la composición del núcleo en un peso de aproximadamente 20 % a 90 % de la composición total. En algunas realizaciones, el agente bioactivo es de aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 45 %, aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 55 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 65 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente 90 %, o aproximadamente 99 % en peso de la composición total. En una realización preferida, el agente bioactivo está presente en una cantidad de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 %, o de aproximadamente 85 % a aproximadamente 95 % o de aproximadamente 95 % a

aproximadamente 99 % en peso de la composición total.

#### i. bioactivo

El agente bioactivo pueden elegirse entre cualquier molécula biológicamente pertinente. Los ejemplos no limitantes de agentes bioactivos incluyen vitaminas, minerales (por ejemplo, orgánicos o inorgánicos), antioxidantes, ácidos orgánicos, ácidos grasos poliinsaturados ("PUFA"), aceites esenciales, agentes farmacéuticamente activos, aminoácidos o análogos de aminoácidos, enzimas, prebióticos, probióticos, hierbas y pigmentos.

Las vitaminas adecuadas incluyen vitamina C, vitamina A, vitamina E, vitamina B12, vitamina K, riboflavina, niacina, vitamina D, vitamina B6, ácido fólico, piridoxina, tiamina, ácido pantoténico y biotina. La forma de la vitamina puede incluir sales de la vitamina, derivados de la vitamina, compuestos que tienen la misma o similar actividad de la vitamina y metabolitos de la vitamina.

El oligomineral orgánico adecuado puede comprender un quelato metálico que comprende iones metálicos y un ligando de aminoácido. Como alternativa, el oligomineral orgánico puede ser una sal metálica que comprende iones metálicos y un anión aminoácido. Los iones metálicos pueden seleccionarse del grupo que consiste en iones de cinc, iones de cobre, iones de manganeso, iones de hierro, iones de cromo, iones de cobalto, iones de magnesio, iones de calcio y combinaciones de los mismos. Los aminoácidos pueden seleccionarse del grupo que comprende alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina, o sus análogos hidroxilo. En ciertas realizaciones, los iones de cobre y cinc son, preferentemente, divalentes, es decir, cada ion lleva una carga de 2+. La relación molar de aminoácidos a iones metálicos en la molécula de quelato generalmente puede variar de 1:1 a 3:1 o mayor. Normalmente, un quelato metálico puede comprender una mezcla de 1:1, 2:1 y 3:1 de especies. Preferentemente, la relación molar de aminoácidos a iones metálicos en la molécula de quelato puede variar generalmente de 1,5:1 a 2,5:1. En un medio acuoso, las proporciones relativas de estas especies están determinadas por las constantes de estabilidad aplicables. Cuando el número de ligandos equivale a la carga en el ion metálico, la carga se ha equilibrado debido a que los restos carboxilo de los aminoácidos están en forma desprotonada. Por ejemplo, en la especie quelato en la que el catión metálico lleva una carga de 2+ y la relación de aminoácido a metal es 2:1, se entiende que cada uno de los grupos hidroxilo o amino está unido por un enlace covalente coordinado al ion metálico. Cuando el número de ligandos excede la carga en el ion metálico, por ejemplo, en un quelato 3:1 de un ion metálico divalente, los aminoácidos en exceso de la carga normalmente pueden permanecer en un estado protonado para equilibrar la carga. Por otra parte, cuando la carga positiva en el ion metálico excede el número de aminoácidos, la carga puede equilibrarse por la presencia de otro anión, tal como, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro, bicarbonato, hidrógeno sulfato, dihidrogenofosfato y combinaciones de los mismos. También pueden estar presentes aniones divalentes. En una realización de ejemplo, el quelato metálico comprende ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMTBa).

El mineral puede ser un oligomineral inorgánico. Los oligominerales inorgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, sulfatos metálicos, óxidos metálicos, hidróxidos metálicos, oxocloruros metálicos, carbonatos metálicos y halogenuros metálicos. A modo de ejemplo no limitante, el oligomineral inorgánico puede ser sulfato de cobre, óxido de cobre, cloruro de cobre o carbonato de cobre. Como alternativa, el oligomineral inorgánico puede ser sulfato de manganeso, cloruro de manganeso u óxido de manganeso. En otra realización, el oligomineral inorgánico puede ser sulfato de cinc, óxido de cinc, cloruro de cinc o carbonato de cinc. En aún una realización adicional, el oligoelemento inorgánico puede ser selenito de sodio o selenato de sodio.

Los antioxidantes adecuados incluyen, pero sin limitación, ácido ascórbico y sus sales, palmitato de ascorbilo, estearato de ascorbilo, anoxómero, *n*-acetilcisteína, isotiocianato de bencilo, ácido *m*-aminobenzoico, ácido *o*-aminobenzoico, ácido *p*-aminobenzoico (PABA), hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), ácido cafeico, cantaxantina, alfacaroteno, beta-caroteno, beta-caroteno, ácido beta-apo-carotenoico, carnosol, carvacrol, catequinas, galato de cetilo, ácido clorogénico, ácido cítrico y sus sales, extracto de clavo, extracto de grano de café, ácido *p*-cumárico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, N,N'-difenil-*p*-fenilendiamina (DPPD), tiodipropionato de dilaurilo, tiodipropionato de diestearilo, 2,6-di-*terc*-butilfenilo, galato de dodecilo, ácido edético, ácido eláxico, ácido eritórbito, eritorbato sódico, esculetina, esculina, 6-etoxi-1,2-dihidro-2,2,4-trimetilquinolina (etoxiquina), galato de etilo, etilmaltol, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), extracto de eucalipto, eugenol, ácido ferúlico, flavonoides (por ejemplo, catequina, epicatequina, galato de epicatequina, epigalocatequina (EGC), galato de epigalocatequina (EGCG), polifenol epigalocatequin-3-galato, flavoneas (por ejemplo, apigenina, crisina, luteolina), flavonoles (por ejemplo, datiscetina, miricetina, daemfero), flavanonas, fraxetina, ácido fumárico, ácido gálico, extracto de genciana, ácido glucónico, glicina, goma guaiacum, hesperetina, ácido alfa-hidroxibencilfosfónico, ácido hidroxicinámico, ácido hidroxiglutarico, hidroquinona, ácido *n*-hidroxisuccínico, hidroxitrirosol, hidroxiourea, extracto de salvado de arroz, ácido láctico y sus sales, lecitina, citrato de lecitina; ácido R- $\alpha$ -lipoico, luteína, licopeno, ácido málico, maltol, 5-metoxi triptamina, galato de metilo, citrato de monoglicérido; citrato de monoisopropilo; morina, beta-naftoflavona, ácido nordihidroguaiarético (NDGA), galato de octilo, ácido oxálico, citrato de palmitilo, fenotiazina, fosfatidilcolina, ácido fosfórico, fosfatos, ácido fítico, fitilubicromol, extracto de pimienta, galato de propilo, polifosfatos, quecertina, trans-rosmarinol, extracto de romero, ácido rosmarínico, extracto de salvia, sesamol, silimarina, ácido sináptico, ácido succínico, citrato de estearilo, ácido siríngico, ácido tartárico, timol, tocoferoles (es decir, alfa-, beta-, gamma- y delta-tocoferol), tocotrienols (es decir, alfa-, beta-, gamma- y delta-tocotrienoles), tirosol, ácido vanílico, 2,6-di-*terc*-

butil-4-hidroximetilfenol (es decir, Ionox 100), 2,4-(tris-3',5'-bi-*terc*-butil-4'-hidroxibencil)-mesitileno (es decir, Ionox 330), 2,4,5-trihidroxibutirofenona, ubiquinona, butilhidroquinona terciaria (TBHQ), ácido tiodipropiónico, trihidroxi butirofenona, triptamina, tiramina, ácido úrico, vitamina K y derivados, vitamina Q10, aceite de germen de trigo, zeaxantina o combinaciones de los mismos.

- 5 Diversos ácidos orgánicos compuestos de ácidos carboxílicos son adecuados. En una realización, el ácido orgánico puede contener de aproximadamente uno a aproximadamente veinticinco átomos de carbono. En otra realización, el ácido orgánico puede tener de aproximadamente uno a aproximadamente veinticinco átomos de carbono. En una realización adicional, el ácido orgánico puede tener de aproximadamente tres a aproximadamente doce átomos de carbono. En aún otra realización, el ácido orgánico puede contener de aproximadamente ocho a aproximadamente doce átomos de carbono. En aún otra realización, el ácido orgánico puede contener de aproximadamente dos a aproximadamente seis átomos de carbono. Los ácidos orgánicos adecuados, a modo de ejemplo no limitante, incluyen ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butanoico, ácido benzoico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido mandélico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido sórbico, ácido bórico, ácido succínico, ácido adípico, ácido glicólico, cinnamaldehído y ácido glutárico.
- 10
- 15 Las sales de ácidos orgánicos que comprenden ácidos carboxílicos también son adecuadas para ciertas realizaciones. Sales adecuadas representativas incluyen las sales de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre y cinc de ácidos orgánicos. En una realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido fórmico. En otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido acético.
- 20 En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido propiónico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido butanoico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido benzoico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido láctico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido málico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido tartárico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido mandélico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido cítrico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido fumárico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido sórbico. En otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido bórico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido succínico. En otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido adípico. En aún otra realización, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido glicólico. En una realización adicional, el ácido orgánico es una sa de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, cobre o cinc de ácido glutárico.
- 30
- 35
- 40 Como alternativa, el ácido orgánico puede estar compuesto por un ácido carboxílico sustituido. Un ácido carboxílico sustituido generalmente tiene las mismas características que las detalladas anteriormente para los ácidos carboxílicos, pero la cadena de hidrocarbilo se ha modificado de manera tal que está ramificada, es parte de una estructura de anillo o contiene alguna otra sustitución. En una realización, el ácido carboxílico sustituido puede contener uno o más grupos carboxilo adicionales. Los ácidos dicarboxílicos saturados incluyen ácido malónico, ácido succínico, ácido glutárico y ácido adípico, y los ácidos dicarboxílicos insaturados incluyen ácido maleico y ácido fumárico. En otra realización, el ácido carboxílico sustituido puede contener uno o más grupos hidroxilo. Un ácido carboxílico sustituido con un grupo hidroxilo en el carbono alfa, es decir, el carbono adyacente al carbono carboxilo, generalmente se denomina ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico. Los ejemplos de ácidos  $\alpha$ -hidroxicarboxílicos adecuados incluyen ácido glicólico, ácido láctico, ácido málico y ácido tartárico. En una realización alternativa, el ácido carboxílico sustituido puede contener uno o más grupos carbonilo. En aún otra realización, el ácido carboxílico sustituido puede contener un grupo amino en la cadena alfa, es decir, es un  $\alpha$ -aminoácido. En una realización, el  $\alpha$ -aminoácido puede ser uno de los veinte aminoácidos estándar o derivados de los mismos. En otra realización, el  $\alpha$ -aminoácido puede ser un  $\alpha$ -aminoácido esencial seleccionado de el grupo que consiste en arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Las sales de ácidos orgánicos que comprenden ácidos carboxílicos sustituidos también son adecuadas para ciertas realizaciones. Sales adecuadas representativas incluyen las sales de amonio, magnesio, calcio, litio, sodio, potasio, selenio, hierro, de cobre y cinc de ácidos orgánicos que comprenden ácidos carboxílicos sustituidos.
- 45
- 50
- 55

Los PUFA adecuados incluyen un ácido graso de cadena larga con al menos 18 átomos de carbono y al menos dos dobles enlaces carbono-carbono, generalmente en la configuración *cis*. En una realización de ejemplo, el PUFA es un ácido graso omega. El PUFA puede ser un ácido graso omega-3 en el que el primer doble enlace se produce en el tercer enlace carbono-carbono del extremo metilo de la cadena de carbono (es decir, opuesto al grupo ácido carboxilo). Los ejemplos adecuados de ácidos grasos omega-3 incluyen ácido 7,10,13-hexadecatrienoico todo-*cis*; ácido todo-*cis*-9,12,15-octadecatrienoico (ácido alfa-linolénico, ALA); ácido todo-*cis*-6,9,12,15, ácido

60

octadecatetraenoico (ácido estearidónico); ácido todo-cis-8,11,14,17-eicosatetraenoico (ácido eicosatetraenoico); ácido todo-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (ácido eicosapentaenoico, EPA); ácido todo-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoico (ácido clupanodónico, DPA); ácido todo-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (ácido docosahexaenoico, DHA); ácido todo-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico; y ácido todo-cis-6,9,12,15,18,21-tetracosenoico (ácido nisínico). En una realización alternativa, el PUFA puede ser un ácido graso omega-6 en el que se produce el primer enlace doble en el sexto enlace carbono-carbono desde el extremo metilo de la cadena de carbono. Los ejemplos de ácidos grasos omega-6 incluyen ácido todo-cis-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico); ácido todo cis-6,9,12-octadecatrienoico (ácido gamma-linolénico, GLA); ácido todo-cis-11,14-eicosadienoico (ácido eicosadienoico); ácido todo-cis-8,11,14-eicosatrienoico (ácido dihomo-gamma-linolénico, DGLA); ácido todo cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico (ácido araquidónico, AA); ácido todo-cis-13,16-docosadienoico (ácido docosadienoico); ácido todo cis-7,10,13,16-docosatetraenoico (ácido adrenico); y ácido todo-cis-4,7,10,13,16-docosapentaenoico (ácido docosapentaenoico). En aún otra realización alternativa, el PUFA puede ser un ácido graso omega-9 en el que se produce el primer enlace doble en el sexto enlace carbono-carbono desde el extremo metilo de la cadena de carbono o un ácido graso conjugado, en el que al menos un par de dobles enlaces están separados por un enlace sencillo. Los ejemplos adecuados de ácidos grasos omega-9 incluyen ácido cis-9-octadecenoico (ácido oleico); ácido cis-11-eicosenoico (ácido eicosenoico); ácido todo-cis-5,8,11-eicosatrienoico (ácido de Mead); ácido cis-13-docosenoico (ácido erúxico) y ácido cis-15-tetracosenoico (ácido nervónico). Los ejemplos de ácidos grasos conjugados incluyen ácido 9Z, 11E-octadeca-9,11-ácido dienoico (ácido ruménico); 10E, ácido 12Z-octadeca-9,11-dienoico; ácido 8E, 10E, 12Z-octadecatrienoico (ácido acaléndico); ácido 8E, 10E, 12E-octadecatrienoico (ácido β-caléndico); ácido 8E, 10Z, 12E-octadecatrienoico (ácido jacárico); ácido 9E, 11E, 13Z-octadeca-9,11,13-trienoico (ácido α-eleosteárico); ácido 9E, 11E, 13E-octadeca-9,11,13-trienoico (ácido β-eleosteárico); ácido 9Z, 11Z, 13E-octadeca-9,11,13-trienoico (ácido catálpico) y ácido 9E, 11Z, 13E-octadeca-9,11,13-trienoico (ácido punífico).

Los aceites esenciales adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite de menta, aceite de hoja de canela, aceite de citología, aceite de clavo, aceite de ricino, aceite de gaulteria, naranja dulce, aceite de hierbabuena, aceite de madera de cedro, aldehído C16, α-terpineol, aldehído amilcinámico, salicilato de amilo, aldehído anísico, alcohol bencílico, acetato de bencilo, alcanfor, capsaicina, cinamaldehído, alcohol cinámico, carvacrol, carveol, citral, citronelal, citronelol, p-cimeno, ftalato de dietilo, salicilato de dimetilo, dipropilenglicol, eucaliptol (cineol), eugenol, iso-eugenol, galaxolida, geraniol, guaiacol, ionona, listea cubea, mentol, salicilato de mentilo, antranilato de metilo, metilionona, salicilato de metilo, α-felandreno, aceite de poleo, perillaldehído, alcohol 1- o 2-feniletílico, propionato de 1- o 2-feniletílico, piperonal, acetato de piperonilo, alcohol de piperonilo, D-pulegona, terpinen-4-ol, acetato de terpinilo, acetato de 4-terc-butilciclohexilo, aceite de tomillo, timol, metabolitos del trans-anetol, vanilina, vanilina de etilo, composiciones similares y combinaciones de los mismos.

Los probióticos y los prebióticos pueden incluir levaduras y bacterias que ayudan a establecer un rumen de protección inmunológica o microflora intestinal, así como oligosacáridos pequeños. A modo de ejemplo no limitante, Los probióticos y prebióticos derivados de la levadura incluyen componentes derivados de la pared celular de levaduras, tales como β-glucanos, arabinoxilano isomaltosa, agarooligosacáridos, lactosacarosa, ciclodextrinas, lactosa, fructooligosacáridos, laminariheptaosa, lactulosa, β-galactooligosacáridos, mananoligosacáridos, rafinosa, estacquirosa, oligofructosa, glucosilsacarosa, oligosacárido termal de sacarosa, isomalturosa, caramelo, inulina y xilooligosacáridos. En una realización de ejemplo, el agente derivado de levadura puede ser β-glucanos y/o mananoligosacáridos. Fuentes de componentes derivados de la pared celular de levadura incluyen *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces capsularis*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces fermentati*, *Saccharomyces lugwigii*, *Saccharomyces microellipsoides*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces rosei*, *Candida albicans*, *Candida cloaceae*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Geotrichum candidum*, *Hansenula americana*, *Hansenula anomala*, *Hansenula wingei* y *Aspergillus oryzae*.

Los probióticos y los prebióticos también pueden incluir agentes derivados de la pared celular de las bacterias, como el peptidoglicano y otros componentes derivados de bacterias grampositivas con un alto contenido de peptidoglicano. Las bacterias grampositivas de ejemplo incluyen *Lactobacillus acidophilus*, *Bophedobact thermophilum*, *Bifedobat longum*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium freudenreichii* y *Bifidobacterium pseudolongum*.

El agente bioactivo puede ser un aminoácido o análogo de aminoácido. Los aminoácidos adecuados no limitantes alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina, u otros aminoácidos conocidos. Los análogos de aminoácidos incluyen análogos α-hidroxi, así como análogos de cadena lateral protegida o aminoácidos N-derivatizados que incluyen ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico o su sal correspondiente. En una realización, el agente bioactivo es la sal de calcio del ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico.

El agente bioactivo también puede ser una enzima. Como se utiliza en el presente documento, se entiende que las variantes se incluyen en el término enzima. Los ejemplos no limitantes adecuados de enzimas incluyen amilasas, carbohidrasas, celulasa, esterasas, galactonasas, galactosidasas, glucanasas, hemicelulasas, hidrolasas, lipasas, oxidorreductasas, pectinasas, peptidasas, fosfatasas, fosfolipasas, fitasas, proteasas, transferasas, xilanasas y combinaciones de los mismos.

- Las hierbas adecuadas y derivados de hierbas, tal como se usa en el presente documento, se refieren a extractos de hierbas y sustancias derivadas de plantas y partes de plantas, tales como hojas, flores y raíces, sin limitación. Las hierbas y los derivados de hierbas de ejemplo no limitantes incluyen agrimonia, alfalfa, aloe vera, amaranto, angélica, anís, baya de espino, albahaca, arrayán, polen de abeja, abedul, bistorta, mora, cohosh negro, nogal negro, cardo bendito, cohosh azul, verbena azul, eupatoria, borraja, buchú, espino cerval, menta de lobo, bardana, cápsicum, pimienta de cayena, alcaravea, cáscara sagrada, hierba gatera, apio, centauro, camomila, chaparral, pamplina, achicoria, chinchona, clavos, uña de caballo, consuelda, seda de maíz, grama, barbatilla, raíz de culver, ciani, flor del maíz, damiana, diente de león, garra del diablo, dong quai, equinácea, elecampana, efedra, eucalipto, onagra, eufrasia, unicornio falso, hinojo, fenogreco, escrofularia, semilla de lino, ajo, genciana, jengibre, ginseng, sello dorado, gotu kola, hierba de goma, espino, lúpulo, marrubio, rábano picante, cola de caballo, hoshouwu, hidrangea, hisopo, musgo de islandia, musgo irlandés, jojoba, enebro, quelpo, zapatito de dama, citronela, regaliz, lobelia, mandrágora, caléndula, mejorana, malvavisco, muérdago, muleína, mostaza, mirra, ortiga, paja de avena, uva de oregon, papaya, perejil, flor de la pasión, melocotón, poleo, menta, hierba doncella, plátano, raíz de pleuresia, hierba carmín, ceniza espinosa, psyllium, cuasia, reina de la pradera, trébol rojo, frambuesa roja, arcilla roja, ruibarbo, escaramujo, romero, ruda, cártamo, azafrán, salvia, hierba de San Juan, zarzaparrilla, sazafrán, palmito, escutelaria, senega, senna, bolsa de pastor, olmo resbaladizo, hierbabuena, nardo, hiera tora, Stillingia, fresa, taheebo, tomillo, uva ursi, valeriana, violeta, berros, corteza de roble blanco, corteza de pino blanco, cereza, lechuga silvestre, batata silvestre, sauce, gaulteria,, hamamelis, betonia de madera, ajenjo, milenrama, romaza, yerba santa, yuca y combinaciones de los mismos.
- Pigmentos no limitantes adecuados incluyen actinoertrina, alizarina, aloxantina,  $\beta$ -apo-2'-carotenal, apo-2-licopenal, apo-6'-licopenal, astaceína, astaxantina, azafrinaldehído, aacterioruberina, aixina,  $\alpha$ -carotina,  $\beta$ -carotina,  $\gamma$ -carotina,  $\beta$ -carotenona, cantaxantina, capsantina, capsorubina, citranaxantina, citroxantina, crocetina, crocetinsemialdehído, crocina, crustaxantina, criptocapsina,  $\alpha$ -criptoxantina,  $\beta$ -criptoxantina, criptomonaxantina, cintiixantina, decaprenoxantina, dehidroadonirubina, diadinoxantina, 1,4-diamino-2,3-dihidroantraquinona, 1,4-dihidroxiantraquinona, 2,2'-dicetospirioxantina, eschscholtzxantina, eschscholtzxantona, flexixantina, foliacromo, fucoxantina, gazanixantina, hexahidrolícopeno, hopkinsixantina, hidroxisferiodenona, isofucoxantina, lroxantina, luteína, luteoxantina, licopeno, licoperseno, licoxantina, morindona, mutatoxantina, neocromo, neoxantina, nonaprenoxantina, OH-clorobacteno, okenona, oscilaxantina, paracentrona, pectenolona, pectenoxantina, peridinina, fleixantofila, feniconona, fenicopteron, fenicoxantina, physalien, fitoflueno, pirroxantininol, quinonas, rodopina, rodopinal, rodopinol, rodovibrina, rodoxantina, rubixantona, sproxantina, semi- $\alpha$ -carotenona, semi- $\beta$ -carotenona, sintaxantina, sifonaxantina, sifoneína, esferoideo, tangeraxantina, torularhodina, éster de torularhodinmetilo, torularhodinaldehído, toruleno, 1,2,4-trihidroxiantraquinona, tripasixantina, trolicromo, vaucherixantina, violaxantina, wamingona, xantina, zeaxantina,  $\alpha$ -zeacaroteno y combinaciones de los mismos.
- Los agentes farmacéuticamente aceptables no limitantes adecuados incluyen un fármaco lábil frente a ácido/álcali, un medicamento dependiente del pH o un medicamento que es un ácido débil o una base débil. Los ejemplos de fármacos lábiles frente a ácido incluyen estatinas (por ejemplo, pravastatina, fluvastatina y atorvastatina), antibióticos (por ejemplo, penicilina G, ampicilina, estreptomina, eritromicina, claritromicina y azitromicina), análogos de nucleósidos [por ejemplo, dideoxiinosina (ddl o didanosina), dideoxiadenosina (ddA), dideoxicitosina (ddC)], salicilatos (por ejemplo, aspirina), digoxina, bupropión, pancreatina, midazolam y metadona. Los medicamentos que solo son solubles a pH ácido incluyen nifedipina, emonaprida, nicardipina, amosulalol, noscapina, propafenona, quinina, dipiridamol, josamicina, dilevalol, labetalol, enisoprost y metronidazol. Los fármacos que son ácidos débiles incluyen fenobarbital, fenitoína, zidovudina (AZT), salicilatos (por ejemplo, aspirina), compuestos de ácido propiónico (por ejemplo, ibuprofeno), derivados de indol (por ejemplo, indometacina), compuestos de fenamato (por ejemplo, ácido meclofenámico), compuestos de ácido pirrolalcanoico (por ejemplo, tolmetina), cefalosporinas (por ejemplo, cefalotina, cefalaxina, cefazolina, cefradina, cefapirina, cefamandol y cefoxitina), 6-fluoroquinolonas y prostaglandinas. Los fármacos que son bases débiles incluyen agentes adrenérgicos (por ejemplo, efedrina, desoxiefedrina, fenilefrina, epinefrina, salbutamol y terbutalina), agentes colinérgicos (por ejemplo, fisostigmina y neostigmina), agentes antiespasmódicos (por ejemplo, atropina, metantelina y papaverina), agentes curariformes (por ejemplo, clorisondamina), tranquilizantes y relajantes musculares (por ejemplo, flufenazina, tiordazina, trifluoperazina, clorpromazina y triflupromazina), antidepresivos (por ejemplo, amitriptilina y nortriptilina), antihistamínicos (por ejemplo, difenhidramina, clorfeniramina, dimenhidrinato, tripelenamina, perfenazina, clorprofenazina y clorprofenpiridamina), agentes cardioactivos (por ejemplo, verapamilo, diltiazem, galapomilo, cinarizina, propranolol, metoprolol y nadolol), antipalúdicos (por ejemplo, cloroquina), analgésicos (por ejemplo, propoxifeno y meperidina), agentes antifúngicos (por ejemplo, ketoconazol e itraconazol), agentes antimicrobianos (por ejemplo, cefpodoxima, proxitilo y enoxacino), cafeína, teofilina y morfina. En otra realización, el medicamento puede ser un bifosfonato u otro medicamento utilizado para tratar la osteoporosis. Los ejemplos no limitantes de a bifosfonato incluyen alendronato, ibandronato, risedronato, zoledronato, pamidronato, neridronato, olpadronato, etidronato, clodronato y tiludronato. Otros fármacos adecuados incluyen estrógeno, moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM) y medicamentos con hormona paratiroidea (PTH). En aún otra realización, el medicamento puede ser un agente antibacteriano. Los antibióticos adecuados incluyen aminoglucósidos (por ejemplo, ampicilina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina y tobramicina), carbecéfems (por ejemplo, loracarbef) un carbapenem (por ejemplo, certapenem, imipenem y meropenem), cefalosporinas (por ejemplo, cefadroxil, cefazolina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozilo, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima y

ceftriaxona), macrólidos (por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina y troleandomicina), monobactámicos, penicilinas (por ejemplo, amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina y ticarcilina), polipéptidos (por ejemplo, bacitracina, colistina y polimixina B), quinolonas (por ejemplo, ciprofloxacino, enoxacino, gatifloxacino, levofloxacino, lomefloxacino, moxifloxacino, norfloxacino, ofloxacino y trovafloxacino), sulfonamidas (por ejemplo, mafenida, sulfacetamida, sulfametizol, sulfasalazina, sulfisoxazol y trimetoprim-sulfametoxazol) y tetraciclinas (por ejemplo, demeclociclina, doxiciclina, minociclina y oxitetraciclina). En una realización alternativa, el medicamento puede ser un inhibidor de la proteasa antiviral (por ejemplo, amprenavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir/ritonavir, ritonavir, saquinavir y nelfinavir). En aún otra realización, el fármaco puede ser un fármaco cardiovascular. Los ejemplos de agentes cardiovasculares adecuados incluyen agentes cardiotónicos (por ejemplo, digitalis (digoxina), ubidecarenona y dopamina), agentes vasodilatadores (por ejemplo, nitroglicerina, captoprilo, dihidralazina, diltiazem e isosorbida dinitrato), agentes antihipertensores (por ejemplo, alfa-metildopa, clortalidona, reserpina, sirosingopina, rescinnamina, prazosina, fentolamina, felodipina, propanolol, pindolol, labetalol, clonidina, captoprilo, enalaprilo y lisonoprilol), beta bloqueantes (por ejemplo, levobunolol, pindolol, timolol maleato, bisoprolol, carvedilol y butoxamina), alfa bloqueantes (por ejemplo, doxazosina, prazosina, fenoxibenzamina, fentolamina, tamsulosina, alfuzosina y terazosina), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, amlodipino, felodipina, nifedipina, nimodipina, nisoldipina, nitrendipina, lacidipina, lercanidipina, verapamilo, gallopamilo y diltiazem), y agentes anticoagulantes (por ejemplo, dipirimidol).

El agente bioactivo puede ser en cualquier forma incluyendo en un sólido, un gel, una emulsión, o cualquier combinación de los mismos. Un sólido, tal como se usa en el presente documento, puede incluir un gránulo, un polvo o un cristal. En tales casos, el núcleo bioactivo puede variar en tamaño de aproximadamente 0,001 milímetros a 10 milímetros. En algunas realizaciones, Los bioactivos son de aproximadamente 0,1 milímetros a 5 milímetros. En una realización preferida, Los bioactivos son de aproximadamente 0,1 milímetros a 3 milímetros.

*(c). composición*

La composición que comprende una capa formada sobre un núcleo puede estar en diversas configuraciones. El núcleo puede estar en cualquier forma incluyendo varillas, esferoides, cilindros y similares. En general, la capa que comprende el primer polímero se forma sobre el núcleo para rodear completamente el núcleo. En algunas realizaciones, el núcleo puede estar en contacto directo con la capa que comprende el primer polímero, y en otras realizaciones, una o más capas adicionales se forman entre el núcleo y la capa que comprende el primer polímero. En realizaciones alternativas, una o más capas adicionales se forman sobre la capa que comprende el primer polímero.

En algunas realizaciones, la composición comprende una capa adicional sustancialmente hidrófoba. La capa hidrófoba puede estar compuesta por un agente hidrófobo. Los agentes hidrófobos son generalmente aquellos con un ángulo de contacto superior a 90°. En algunas realizaciones, la capa hidrófoba se compone de una cera, un polímero o un ácido graso, incluyendo ácidos grasos C<sub>12</sub>-C<sub>30</sub> o un éster de ácido graso, incluyendo monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. En algunas realizaciones, la capa hidrofóbica se elige entre aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, ácido láurico, ácido linoleico, ácido oleico, aceite de palma, ácido palmítico, aceite de soja, aceite de grano de soja, ácido esteárico, estearina, aceite de semilla de girasol, aceite vegetal o las formas hidrogenadas de cualquiera de estos, y combinaciones de las mismas.

En algunas realizaciones, la composición comprende una capa adicional que es sustancialmente hidrófila. La capa hidrófila está compuesta por moléculas solubles en agua y se disuelve en agua. En realizaciones preferidas, la capa hidrófila se elige entre hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa y combinaciones de las mismas.

En una realización, la capa adicional es una mezcla de una cera no reactiva y un carbonato como se describe en la sección (VI).

La capa o capas adicionales se pueden proporcionar en diversos espesores alrededor del núcleo o capa. La cantidad de material que comprende la capa adicional puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 75 % del peso total de la composición (núcleo y capa(s)). En otras realizaciones, la cantidad de material que comprende la capa adicional puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % del peso total de la composición. En varias realizaciones, la cantidad de material que comprende la capa es de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 15 % a aproximadamente 25 %, de aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 25 % a aproximadamente 35 %, de aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, de aproximadamente 35 % a aproximadamente 45 % o de aproximadamente 40 % a aproximadamente 50 % del peso total de la composición. En realizaciones particulares, la capa adicional es de aproximadamente 5 %, aproximadamente el 10 %, aproximadamente 15 % o aproximadamente 20 % del peso total de la composición.

Se pueden utilizar diversos excipientes en formulaciones farmacéuticas y nutritivas de uso común con cualquiera de los bioactivos descritos anteriormente. Los ejemplos no limitantes de excipientes adecuados incluyen aun agente

5 seleccionado del grupo que consiste en disgregantes no efervescentes, un agente colorante, un agente modificador del sabor, un agente dispersante oral, un estabilizante, un conservante, un diluyente, un agente de compactación, un lubricante, una carga, un aglutinante, agentes enmascarantes del sabor, un agente de disgregación efervescente y combinaciones de cualquiera de estos agentes. En algunas realizaciones, la capa adicional puede comprender además un polímero que tiene una unidad de repetición de fórmula (I).

10 En una realización, el excipiente puede ser un disgregante o un superdisgregante. Los disgregantes adecuados incluyen, sin límite, almidones (tal como almidón de maíz, almidón de patata y similares), almidones pregelatinizados y modificados de los mismos, celulosa microcristalina (incluyendo, pero sin limitación, etilcelulosa, metilcelulosa o combinaciones de los mismos), alginatos, almidón glicolato sódico y gomas (tales como agar, guar, algarroba, karaya, pectina y tragacanto). Los ejemplos no limitantes de superdisgregantes adecuados incluyen crospovidona, carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa sódica, glicolato de almidón de sodio, hidroxipropil celulosa poco sustituida y bicarbonato sódico. En una realización preferida, la composición puede comprender carboximetilcelulosa sódica como superdisgregante.

*(d). propiedades*

15 Las composiciones que comprenden la capa que comprende un primer polímero pueden tener propiedades físicas mejoradas que incluyen propiedades de cambio de pH, perfiles de liberación mejorados para las propiedades bioactivas, y mejores propiedades mecánicas.

20 La capa que comprende el primer polímero puede tener un efecto de cambio de pH en el que las composiciones son estables en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro, pero se hidroliza a un pH más bajo. Por ejemplo, la capa que comprende el primer polímero es estable a un pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5. Las composiciones que comprenden el primer polímero se hidrolizan en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0.

25 La hidrólisis de la composición da como resultado la liberación del agente bioactivo de la composición que comprende la primera capa. Por consiguiente, las composiciones se pueden usar para lograr un perfil de liberación particular para el agente bioactivo.

30 A un pH aproximadamente neutro, Las composiciones pueden caracterizarse por una liberación mínima del agente bioactivo. En una realización, un perfil de liberación mínimo puede mostrar un perfil de liberación sustancialmente similar a los perfiles de liberación de pH 6,5 mostrados en las figuras 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 9. En otra realización, a un pH aproximadamente neutro, la liberación se caracteriza porque menos del 20 % del agente bioactivo total se libera de la composición. En aún otras realizaciones, una liberación mínima se caracteriza por menos del 19 %, inferior al 18 %, inferior al 17 %, inferior al 16 %, inferior al 15 %, inferior al 14 %, inferior al 13 %, inferior al 12 %, inferior al 11 %, inferior al 10 %, inferior al 9 %, inferior al 8%, inferior al 7 %, inferior al 6 %, inferior al 5 %, inferior al 4 %, inferior al 3 %, menos del 2 %, o menos del 1 % del agente bioactivo total en la composición que se libera.

35 A un pH de menos de 5,0, las composiciones pueden tener un perfil de liberación para el agente bioactivo que es sustancialmente constante, de primer orden, sigmoideal o retrasada. En general, la velocidad de liberación a un pH inferior a 5,0 es mayor que la velocidad de liberación en condiciones aproximadamente neutrales. En algunas realizaciones, las composiciones tienen un perfil de liberación que es sustancialmente similar a los perfiles de liberación en los perfiles de liberación de pH 2,5 mostrados en las Figuras 1, 2, 3, 6, 8 o 9. En una realización preferida, la liberación a un pH inferior a 5,0 es sustancialmente constante. Una liberación sustancialmente constante se refiere al lanzamiento de un agente bioactivo que es constante durante un período de tiempo, por ejemplo, variando en menos del 1 %, menos del 0,5 %, o 0,25 % en diferentes realizaciones. Las composiciones pueden mostrar una velocidad de liberación constante a un pH por debajo de aproximadamente 5.0 durante un período de 1 a 24 horas. En algunas realizaciones, la velocidad de liberación es constante drante un periodo de aproximadamente 40 aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas o aproximadamente 24 horas. Dependiendo del periodo de tiempo y del pH, la liberación del agente bioactivo puede variar desde menos del 1 % por hora a más del 30 % por hora. El perfil de liberación se puede ajustar en función de la cantidad del primer polímero en la capa. Los porcentajes más altos del primer polímero en la capa corresponden a un mayor porcentaje de bioactivo liberado por hora, mientras que cantidades menores del primer polímero corresponden a un porcentaje de liberación menor por hora.

55 En aún otra realización, el perfil de liberación puede mostrar una alta velocidad de liberación inicial a un pH inferior a 5,0. En dichas realizaciones, las velocidades de liberación a un pH de 5,0 o inferior pueden ser mayores durante las primeras 1 a 5 horas a un pH de 5,0 o menor. En algunas realizaciones, este período inicial de rápida liberación de bioactivos es seguido de un período de liberación constante.

Las composiciones de la invención tienen mejores propiedades de durabilidad, plasticidad y propiedades mecánicas. Dichas propiedades son ventajosas para composiciones que pueden estar sujetas a masticación (es decir, en el contexto de proporcionar la composición a un animal) o en el contexto de tensiones mecánicas del procesamiento industrial, tal como los equipos de mezcla y transporte. La resistencia de las composiciones contra la fuerza mecánica puede medirse mediante la prueba de impacto descrita en el Ejemplo 8. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención liberan menos del 10 % del total de bioactivos cuando se someten a 25 impactos. En otras realizaciones, las composiciones de la invención liberan menos del 9 %, o menos del 8 % o menos del 7 %, o menos del 6 % o menos del 5 %, o menos del 4 %, o menos del 3 %, o menos del 2 % o menos del 1 % del agente bioactivo cuando se someten a 25 impactos.

## 10 **II. Composición de matriz**

Se describe adicionalmente una composición aglomerada que comprende una pluralidad de agentes bioactivos incluidos en una matriz. La matriz comprende un primer polímero que comprende una unidad de repetición de fórmula (I).

### (a). composición aglomerada

15 La composición aglomerada comprende una pluralidad de agentes bioactivos incluidos en una matriz. La matriz comprende un primer polímero que comprende una unidad de repetición de fórmula (I). El primer polímero se describe en la sección (I) (a). Los agentes bioactivos adecuados para su uso en la matriz se describen en la sección (I) (b) (i).

20 La composición aglomerada comprende una pluralidad de agentes bioactivos incluidos en una matriz. La composición aglomerada formada por la matriz y los agentes bioactivos puede tener cualquier forma, incluyendo varillas, esferoides, cilindros y similares. Además, la composición aglomerada puede conformarse para una necesidad particular. Por ejemplo, la composición aglomerada puede conformarse para tapar los extremos abiertos de un cilindro.

25 El agente bioactivo puede estar presente en la composición aglomerada en un peso de aproximadamente 20 % a 90 % de la composición total. el agente bioactivo puede ser de aproximadamente 10 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 45 %, aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 55 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 65 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente 90 %, o aproximadamente 99 % en peso de la composición total. el agente bioactivo puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 %, o de aproximadamente 85 % a aproximadamente 95 % o de aproximadamente 95 % aproximadamente 99 % en peso de la composición total.

30 Los agentes bioactivos se pueden incluir en la matriz en diversas maneras en función de la forma y el uso previsto de la composición aglomerada. Los agentes bioactivos pueden dispersarse homogéneamente en la composición de la matriz, lo que significa que el agente bioactivo se proporciona en aproximadamente la misma concentración en toda la matriz. Los agentes bioactivos pueden estar más o menos concentrados en ciertas partes de la matriz. Cuando uno o más agentes bioactivos están en la matriz, se pueden dispersar aproximadamente de forma homogénea o ordenada dentro de la matriz. Por ejemplo, cuando hay más de un agente bioactivo presente, los bioactivos pueden separarse lateralmente en la composición. Los bioactivos pueden estar más altamente concentrados en la porción interna de la matriz que en la superficie externa de la matriz.

35 La composición aglomerada puede comprender al menos un agente adicional en la matriz. El agente adicional puede elegirse entre polímeros, incluidos los polímeros cristalinos y semicristalinos. Ejemplos de polímeros adecuados, sin limitación, son polímeros de acrilatos, aminoacrilatos, alquilensuccinatos, alquilenoxalatos, amidas, aminoácidos, anhídridos, arilatos, carbonatos, celulosa (incluyendo, pero sin limitación, etilcelulosa, metilcelulosa o combinaciones de los mismos), caprolactona, cianoacrilatos, dihidropiranos, dioxano, dioxanonas, éter éter cetonas, etilenglicol, fumaratos, hidroxialcanoatos, hidroxil-ésteres, imidas, cetales, lactidas, metacrilatos, metilolefinas, ortoésteres, fosfazinas, estirenos, tereftalatos, carbonato de trimetileno, uretanos, acetatos de vinilo, vinilcetonas, haluros de vinilo, derivados, isómeros y mezclas de los mismos. El agente adicional puede elegirse entre poliacrilamida, poliestireno, polivinilpirrolidona, polivinilacetato. El agente adicional también puede ser una cera, incluyendo ceras naturales y sintéticas, ácidos grasos, incluidos los ácidos grasos C<sub>12</sub>-C<sub>30</sub> y los ésteres de ácidos grasos, incluidos monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, y ésteres de ácidos grasos, hidrogenados, los ejemplos no limitantes incluyen aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, ácido láurico, ácido linoleico, ácido oleico, aceite de palma, ácido palmítico, aceite de soja, aceite de grano de soja, ácido esteárico, estearina, aceite de semilla de girasol, aceite vegetal y combinaciones de los mismos. Los aceites pueden estar hidrogenados, no hidrogenados o parcialmente hidrogenados. El agente adicional también puede ser un agente de flujo tal como un carbonato, talco, estearato de magnesio y similares. Los carbonatos pueden seleccionarse entre carbonato de cobre, carbonato de cinc, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato potásico, carbonato sódico y combinaciones de los mismos. El agente adicional también puede ser un bicarbonato, incluyendo bicarbonato de potasio u otro bicarbonato de metal alcalino. El agente adicional puede ser un polímero de celulosa seleccionado entre hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa y etilcelulosa. El agente adicional

puede ser una sal de un compuesto mencionado anteriormente, incluyendo sales de metales alcalinos, tales como calcio, magnesio, potasio, sodio, litio y similares.

5 El agente adicional puede ser un polímero sensible al pH y puede elegirse entre polímeros naturales y modificados (por ejemplo, quitosano), incluyendo mezclas con monómeros. Los agentes adicionales pueden ser polímeros de tipo amino. Los polímeros de tipo amino incluyen, pero sin limitación, piridina, derivados de piridina, monómeros de tipo aminoacrilato, tales como acrilato de dialquilaminoetilo, estireno, derivados de estireno (tales como poli-2-vinilpiridina-co-estireno), acrilonitrilo, monómeros tipo acrilato de ácido acrílico, ésteres de vinilo, acetato de vinilo y anillos heterocíclicos sustituidos con vinilo que contienen fusiones de nitrógeno (tal como vinilcarbazol, vinilquinolona y N-vinilpirrol). El agente adicional puede ser poli-2-vinilpiridina-co-estireno.

10 La composición aglomerada puede estar libre de etilcelulosa.

15 El primer polímero puede ser de aproximadamente 5 % a aproximadamente 50 % en peso de la matriz y el agente adicional comprende de aproximadamente 50 % a aproximadamente 95 % en peso de la matriz. El o los agentes adicionales pueden comprender aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 % o aproximadamente el 90 % de la matriz. Cuando dos o más agentes adicionales están presentes con el primer polímero en la matriz, los agentes adicionales pueden estar presentes en cualquier proporción sin limitación.

*(b). capas*

20 La composición de la matriz está recubierta por al menos una capa. La capa es como se describe en la sección (I). Tal y como comprenderá el experto en la materia, diferentes capas se pueden combinar y estratificar sobre la composición aglomerada.

25 Además se describe que la capa es sustancialmente hidrófoba. La capa hidrófoba puede estar compuesta por un agente hidrófobo. Los agentes hidrófobos son generalmente aquellos con un ángulo de contacto superior a 90°. La capa hidrófoba puede estar compuesta por una cera, un polímero, un ácido graso, incluyendo ácidos grasos C<sub>12</sub>-C<sub>30</sub> o ésteres de ácido graso, incluyendo monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. Los ejemplos no limitantes incluyen aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, ácido láurico, ácido linoleico, ácido oleico, aceite de palma, ácido palmítico, aceite de soja, ácido esteárico, estearina, aceite de semilla de girasol, aceite vegetal y combinaciones de los mismos. Los aceites pueden estar hidrogenados, no hidrogenados o parcialmente hidrogenados.

30 Además se describe que la capa es sustancialmente hidrófila. Una capa hidrófila, en contraste con una capa hidrófoba, comprende componentes hidrofílicos. La capa hidrófila puede elegirse entre hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa y combinaciones de las mismas.

35 Se pueden utilizar diversos excipientes en formulaciones farmacéuticas y nutritivas de uso común con cualquiera de los agentes descritos anteriormente. Los ejemplos no limitantes de excipientes adecuados incluyen aun agente seleccionado del grupo que consiste en disgregantes no efervescentes, un agente colorante, un agente modificador del sabor, un agente dispersante oral, un estabilizante, un conservante, un diluyente, un agente de compactación, un lubricante, una carga, un aglutinante, agentes enmascarantes del sabor, un agente de disgregación efervescente y combinaciones de cualquiera de estos agentes.

40 La matriz que comprende el primer polímero también puede tener un efecto de cambio de pH en el que las composiciones son estables en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro, pero se hidroliza a un pH más bajo. Por ejemplo, la matriz que comprende el primer polímero es estable a un pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5, pero la matriz que comprende el primer polímero se hidroliza en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0.

45 La hidrólisis de la composición da como resultado la liberación del agente bioactivo de la composición que comprende la primera capa. Por consiguiente, las composiciones se pueden usar para lograr un perfil de liberación particular para el agente bioactivo.

50 A un pH aproximadamente neutro, Las composiciones pueden caracterizarse por una liberación mínima del agente bioactivo. Una liberación mínima puede mostrar un perfil de liberación sustancialmente similar a los perfiles de liberación de pH 6,5 mostrados en las figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, o 9. A un pH aproximadamente neutro, la liberación se puede caracterizar porque menos del 20 % del agente bioactivo total se libera de la composición. Una liberación mínima puede estar caracterizada por menos del 19 %, inferior al 18 %, inferior al 17 %, inferior al 16 %, inferior al 15 %, inferior al 14 %, inferior al 13 %, inferior al 12 %, inferior al 11 %, inferior al 10 %, inferior al 9 %, inferior al 8 %, inferior al 7 %, inferior al 6 %, inferior al 5 %, inferior al 4 %, inferior al 3 %, menos del 2 % o menos del 1 % del agente bioactivo total en la composición.

55 A un pH de menos de 5,0, las composiciones pueden tener un perfil de liberación que es sustancialmente constante, de primer orden, sigmoideal o retrasada. En general, la velocidad de liberación a un pH inferior a 5,0 es mayor que la velocidad de liberación en condiciones aproximadamente neutrales. Las composiciones pueden tener un perfil de

liberación que es sustancialmente similar a los perfiles de liberación en los perfiles de liberación a pH 2,5 mostrados en las figuras 1, 2, 3, 5, 6, 8 o 9. La liberación a un pH inferior a 5,0 puede ser sustancialmente constante. Una liberación sustancialmente constante se refiere al lanzamiento de un agente bioactivo que es constante durante un período de tiempo. Las composiciones pueden mostrar una velocidad de liberación constante a un pH por debajo de aproximadamente 5,0 durante un período de 1 a 24 horas. La velocidad de liberación puede ser constante durante un periodo de aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas o aproximadamente 24 horas. Dependiendo del periodo de tiempo y del pH, la liberación del agente bioactivo puede variar desde menos del 1 % por hora a más del 30 % por hora. La composición puede tener una velocidad de liberación constante de aproximadamente el 10 % del agente bioactivo por hora a un pH de 2,5.

El perfil de liberación puede mostrar una alta velocidad de liberación inicial a un pH inferior a 5,0. Por tanto, las velocidades de liberación a un pH de 5,0 o inferior pueden ser mayores durante las primeras 1 a 5 horas a un pH de 5,0 o menor. Este período inicial de liberación rápida de bioactivo puede ser seguido de un período de liberación constante.

Las composiciones de la invención tienen mejores propiedades de durabilidad, plasticidad y propiedades mecánicas. Dichas propiedades son ventajosas para composiciones que pueden estar sujetas a masticación (es decir, en el contexto de proporcionar la composición a un animal) o en el contexto de tensiones mecánicas del procesamiento industrial, tal como los equipos de mezcla y transporte. La resistencia de las composiciones contra la fuerza mecánica puede medirse mediante la prueba de impacto descrita en el Ejemplo 8. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención liberan menos del 10 % del total de bioactivos cuando se someten a 25 el peso impactos. En otras realizaciones, las composiciones de la invención liberan menos del 9 %, o menos del 8 % o menos del 7 %, o menos del 6 % o menos del 5 %, o menos del 4 %, o menos del 3 %, o menos del 2 % o menos del 1 % del agente bioactivo cuando se someten a 25 impactos de peso.

### **III. Composición alimentaria**

Un aspecto adicional de la divulgación proporciona una composición alimentaria que comprende (i) una fuente nutritiva y (ii) una composición que comprende al menos un agente bioactivo y un polímero que consiste en una unidad de repetición de fórmula (I) como se ha detallado anteriormente en la sección (I). La fuente nutritiva puede ser una fuente de carbohidrato, una fuente de proteína, una fuente de grasa o combinaciones de los mismos. En algunos aspectos, la fuente nutritiva es proporcionada por la composición de capa o de matriz. La composición alimentaria puede formularse como un líquido, gránulo seco, polvo o emulsión.

Se puede incluir diversas fuentes de hidratos de carbono como fuente nutritiva en la composición alimentaria. La fuente de carbohidrato puede ser de origen vegetal, microbiano o animal. Los ejemplos de fuentes vegetales adecuadas de carbohidratos incluyen, sin límite, cereales, tales como trigo, avena, arroz, centeno, y así sucesivamente; legumbres, tales como soja, guisantes, judías y similares; maíz; hierbas; patatas; plantas vegetales; y frutos vegetales. El carbohidrato puede ser un monosacárido, tal como pentosa, glucosa, galactosa, y así sucesivamente; un disacárido, tal como sacarosa, lactosa, maltosa y similares; un oligosacárido, tal como un fructooligosacárido, galactosa-oligosacárido, manano-oligosacárido, etc.; o un polisacárido, tal como almidón, glucógeno, celulosa, arabinoxilano, pectina, goma, quitinas y así sucesivamente.

Se pueden incluir numerosas fuentes de proteínas en la composición alimentaria. La fuente de proteína puede derivar de una planta. Los ejemplos no limitantes de plantas adecuadas que proporcionan una buena fuente de proteínas incluyen amaranto, arrurruz, cebada, trigo sarraceno, colza, mandioca, channa (garbanzo), legumbres, lentejas, altramuz, maíz, mijo, avena, guisante, patata, arroz, centeno, sorgo, soja, girasol, tapioca, triticale, trigo, pastos marinos y algas. Como alternativa, la fuente de proteína puede derivar de un animal. Por ejemplo, la fuente de proteína animal puede derivar de un producto lácteo, huevos de ave, o de los músculos, órganos, tejidos conjuntivos o esqueletos de animales terrestres o acuáticos.

Diversas fuentes de grasa son adecuadas para su uso como fuente nutritiva en la composición alimentaria. La fuente de grasa puede ser de origen vegetal, animal o microbiano. Los ejemplos no limitantes de grasas derivadas de plantas incluyen aceites vegetales (por ejemplo, aceite de canola, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de soja y aceite de girasol) y semillas oleaginosas (por ejemplo, semillas de canola, semillas de algodón, semillas de lino, semillas de linaza, semillas de niger, semillas de sésamo, judías y semillas de girasol), granos de destilería, o algas. Las grasas derivadas de animales incluyen, sin límite, aceites de pescado (por ejemplo, aceite de menhaden, aceite de anchoa, aceite de atún albacore, aceite de hígado de bacalao, aceite de arenque, aceite de trucha de lago, aceite de mackerel, aceite de salmón y aceite de sardina), harina aceite de pescado rico en grasas (por ejemplo, harina del menhaden, harina de anchoa, harina de arenque, harina de abadejo, harina de salmón, harina de atún y harina de pescado blanco) y grasas animales (por ejemplo, grasa de ave, sebo de vacuno, mantequilla, manteca de cerdo y grasa de ballena).

La cantidad de agente nutritivo presente en la composición del alimento puede y variará dependiendo de los ingredientes presentes en la composición del alimento y su uso previsto. En general, la cantidad de fuente nutritiva presente en la composición alimentaria puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 99 % en peso de la composición alimentaria. En varias realizaciones, la cantidad de fuente nutritiva presente en la composición alimentaria puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 %, de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 10% a aproximadamente 30%, o de aproximadamente 30% a aproximadamente 99% en peso de la composición alimentaria. De forma similar, la cantidad de la composición detallada en las secciones (I) o (II) presente en la composición alimentaria puede variar y variará. En ciertas realizaciones, la cantidad de una composición que comprende al menos un agente bioactivo y un polímero que tiene una unidad de repetición de fórmula (I) presente en la composición del alimento puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 %, de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 10% a aproximadamente 30%, o de aproximadamente 30% a aproximadamente 99% en peso de la composición alimentaria.

En algunos aspectos, se proporciona un producto nutritivo mediante el producto de hidrólisis del primer polímero que comprende la fórmula (I). En algunas realizaciones, el polímero no está disponible como agente nutritivo hasta que se hidroliza desde el primer polímero. En una realización preferida, el agente nutritivo es una fuente de metionina, preferentemente ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico

#### **IV. procedimiento para proporcionar un agente bioactivo a un sujeto**

Otro aspecto más de la presente divulgación abarca un procedimiento para proporcionar al menos un agente bioactivo a un sujeto. El procedimiento comprende administrar al sujeto una composición que comprende el agente bioactivo, en el que la composición que comprende el agente bioactivo se detalla anteriormente en las secciones (I) - (III).

La composición que comprende el agente bioactivo puede administrarse por diversas rutas tales como, por ejemplo, oral, transmucosal, tópica o parenteral. Una vía de administración preferida es oral. La composición se puede administrar al sujeto en forma de partículas, como forma de dosificación sólida (por ejemplo, comprimido, pastillas, cápsula, etc.), como líquido, o como polvo o granulado. La composición puede administrarse una vez a la semana, varias veces a la semana, una vez al día, o dos o más veces al día.

La composición puede administrarse a diversos sujetos. Los sujetos adecuados incluyen seres humanos, animales de comida, animales de compañía, animales de investigación, y animales de zoológico. Los ejemplos no limitantes de animales para comer incluyen rumiantes (por ejemplo, ganado vacuno, vacas lecheras, ovejas, cabras y bisontes) y monogástricos (por ejemplo, cerdos y aves, tales como pollos, patos, emúes, gallinas de caza, gansos, gallina/ave de Guinea, codornices, avestruces y pavos). Las especies monogástricas adicionales incluyen especies acuáticas (por ejemplo, peces y crustáceos que incluyen, pero sin limitación, salmón, gambas, carpas, tilapia y marisco). Los animales de compañía adecuados incluyen, pero sin limitación, gatos, perros, caballos, conejos, roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres, jerbos y cobayas), erizos y hurones. Los ejemplos de animales de investigación incluyen roedores, gatos, perros, conejos, cerdos, y primates no humanos. Los ejemplos no limitantes de animales de zoo adecuados incluyen primates no humanos, leones, tigres, osos, elefantes, jirafas y similares. En una realización preferida, el sujeto es un rumiante. Los ejemplos no limitantes de rumiantes incluyen ganado vacuno, ovejas, cabras, bisontes, ciervos, alces, uapitíes, renos, caribúes, camellos, jirafas, antílopes y llamas.

La composición de capa o de matriz que tiene una unidad de repetición que comprende la Fórmula (I) es estable en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro. Por ejemplo, la composición es estable a un nivel de pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5. La composición que comprende el agente bioactivo se hidroliza en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0. La hidrólisis de la composición de capa o de matriz libera el agente bioactivo. Por lo tanto, a niveles de pH inferiores a aproximadamente 5,0, la composición sufre hidrólisis y libera el agente bioactivo.

En realizaciones en las que el sujeto es un rumiante, por lo tanto, la composición permanece estable y no se degrada durante el tiempo en que la composición está en el rumen del sujeto. Al entrar en el abomaso, en el que el pH es bajo, la composición se hidroliza y libera el agente bioactivo. Por consiguiente, las composiciones se pueden usar para la derivación del rumen ya que los bioactivos están protegidos por la composición de matriz no hidrolizada y se liberan selectivamente en el ambiente de pH bajo del abomaso.

#### **V. procedimientos de realización de composiciones de matrices y capas**

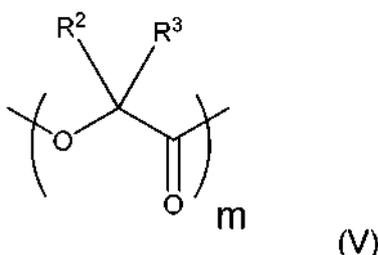
Los procedimientos utilizados para formar las composiciones e matrices y capas pueden variar preferentemente. A modo de ejemplo no limitante, la cantidad deseada del primer polímero, el agente bioactivo y cualquier agente adicional se combinan. En varios aspectos, los agentes se pueden combinar en presencia de agua o un disolvente orgánico, tales como metanol o etanol. La mezcla puede procesarse aún más antes de conformar en una forma de liberación adecuada como se describe en las secciones (I) y (II). En algunas realizaciones, los ingredientes se extruyen, granulan, mezclan o procesan a través de un procedimiento de fusión en caliente antes de la conformación.

Las composiciones de matriz se pueden conformar de cualquier manera, incluso manualmente o mediante una prensa o troquel. Las capas de la invención se pueden formar sobre un núcleo por procedimientos generalmente conocidos en la técnica, tal como por capas de polvo seco, aplicación a mano, o por un procedimiento de lecho fluido, por ejemplo usando un disolvente o fusión en caliente. Información detallada sobre los materiales, equipos y procedimientos para preparar y aplicar una capa externa sobre un núcleo interno se pueden encontrar en Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, eds. Lieberman y col., (New York: Marcel Dekker, Inc., 1989), y en Ansel y col., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 6a Ed. (Media, Pa.: Williams & Wilkins, 1995).

#### VI. Composiciones en capas que comprenden un compuesto de fórmula (V)

Además se describe una composición de capa que comprende el compuesto de fórmula (V). La composición que comprende la capa se forma sobre un núcleo, comprendiendo el núcleo un agente bioactivo y la capa comprende éster de ácido graso no reactivo y un carbonato. El núcleo puede ser cualquier núcleo como se describe en la sección (I) (b). Los agentes bioactivos adecuados incluyen los descritos en la sección (I) (b) (i).

La capa comprende un polímero que tiene una unidad de repetición de fórmula (V):



en la que,

$R^2$  es  $\text{CH}_3$ ;  
 $R^3$  se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;  
 n es cero; y  
 m es un número entero  $> 1$ .

$R^3$  se puede elegir entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido. También se describe  $R^3$  es un alquilo que tiene de 1 a 6 hidrocarbonos o  $R^3$  es hidrógeno.

El peso molecular puede oscilar entre 1.000 Da y aproximadamente 200.000 Da. El peso molecular del polímero es de aproximadamente 2.000, 10.000, 20.000 Da, 30.000 Da, 40.000 Da, 50.000 Da, 60.000 Da, 70.000 Da, 80.000 Da, 90.000 KDa, 100.000 Da, o un número entre cualquiera de estos dos valores. El peso de una mezcla de polímeros se puede caracterizar por su peso molecular promedio en masa. En algunos aspectos, el peso molecular promedio en masa de los polímeros puede ser de al menos 500 KDa. En otros aspectos, el peso molecular promedio en masa varía de aproximadamente 1.000 Da a aproximadamente 100.000 Da.

La fórmula (V) puede tener centros quirales. En particular, el carbono alfa a la unidad carbonilo en el compuesto de fórmula (I), (II) o (III) puede ser quiral y puede tener una configuración *R* o *S*. La configuración en esta posición puede ser *R*. La configuración en esta posición puede ser *S*. En varios aspectos, las unidades de repetición pueden ser todas *R*, todas *S*, todo comprenden una combinación de unidades de repetición *R* y *S*, por ejemplo, la configuración de las unidades de repetición puede alternar en bloque o aleatoriamente.

La capa puede comprender además otro polímero. Los polímeros adecuados pueden incluir polímeros cristalinos y semicristalinos. Ejemplos de polímeros adecuados, sin limitación, son polímeros de acrilatos, aminoacrilatos, alquilensuccinatos, alquilenoxalatos, amidas, aminoácidos, anhídridos, arilatos, carbonatos, celulosa (incluyendo, pero sin limitación, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa y etilcelulosa), caprolactona, cianoacrilatos, dihidropiranos, dioxano, dioxanonas, éter éter cetonas, etilenglicol, fumaratos, hidroxialcanoatos, hidroxil-ésteres, imidas, cetales, lactidas, metacrilatos, metilolefinas, ortoésteres, fosfazinas, estirenos, tereftalatos, carbonato de trimetileno, uretanos, acetatos de vinilo, vinilcetonas, haluros de vinilo, derivados, isómeros y mezclas de los mismos.

Además se describe el agente adicional que es el polímero que comprende la unidad de repetición de fórmula (I) como se describe en la sección (I) (a). Además se describe que el polímero es el compuesto de fórmula (III).

La capa que comprende el polímero que tiene la unidad de repetición de fórmula (V) es estable en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro. Por ejemplo, la capa es estable a un nivel de pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5. La capa se hidroliza en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0. La hidrólisis de la capa libera el agente bioactivo. Por lo tanto, a niveles de pH de aproximadamente un pH de 1,0 a aproximadamente un pH de 4,5, la capa sufre hidrólisis y libera el agente bioactivo.

En caso de que el sujeto sea un rumiante, por lo tanto, la capa permanece estable y no se degrada durante el tiempo en que la composición está en el rumen del sujeto. Al entrar en el abomaso, en el que el pH es bajo, la capa se hidroliza y libera el agente bioactivo. En una realización preferida, el agente bioactivo es ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMTBa).

#### 5 **VII. Composiciones aglomeradas que comprenden un compuesto de fórmula (V)**

En otro aspecto, se describe una composición aglomerada que comprende una pluralidad de agentes bioactivos incorporados en una matriz. La matriz comprende el compuesto de fórmula (V) con los agentes bioactivos. Los agentes bioactivos adecuados para su uso en la matriz se describen en la sección (I) (a) (i). La composición que comprende la Fórmula (V) se describe en la sección (VI).

10 La composición aglomerada comprende una pluralidad de agentes bioactivos incluidos en una matriz. La composición aglomerada formada por la matriz y los agentes bioactivos puede tener cualquier forma, incluyendo varillas, esferoides, cilindros y similares. Además, la composición aglomerada puede conformarse para una necesidad particular. Por ejemplo, la composición aglomerada puede conformarse para tapar los extremos abiertos de un cilindro.

15 el agente bioactivo puede estar presente en la composición aglomerada en un peso de aproximadamente 20 % a 80 % de la composición total. En algunas realizaciones, el agente bioactivo es de aproximadamente el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 % u 80 % de la composición total. Además, se describe que el agente bioactivo está presente en una cantidad de aproximadamente 50 a aproximadamente 66 % de la composición aglomerada total.

20 La composición aglomerada puede comprender además otro polímero. Los polímeros adecuados pueden incluir polímeros cristalinos y semicristalinos. Ejemplos de polímeros adecuados, sin limitación, son polímeros de acrilatos, aminoacrilatos, alquilensuccinatos, alquilenoxalatos, amidas, aminoácidos, anhídridos, arilatos, carbonatos, celulosa (incluyendo, pero sin limitación, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa y etilcelulosa), caprolactona, cianoacrilatos, dihidropiranos, dioxano, dioxanonas, éter éter cetonas, etilenglicol, fumaratos, hidroxialcanoatos, hidroxil-ésteres, imidas, cetales, lactidas, metacrilatos, metilolefinas, ortoésteres, fosfazinas, estirenos, tereftalatos, carbonato de trimetileno, uretanos, acetatos de vinilo, vinilcetonas, haluros de vinilo, derivados, isómeros y mezclas de los mismos.

Además, se describe que el polímero es el compuesto que comprende la unidad de repetición de fórmula (I) como se describe en la sección (1) (a) y que el polímero comprende la unidad de repetición de fórmula (III).

30 La matriz es estable en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro. Por ejemplo, la matriz es estable a un nivel de pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5. La matriz se hidroliza en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0. La hidrólisis de la matriz libera el agente bioactivo.

35 En caso de que el sujeto sea un rumiante, por lo tanto, la composición aglomerada permanece estable y no se degrada durante el tiempo en que la composición está en el rumen del sujeto. Al entrar en el abomaso, en el que el pH es bajo, la matriz se hidroliza y libera el agente bioactivo. Además se describe que el agente bioactivo es el ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico (HMTBa).

#### **VIII. Composiciones de capas que comprenden una cera no reactiva y un carbonato**

40 En otro aspecto, se describe una composición que comprende una capa formada sobre un núcleo, comprendiendo el núcleo un agente bioactivo y comprendiendo la capa éster de ácido graso no reactivo y un carbonato. El núcleo puede ser cualquier núcleo como se describe en la sección (I) (b). Los agentes bioactivos adecuados incluyen los descritos en la sección (I) (b) (i).

45 La composición de la capa puede ser una mezcla de una cera no reactiva y un carbonato. Una cera no reactiva es una cera que no interacciona apreciablemente con un carbonato y no forma carboxilato o sales de ácidos grasos. Además, se describe que la grasa no reactiva no tiene un grupo ácido carboxílico libre. La cera no reactiva se puede elegir entre los ésteres de ácidos grasos, incluidos ésteres de glicerol ácidos grasos, incluidos monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. Además, se describe que la cera no reactiva es estearina y la cera es soja hidrogenada o aceite vegetal o una parafina, respectivamente.

50 Los carbonatos pueden seleccionarse entre carbonato de cobre, carbonato de cinc, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato potásico, carbonato sódico y combinaciones de los mismos. La cantidad de carbonato en la capa puede variar y variará. La cantidad de carbonato puede variar de aproximadamente 1 % a aproximadamente 60 % o, más preferentemente, de aproximadamente 15 % a aproximadamente 50 % en peso total de la capa. También se describe que la cera no reactiva es estearina y el carbonato es carbonato de cinc.

55 Sin estar ligado a teoría alguna, se cree que la cera no reactiva conserva la solubilidad del carbonato, por lo que el carbonato puede disolverse de la matriz de cera en algunas realizaciones y formar poros en la estructura. La

5 presencia de una cera no reactiva también preserva el carbonato para que pueda reaccionar con un ácido externo a la capa para producir CO<sub>2</sub>, lo que favorece una mayor fractura de la capa. El resultado es una composición porosa. En algunas realizaciones, el carbonato está presente en la cera en una relación peso a peso de aproximadamente 20 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % o mayor. El carbonato puede comprender de aproximadamente 20 % a aproximadamente 50 % del peso total de la capa.

10 La capa puede comprender adicionalmente un bicarbonato. Los bicarbonatos adecuados incluyen carbonatos de metales alcalinos, incluidos bicarbonato sódico, carbonato potásico, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de litio y similares. Cuando hay bicarbonato presente, puede estar presente en una proporción de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % de la capa. Además, se describe que el bicarbonato de potasio es aproximadamente el 2 % del peso total de la capa.

15 La capa puede comprender adicionalmente un disgregante o un superdisgregante. Los disgregantes adecuados incluyen, sin límite, almidones (tal como almidón de maíz, almidón de patata y similares), almidones pregelatinizados y modificados de los mismos, celulosa microcristalina, alginatos, almidón glicolato sódico y gomas (tales como agar, guar, algarroba, karaya, pectina y tragacanto). Los ejemplos no limitantes de superdisgregantes adecuados incluyen crospovidona, carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa sódica, glicolato de almidón de sodio, hidroxipropil celulosa poco sustituida y bicarbonato sódico. La composición puede comprender carboximetilcelulosa sódica como superdisgregante. El disgregante, cuando está presente, se puede proporcionar en un intervalo de aproximadamente 2 % a aproximadamente 20 % del peso total de la capa.

20 La composición podría comprender además una cera reactiva o una mezcla de ceras reactivas y no reactivas tales como aceite vegetal, aceite de semilla de algodón o aceite de canola.

La capa que comprende la cera no reactiva y el carbonato es estable en una solución acuosa a un pH aproximadamente neutro. Por ejemplo, la capa es estable a un nivel de pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,5. La capa se hidroliza en una solución acuosa que tiene un pH inferior a aproximadamente pH 5,0. La hidrólisis de la capa facilita la liberación del agente bioactivo.

25 En caso de que el sujeto sea un rumiante, por lo tanto, la capa permanece estable y no se degrada durante el tiempo en que la composición está en el rumen del sujeto. Al entrar en el abomaso, en el que el pH es bajo, la capa se hidroliza y libera el agente bioactivo.

30 Además de una composición de capa, el carbonato y la cera se pueden formar en una composición aglomerada como se describe en la sección (II). El carbonato y la cera descritos en el presente documento pueden comprender la matriz en la que se incorpora una pluralidad de agentes bioactivos.

### **Definiciones**

35 Cuando se introducen elementos de las realizaciones descritos en el presente documento, los artículos "un", "uno/a", "el/la" y "dicho/a" pretenden significar que hay uno o más de los elementos. Las expresiones "que comprende", "que incluye" y "que tiene" pretenden ser inclusivas y significan que puede haber elementos adicionales distintos a los elementos enumerados.

40 Los compuestos descritos en el presente documento tienen centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo sustituido asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Se pretenden todas las formas quirales, diaestereoméricas, racémicas y todas las formas geométricas isoméricas de una estructura, a menos que se indique específicamente la estereoquímica específica o la forma isomérica.

El término "acilo," como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo, representa el resto formado por la eliminación del grupo hidroxilo del grupo COOH de un ácido orgánico carboxílico, por ejemplo, RC(O)-, en la que R es R<sup>1</sup>, R<sup>1</sup>-O-, R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>N- o R<sup>1</sup>S-, R<sup>1</sup> es hidrocarbilo, hidrocarbilo heterosustituido o heterociclo, y R<sup>2</sup> es hidrógeno, hidrocarbilo o hidrocarbilo sustituido.

45 El término "aciloxi," como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo, representa un grupo acilo como se ha descrito anteriormente unido a través de un enlace de oxígeno (O), por ejemplo, RC (O) O- en la que R es como se define en conexión con el término "acilo".

50 El término "alilo," como se utiliza en el presente documento se refiere a un compuesto que contiene el grupo alilo simple (CH<sub>2</sub>=CH-CH<sub>2</sub>-), pero también a compuestos que contienen grupos alilo o grupos alilo sustituidos que forman parte de un sistema de anillo.

El término "alquilo" como se utiliza en el presente documento describe grupos que son preferentemente alquilo inferior que contiene de uno a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada o cíclicos e incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, hexilo y similares.

El término "alqueniilo" como se utiliza en el presente documento describe grupos que son preferentemente alqueniilo inferior que contiene de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada o cíclicos e incluyen etenilo, propeniilo, isopropeniilo, buteniilo, isobuteniilo, hexeniilo y similares.

- 5 El término "alcóxido" o "alcoxi", como se usa en el presente documento, es la base conjugada de un alcohol. El alcohol puede ser de cadena lineal, ramificada, cíclico e incluye compuestos ariloxi.

El término "alquiniil", como se usa en el presente documento, describe grupos que son preferentemente alquiniil inferior que contienen de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada e incluyen etiniilo, propiniilo, butiniilo, isobutiniilo, hexiniilo y similares.

- 10 El término "aromático" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo representa opcionalmente anillo plano conjugado homocíclico o heterocíclico o un sistema de anillo que comprende electrones deslocalizados. Estos grupos aromáticos son, preferentemente, grupos monocíclicos (por ejemplo, furano o benceno), bicíclicos o tricíclicos que contienen de 5 a 14 átomos en la parte del anillo. El término "aromático" abarca los grupos "arilo" definidos a continuación.

- 15 Los términos "arilo" o "Ar" tal como se usan en el presente documento solos o como parte de otro grupo denotan los grupos aromáticos homocíclicos opcionalmente sustituidos, preferentemente grupos monocíclicos o bicíclicos que contienen de 6 a 10 carbonos en la parte del anillo, tales como fenilo, bifenilo, naftilo, fenilo sustituido, bifenilo sustituido o naftilo sustituido.

- 20 La expresión "polímero cristalino", como se usa en el presente documento, se refiere a un polímero que tiene la característica o el empaquetamiento tridimensional regular.

El término "enriquecimiento" significa una cantidad por encima de la distribución estadística si todos los centros quirales tienen la misma probabilidad de ser alfa o beta.

- 25 Los términos "carbociclo" o "carbocíclico" como se usan en el presente documento solos o como parte de otro grupo denotan un anillo aromático o no aromático opcionalmente sustituido o un sistema de anillo en el que todos los átomos del anillo son carbonos, con, preferentemente, 5 o 6 átomos de carbono en cada anillo. Los sustituyentes de ejemplo incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueniilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tio.

- 30 Los términos "epoxi" o "epóxido" como se usa en el presente documento significan un éter cíclico. La estructura del anillo generalmente comprende de 2 a 5 átomos de carbono en el anillo.

Los términos "halógeno" o "halo" como se usan en el presente documento solos o como parte de otro grupo se refieren a cloro, bromo, flúor y yodo.

El término "heteroátomo" se refiere a átomos distintos de carbono o hidrógeno.

- 35 El término "heteroaromático" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo representa opcionalmente los grupos aromáticos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo, y, preferentemente, 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heteroaromático preferentemente tiene 1 o 2 átomos de oxígeno y/o de 1 a 4 átomos de nitrógeno en el anillo, y está unido al resto de la molécula a través de un carbono. Los grupos de ejemplo incluyen furilo, benzofurilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, benzoxazolilo, benzoxadiazolilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, indolizino, benzoimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, tetrazolopiridazinilo, carbazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, imidazopiridilo y similares. Los sustituyentes de ejemplo incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueniilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tio.

- 45 Los términos "heterociclo" o "heterocíclico" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo representa grupos aromáticos o no aromáticos monocíclicos o bicíclicos, completamente saturados o insaturados, opcionalmente sustituidos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo, y, preferentemente, 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heterociclo tiene, preferentemente, 1 o 2 átomos de oxígeno y/o de 1 a 4 átomos de nitrógeno en el anillo, y está unido al resto de la molécula a través de un carbono o heteroátomo. Los grupos heterociclo de ejemplo incluyen heteroaromáticos como se ha descrito anteriormente. Los sustituyentes de ejemplo incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueniilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tio.

- 55 Los términos "hidrocarbano" e "hidrocarbilo", como se usan en el presente documento, describen compuestos orgánicos o radicales que consisten exclusivamente en los elementos carbono e hidrógeno. Estos restos incluyen

restos alquilo, alqueniilo, alquinilo y arilo. Estos restos también incluyen restos alquilo, alqueniilo, alquinilo y arilo sustituidos con otros grupos hidrocarbano alifáticos o cíclicos, tales como alcarilo, alquenarilo y alquinarilo. A menos que se indique otra cosa, estos restos comprenden, preferentemente, de 1 a 20 átomos de carbono.

5 El término "polímero", como se usa en el presente documento, significa una molécula compuesta de unidades de repetición. El polímero puede referirse a un homopolímero, *es decir*, una molécula que comprende una sola unidad de repetición, o un copolímero, *es decir*, que contiene más de una unidad de repetición. Los copolímeros pueden ser aleatorios o en bloque. El polímero se usa de forma intercambiable con oligómero.

10 La expresión "grupo protector" como se usa en el presente documento representa un grupo capaz de proteger un grupo en particular, en el que el grupo protector puede eliminarse, después de la reacción para la que se emplea la protección, sin perturbar el resto de la molécula. Diversos grupos protectores y la síntesis de los mismos se pueden encontrar en "Protective Groups in Organic Synthesis" de T.W. Greene y P.G.M. Wuts, John Wiley & Sons, 1999.

La expresión "polímero semicristalino", como se usa en el presente documento, se refiere a regiones poliméricas que son "cristalinas" como se ha descrito anteriormente, y regiones amorfas, que no tienen empaquetamiento regular en la estructura tridimensional.

15 Los restos de "hidrocarbilo sustituido" descritos en el presente documento son restos de hidrocarbilo que están sustituidos con al menos un átomo distinto de carbono, incluyendo restos en los que un átomo de la cadena de carbono está sustituido con un heteroátomo tal como nitrógeno, oxígeno, silicio, fósforo, boro, o un átomo de halógeno, y restos en los que la cadena de carbono comprende sustituyentes adicionales. Estos sustituyentes incluyen restos alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueniilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tio.

20 El término "cera" como se usa en el presente documento puede identificar un aceite, ácido graso o éster de ácido graso sin limitación. El término "cera", como se usa en el presente documento se refiere tanto a composiciones sólidas como a temperatura ambiente y aquellas que son líquidas a temperatura ambiente.

25 Habiendo descrito la invención con detalle, será evidente que se pueden realizar modificaciones y variaciones sin apartarse del alcance de la invención definido en las reivindicaciones adjuntas.

### **Ejemplos**

Los siguientes ejemplos se incluyen para ilustrar, Pero no para limitar las composiciones y procedimientos reivindicados para la liberación de agentes bioactivos.

#### **Ejemplo 1: Preparación de partículas recubiertas y liberación in vitro**

30 Se recubrió una fuente de metionina para protegerla de la degradación causada por bacterias, pero permitir la absorción completa en el abomaso. Para ello, las partículas de la sal de calcio HMTBa (MHA®; Novus International) se recubrieron con una primera capa que comprende el oligómero HMTBa y una segunda capa que comprende un material hidrófobo.

35 La primera capa se aplicó manualmente utilizando un mezclador (material limpio) o mediante un procedimiento de recubrimiento en lecho fluido (es decir, recubrimiento Wurster). Para el procedimiento manual, el oligómero HMTBa (O) se mezcló con un polímero, tal como etilcelulosa (EC), y se mezcló con la fuente de metionina. Para el procedimiento Wurster, el oligómero de HMTBa se mezcló con el polímero o se disolvió en un agente orgánico polar y se pulverizó sobre la fuente de metionina. En cualquier procedimiento, un agente de flujo, tal como talco (T), estearato de calcio (CaSt), o CaCO<sub>3</sub> se puede añadir para reducir la adherencia. Normalmente, el oligómero HMTBa tenía un bajo contenido de monómero (por ejemplo, 4 % de monómero). En la Tabla 1 se detallan los parámetros de la primera capa de cada prototipo de partícula.

**Tabla 1.** Composición de las partículas recubiertas del prototipo - Primera capa\*

N.º de prototipo	Oligómero	Etilcelulosa	Talco	Estearato de calcio	CaCO <sub>3</sub>	Nivel de la capa
1	17 %	-	11 %	-	-	manual
2	30 %	70 %	-	-	-	22 %
3	30 %	70 %	-	-	-	5 %
4	30 %	70 %	-	-	-	10 %
5	12,3 %	-	-	-	17,5 %	manual

(continuación)

N.º de prototipo	Oligómero	Etilcelulosa	Talco	Estearato de calcio	CaCO <sub>3</sub>	Nivel de la capa
6	12,3	-	-	11 %	-	Manual
7	12,3	-	-	11 %	-	manual

\* componentes presentados como EL % del total

La segunda capa se aplicó a las partículas recubiertas de oligómero a través de un procedimiento de fundido en caliente o de recubrimiento en lecho fluido. El material hidrófobo de la segunda capa comprendía ácido esteárico (SA) y aceite de soja hidrogenado (por ejemplo, Dritex S (DS)). En algunos casos, la segunda capa también contenía el oligómero HMTBa, EC y/o CaCO<sub>3</sub>. En la Tabla 2 se detallan los parámetros de la segunda capa de cada prototipo de partícula.

5

N.º de prototipo	Ácido esteárico*	Dritex S*	Oligómero*	EC*	CaCO <sub>3</sub>	Nivel de recubrimiento (%)	Carga total de HMTBa (núcleo y capa)
1	1	1	-	-	-	25	57 %
2	4	4	1	1	-	20	54 %
3	1	2	-	-	-	25	61 %
4	1	2	-	-	-	25	59 %
5	1	2	-	-	10 % de la capa	25	50 %
6	1	2	-	-	10 % de la capa	10	68 %
7	1	2	-	-	10 % de la capa	25	55 %

\* componentes presentados como una proporción

La liberación *in vitro* de HMTBa se midió a diferentes niveles de pH después de que las partículas recubiertas se incubaron en una solución tampón de pH 6,5 durante 16 horas (para imitar el tiempo de tránsito ruminal típico). Para los estudios de liberación, las partículas recubiertas se añadieron a una solución tampón de pH 2,5 o pH 6,5. Las soluciones se agitaron durante 24 horas. Se retiraron muestras a las 0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas y se analizaron mediante HPLC.

10

**Prototipo 1.** Las partículas de MHA® se recubrieron manualmente con una primera capa que comprende oligómero HMTBa (17 % del total) y talco (11 % del total). Las partículas recubiertas de oligómero se recubrieron en lecho fluido con una mezcla 1:1 de ácido esteárico y aceite de soja hidrogenado a un nivel de recubrimiento del 25 %. La carga final del oligómero HMTBa y HMTBa fue del 57 %. El perfil de liberación diferencial se muestra en la **figura 1A**. Hubo sustancialmente más liberación a pH 2,5 que a pH 6,5. A las 24 horas, aproximadamente el 75 % del HMTBa total se liberó a pH 2,5, pero menos del 20 % de HMTBa se liberó a pH 6,5.

15

**Prototipo 2.** Las partículas de MHA® se recubrieron con una primera capa que comprende una película delgada de etil celulosa y oligómero. La película delgada se aplicó por recubrimiento en lecho fluido; es decir, 30 % de oligómero (6,7 % de monómero) y 70 % de EC se disolvieron en 1:1 de acetona:etanol y se pulverizó sobre las partículas de MHA®. La etapa de recubrimiento comprendió la pulverización de 12,2 % de sólidos (es decir, O + EC) a un nivel de recubrimiento de 22 %. Para la segunda capa, se usó recubrimiento de fusión en caliente de ácido esteárico, aceite de soja hidrogenado, oligómero HMTBa y etilcelulosa (4:4:1:1) para recubrir las partículas recubiertas de oligómero hasta un nivel de recubrimiento de 20 % de cera. La carga final de HMTBa (núcleo y capa) fue del 54 %. El perfil de liberación se presenta en la **figura 1B**; las partículas mostraron liberación dependiente del pH (es decir, liberación a pH 2,5, pero no a pH 6,5). La cantidad liberada fue baja debido a que estas partículas tenían un alto grado de protección a pH bajo.

20

25

**Prototipos 3 y 4.** Las partículas de MHA® se recubrieron con una primera capa que comprendía una película delgada de oligómero y etilcelulosa. El recubrimiento se aplicó mediante recubrimiento en lecho fluido; es decir, 30 % de O y 70 % de EC se disolvieron en 1:1 acetona: etanol y las partículas se recubrieron a un nivel de 5 % para el prototipo 3 o un nivel de recubrimiento del 10 % para el prototipo 4. Cada población de partículas recubiertas de oligómero se recubrió después con una segunda capa que comprendía una mezcla 2:1 de aceite de soja hidrogenado y ácido esteárico a un nivel de recubrimiento del 25 %. La carga final de HMTBa (núcleo y recubrimiento) fue del 61 % y 59 % para los prototipos 3 y 4, respectivamente. Como se muestra en la **figura 1C**, el prototipo 3 tuvo una mejor liberación a pH 2,5 que el prototipo 4 (es decir, 85 % frente a aproximadamente 45 %, respectivamente). Ninguno de los prototipos tuvo una liberación significativa a pH 6,5.

**Prototipo 5.** Las partículas de Core MHA® se recubrieron manualmente con una primera capa que comprendía oligómero (12,3 % del total) y CaCO<sub>3</sub> (17,5 % del total). Para la segunda capa, las partículas recubiertas de oligómero se recubrieron en lecho fluido con una mezcla 2:1 de y aceite de soja hidrogenado y ácido esteárico que contiene CaCO<sub>3</sub> (10 % de recubrimiento) a un nivel de recubrimiento del 15 %. La carga total de HMTBa (núcleo y capa) fue del 50 %. Como se muestra en la **figura 1D**, la liberación fue mayor a pH 2,5 que a pH 6,5 (por ejemplo, 85 % frente a 15 % a las 24 horas, respectivamente). Además, hubo una velocidad de liberación alta a pH 2,5 durante las primeras 6 horas, que luego disminuyó a una velocidad menor.

**Prototipos 6 y 7.** Las partículas de MHA® se recubrieron manualmente con una primera capa que comprendía oligómero HMTBa (12,3 % del total) y 11 % de estearato de Ca (11 % del total). Para la segunda capa, las partículas recubiertas con oligómero se recubrieron en lecho fluido con una mezcla 2:1 de aceite de soja hidrogenado y ácido esteárico que contenía CaCO<sub>3</sub>(10 % de recubrimiento) a un nivel del 10 % para el prototipo 6 o un nivel de recubrimiento del 25 % para el prototipo 7. La carga total de HMTBa (núcleo y capa) para cada uno de estos fue de 68 % y 55 %, respectivamente. Los prototipos 6 y 7 tenían perfiles de liberación similares a pH 2,5 (y ambos tenían una liberación muy limitada a pH 6,5) (véase la **Figura 1E**).

### **Ejemplo 2: Degradabilidad *in situ* de partículas recubiertas**

La estabilidad del rumen es un requisito necesario para que los productos proporcionen metionina a los tejidos para la síntesis de proteínas. Los valores de escape de > 90 % se consideran suficientes para una fuente de metionina protegida en el rumen para una actividad de metionina sustancial cuando la fuente de metionina está protegida por medios físicos.

Se evaluaron las características de degradabilidad *in situ* de las partículas de MHA® recubiertas del prototipo siete preparadas en el Ejemplo 1. Se utilizaron novillos con el rumen canulado para evaluar la velocidad y el grado de degradación del rumen de los prototipos, así como una formulación de referencia (es decir, gránulos de metionina recubiertos con un polímero de tipo amino).

Tres novillos con el rumen canulado [PC = 606 ± 4 kg] fueron alimentados con una dieta común basada en heno de alfalfa picada y maíz molido para el consumo *ad libitum* con una asignación adicional de paja de trigo para los 7 días del experimento. Los novillos se pesaron el día 2 y 5 del experimento y el alimento ofrecido y rechazado se registró diariamente. La ingesta de materia seca realizada para el período experimental fue de 9,53 kg o 1,57 % del peso corporal. Ocho tratamientos (es decir, prototipos 1-7 y control de formulación de referencia) se incubaron por triplicado en cada uno de los 3 novillos durante 48, 24, 6 y 0 (15 minutos en el rumen para estimar la solubilidad) horas. Se pesaron previamente las bolsas *in situ* (tamaño de poro ~50 µm; 5 cmx10 cm) y se añadió 1 g de muestra a cada bolsa y se sellaron con una brida que produjo aproximadamente el ingrediente recomendado de 10 mg/cm<sup>2</sup> de superficie de la bolsa. Las bolsas se suspendieron en una bolsa de malla de lavandería, insertadas en orden inverso, se retiraron simultáneamente, se lavaron a mano en agua fría hasta que el agua de lavado fue transparente y se secaron a 55 °C. Las bolsas secas con tratamiento se pesaron y se calculó el % de materia seca perdida.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento mixto de SAS en el que se incluyeron las fuentes de variación asociadas con el novillo, el tiempo de incubación, el tratamiento y la interacción entre el tratamiento y el tiempo. Las diferencias consideradas significativas fueron p < 0,05.

Los perfiles de degradación para las partículas de prototipo MHA® protegidas y la formulación de referencia se muestran en la **figura 2A**. Todos los tratamientos probados tenían > 90 % de materia seca restante después de 48 horas en el rumen. Los productos diferían en el grado en que estaban protegidos, es decir, algunos de los prototipos tenían velocidades de liberación relativamente constantes (por ejemplo, prototipo n.º 6) y algunos de los prototipos tenían niveles extremadamente bajos de liberación dentro del rumen (por ejemplo, los prototipos n.º 4 y n.º 7). El tiempo de retención típico dentro del rumen es entre 12 y 20 horas para la fase de partículas de fracción digerida en el rumen. La figura 2B muestra el porcentaje de materia seca que queda para los diferentes prototipos y la formulación de referencia después de la incubación en el rumen durante 24 horas. El tiempo de retención dentro del rumen está determinado por una serie de factores, que incluyen: densidad específica, tamaño de partícula, susceptibilidad a la degradación y la ingesta de la vaca. Los resultados de este experimento son pertinentes para la susceptibilidad a la degradación y, por esta medida, todos los prototipos se consideran bastante resistentes a la degradación del rumen. El orden de resistencia se presenta en la Tabla 3 según los datos de 24 horas, donde 1 es el más resistente).

**Tabla 3.** Resistencia *in situ* a la degradación.

Muestra	1ª capa	2ª capa	Rango
Prototipo 1	O/T - manual	SA/DS - 25 %	8
Prototipo 2	O/EC - película delgada 22 %	SA/DA/O/EC - 30 %	6
Prototipo 3	O/EC - película delgada 5 %	SA/DS - 25 %	3
Prototipo 4	O/EC - película delgada 10 %	SA/DS - 25 %	2
Prototipo 5	O/CaCO <sub>3</sub> - manual	SA/DS/CaCO <sub>3</sub> - 25 %	5
Prototipo 6	O/CaSt - manual	SA/DS/CaCO <sub>3</sub> - 10 %	7
Prototipo 7	O/CaSt - manual	SA/DS/CaCO <sub>3</sub> - 25 %	1
Formulación de referencia	Recubrimiento polimérico de tipo amino		4

**Ejemplo 3: Preparación de composición aglomerada**

El siguiente ejemplo se diseñó para determinar si las composiciones de matriz aglomerada proporcionarían una liberación dependiente del pH. El polvo de MHA® se granuló con etilcelulosa y oligómero HMTBa a 30 % de oligómero usando 15 % de sólidos. El polvo se recubrió al 23 % a una carga total de HMTBa del 50 %. La mezcla granulada se recubrió en lecho fluido con una mezcla 1:1 de aceite de soja hidrogenado y ácido esteárico hasta un nivel de recubrimiento del 25 %. La liberación de HMTBa se midió a pH 2,5 o pH 6,5 después de 16 horas a pH 6,5, esencialmente como se ha detallado anteriormente en el Ejemplo 1. Como se muestra en la **figura 3**, la composición aglomerada mostró liberación en tampón a pH 2,5.

**Ejemplo 4: Partículas recubiertas que contienen carbonato metálico**

Para determinar si un recubrimiento hidrófobo que comprende un carbonato metálico proporcionaría una liberación dependiente del pH, se prepararon las siguientes partículas recubiertas. Se prepararon partículas de "Mezclador de cera de O/Zn" con recubrimiento en mezclador de partículas de MHA® con el oligómero HMTBa (es decir, 7,5 % o 12,4 % del oligómero, con una carga total de HMTBa de 60-70 %) y luego se recubrieron las partículas con una mezcla 1:1 de ácido esteárico y aceite de soja hidrogenado que contenía 30-40 % de carbonato de Zn o Ca y 2-10 % de croscarmelosa a un nivel de recubrimiento de 15, 20, o 25 %. Se prepararon partículas de "Mezclador de cera de O/Oligo" con recubrimiento en mezclador de partículas de MHA® con el oligómero HMTBa (es decir, 7,5 % o 12,4 % del oligómero, con una carga total de HMTBa de 60-70 %) y luego se recubrieron con una mezcla 1:1 de ácido esteárico y aceite de soja hidrogenado que contenía 10-60 % de oligómero (y opcionalmente metilcelulosa o croscarmelosa) a un nivel de recubrimiento de 15, 20, o 25 %. Las partículas de "cera de MHA®/Zn" se prepararon mediante el recubrimiento de partículas MHA® con una mezcla 1:1 de ácido esteárico y aceite de soja hidrogenado que contiene 30-40 % de carbonato de Zn o Ca y 2-10 % de croscarmelosa a un nivel de recubrimiento de 15, 20, o 25 %.

Para medir la liberación *in vitro*, las muestras se incubaron a pH 6,5 desde el momento 0 hasta la hora 16 (es decir, fase del rumen), a pH 2,5 desde la hora 16 hasta la hora 18 (es decir, fase de abomaso) y a pH 6,5 desde la hora 18 hasta la hora 40 (es decir, fase del intestino). Se extrajeron alícuotas de cada muestra en momentos predeterminados y se analizaron por HPLC. La liberación del aminoácido de todas las preparaciones aumentó espectacularmente cuando se redujo el pH (véase la **FIG. 4**). Algunas preparaciones (por ejemplo, cera Mezclador O/Zn y cera Mezclador O/Oligo) mostraron velocidades de liberación lentas a pH 6,5.

**Ejemplo 5: Partículas recubiertas que comprenden una cubierta de cera**

Las partículas de MHA® se recubrieron con oligómero (como se detalla anteriormente en los Ejemplos 1 y 3) y se sobrecubrieron con cualquiera de dos recubrimientos de "cera". Los dos recubrimientos fueron una capa de "cera de Zn" o una capa de "cera de oligómero", que se detallan a continuación en Tablas 4 y 5, respectivamente. Los recubrimientos se aplicaron mediante recubrimiento en lecho fluido para recubrir niveles de 15-25 %. La cera del recubrimiento de cera de Zn comprendió estearina (es decir, un éster de glicerol y ácido esteárico; la estearina puede obtenerse del aceite de palma y de otros aceites), un aceites vegetal hidrogenado (por ejemplo, soja, colza, semilla de algodón, maíz, etc.), o combinaciones de los mismos. La cera de la cera de oligómero recubierta comprendía estearina, aceite vegetal hidrogenado, ácido esteárico o combinaciones de los mismos.

**Tabla 4.** Formulaciones de cera de Zn.

N.º de prototipo	Estearina	Aceite vegetal hidrogenado	Carbonato de Zn	Croscarmelosa	Bicarbonato
8	20 g	20 g	40 g	10 g	0
9	53 g	0	40 g	5 g	2 g
10	0	55 g	35 g	10 g	0
11	32 g	32 g	31 g	5 g	0

**Tabla 5.** Formulaciones de cera oligomérica.

Prototipo	Estearina	Aceite vegetal hidrogenado	Ácido esteárico	Etilcelulosa	Oligómero
12	18 g	18 g	10 g	2 g	35 g
13	0	15 g	15 g	5 g	30 g

**Ejemplo 6: Liberación *in situ* simulada de partículas recubiertas**

5 Se preparó una serie de partículas de MHA® recubiertas en que el recubrimiento comprendía el oligómero HMTBa, ácido esteárico, poli-2-vinilpiridina-co-estireno (PVPS; PC ~ 130-220K), y, opcionalmente, etilcelulosa y el nivel de recubrimiento varía de 10-15 %. Tabla 6 presenta las diferentes formulaciones.

**Tabla 6.** Nivel de recubrimiento y composición de partículas recubiertas

N.º de formulación	Nivel de recubrimiento (%)	Ácido esteárico*	PVPS*	Etilcelulosa*	Oligómero
70418	15	77,35	14,83	0	4,74
70430	10	84,49	7,14	0	4,74
70431	15	84,49	7,14	0	4,74
70432	10	77,35	14,83	3,07	4,74
70433	12	77,35	14,83	3,07	4,74
70434	15	81,2	15,56	0	0
70435	10	84,49	7,14	3,07	4,74
70437	12	84,49	7,14	0	4,74
70438	12	77,35	14,83	0	4,74
70439	10	77,35	14,83	0	4,74
40740	10	84,49	7,14	0	4,74

\*componente presentado como % de recubrimiento

10 La cantidad de HMTBa liberado de algunas de las formulaciones enumeradas en la Tabla 6 se probó mediante una prueba de bolsa *in vitro* gravimétrica. Esta prueba es una simulación de la prueba de la bolsa del rumen descrita anteriormente en el Ejemplo 2. Para la prueba de bolsa *in vitro*, las partículas recubiertas se colocaron en una bolsa de nylon que luego se selló con una cremallera. Se prepararon cuatro bolsas separadas para cada formulación a probar. Se midió el peso inicial de cada bolsa que contenía partículas recubiertas. Cada bolsa se colocó en un recipiente con un fluido de rumen simulado que se tamponó a un nivel de pH diferente. Los recipientes (con las bolsas) se cerraron y se colocaron dentro de un horno incubador a 40 °C, con agitación constante, durante un periodo de 18 horas.

Después de 18 horas, las muestras se retiraron de cada recipiente y la cantidad de HMTBa se midió usando un procedimiento de HPLC. La figura 5 muestra el porcentaje de HMTBa liberado a los distintos niveles de pH durante este período de 18 horas. Todas las formulaciones mostraron una liberación limitada de HMTBa a pH 6,5 y 5,5, pero buena liberación a pH 2,5.

#### 5 **Ejemplo 7: Curso de tiempo de liberación *in vitro***

La liberación de HMTBa a partir de las formulaciones enumeradas en la Tabla 6 se examinó a pH 2,5. Las formulaciones se colocaron en una solución de pH 2,5, se incubaron a 40 °C (es decir, temperatura corporal del rumiante) y se retiraron muestras a intervalos regulares durante un período de tiempo de 3 horas. La cantidad de HMTBa se determinó mediante un ensayo de HPLC. La figura 6 presenta la cinética de liberación. Todas las formulaciones tuvieron una velocidad de liberación baja durante los primeros 15 minutos y luego aumentaron las velocidades de liberación.

#### **Ejemplo 8: Resistencia física de las partículas recubiertas**

La capacidad de las partículas recubiertas para soportar la masticación o las manipulaciones mecánicas se probó mediante una prueba de impacto. Para ello, se montó un tubo de acero al carbono de 24" con tapas laterales y un peso del cilindro de acero inoxidable de 95 gramos con un diámetro exterior que es aproximadamente el mismo que el diámetro interior de la tubería. El fondo del tubo se tapó, se colocó una muestra de la formulación de prueba en el fondo del tubo tapado, el peso se puso encima de la formulación y se tapó el extremo superior del tubo. El tubo se invirtió para que el peso regresara a lo que era la parte superior de la tubería. Luego, se devolvió el tubo a la posición inicial y el peso cayó al fondo y golpeó la formulación de prueba. Esto se contó como 1 impacto. El procedimiento se repitió un cierto número de veces (o impactos de peso). Después de completado el número predeterminado de impactos de peso, se retiró la tapa del extremo y se recogió la formulación de prueba, incluyendo todas los trozos finos o polvo. La formulación de prueba recuperada se mezcló con una solución de pH 5,5 y se incubó durante 2 horas a 40 °C. Las muestras se retiraron y analizaron por HPLC para determinar la cantidad de agente activo que se liberó en la solución.

Las composiciones de las partículas recubiertas que se probaron se detallan en la Tabla 7. La formulación de referencia fue gránulos de metionina recubiertos con un polímero de tipo amino.

Tabla 7. Formulaciones de partículas recubiertas

N.º de formulación	Nivel de recubrimiento (%)	Ácido esteárico*	PVPS*	Etilcelulosa*	Oligómero*
75903	15,5	77,35	14,83	3,07	4,74
75904	17	77,35	14,83	3,07	4,74
75905	15,25	77,35	14,83	3,07	4,74

\*presentado como el % de recubrimiento

Los resultados se presenta en la **FIG. 7**. Las tres formulaciones de prueba retuvieron más del 50 % de los activos (es decir, HMTBa) incluso después de 25 impactos de peso, mientras que la formulación de referencia perdió aproximadamente el 50 % de los activos (es decir, D, L-metionina) después de 10 impactos de peso.

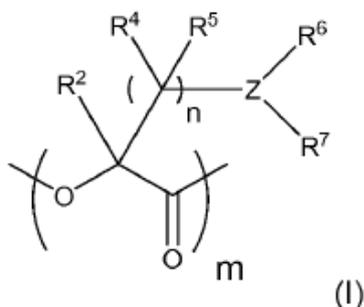
#### 30 **Ejemplo 9: Liberación comparativa simulada *in situ* y cinética de la liberación**

Las tres formulaciones de prueba descritas anteriormente en el Ejemplo 8 y la formulación de referencia se sometieron a la prueba de bolsa *in vitro* esencialmente como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 6. La figura 8 muestra que todas las formulaciones mostraron liberación a pH 2,5.

La cinética de liberación se examinó en las tres formulaciones de prueba descritas anteriormente en el Ejemplo 8 y la formulación de referencia esencialmente como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 7. Los resultados se muestran en la figura 9. Las tres formulaciones de prueba tuvieron mayores velocidades de liberación en los puntos de tiempo anteriores (es decir, 30 min, 1 h y 2 h) que la formulación de referencia.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una capa formada sobre un núcleo, comprendiendo el núcleo un agente bioactivo, comprendiendo la capa un primer polímero que consiste en una unidad de repetición de la fórmula (I) y al menos un agente adicional, teniendo la unidad de repetición de fórmula (I) la siguiente estructura:



5

en la que,

$R^2$ ,  $R^4$ , y  $R^5$  se selecciona cada uno independientemente entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

$R^6$  se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;

$R^7$  no está presente;

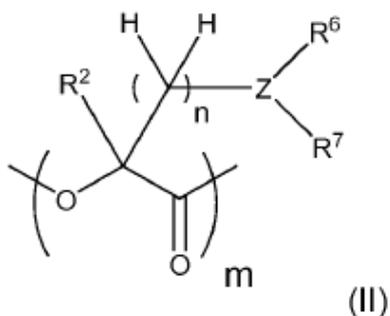
10 Z se elige entre azufre, sulfona, sulfóxido y selenio;

n es un número entero  $\geq 1$ ; y

m es un número entero  $> 1$ ; y

en la que el al menos un agente adicional se elige entre polímeros, ceras, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos o agentes de flujo.

15 2. La composición de la reivindicación 1, en la que la unidad de repetición del primer polímero comprende Fórmula (II):



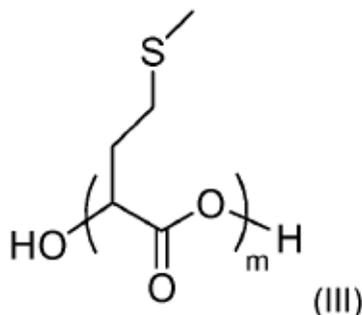
en la que,  $R^2$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ , Z, n, y m son como se definen en la reivindicación 1.

3. La composición de la reivindicación 1 o 2, en la que Z es azufre.

20 4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que  $R^6$  se elige entre metilo y etilo.

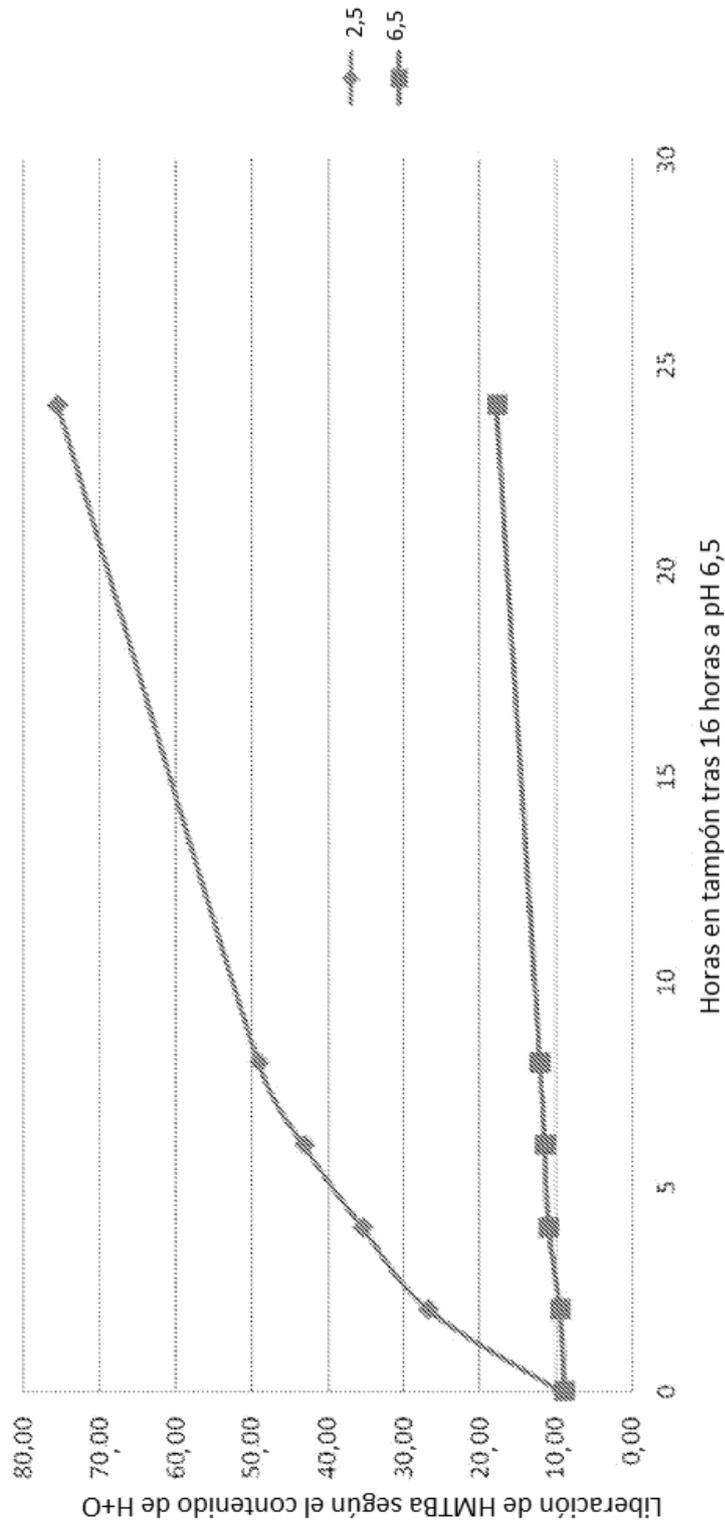
5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que n es un número entero de 1 a 5.

6. La composición de la reivindicación 1, en la que la unidad de repetición del primer polímero comprende la Fórmula (III):

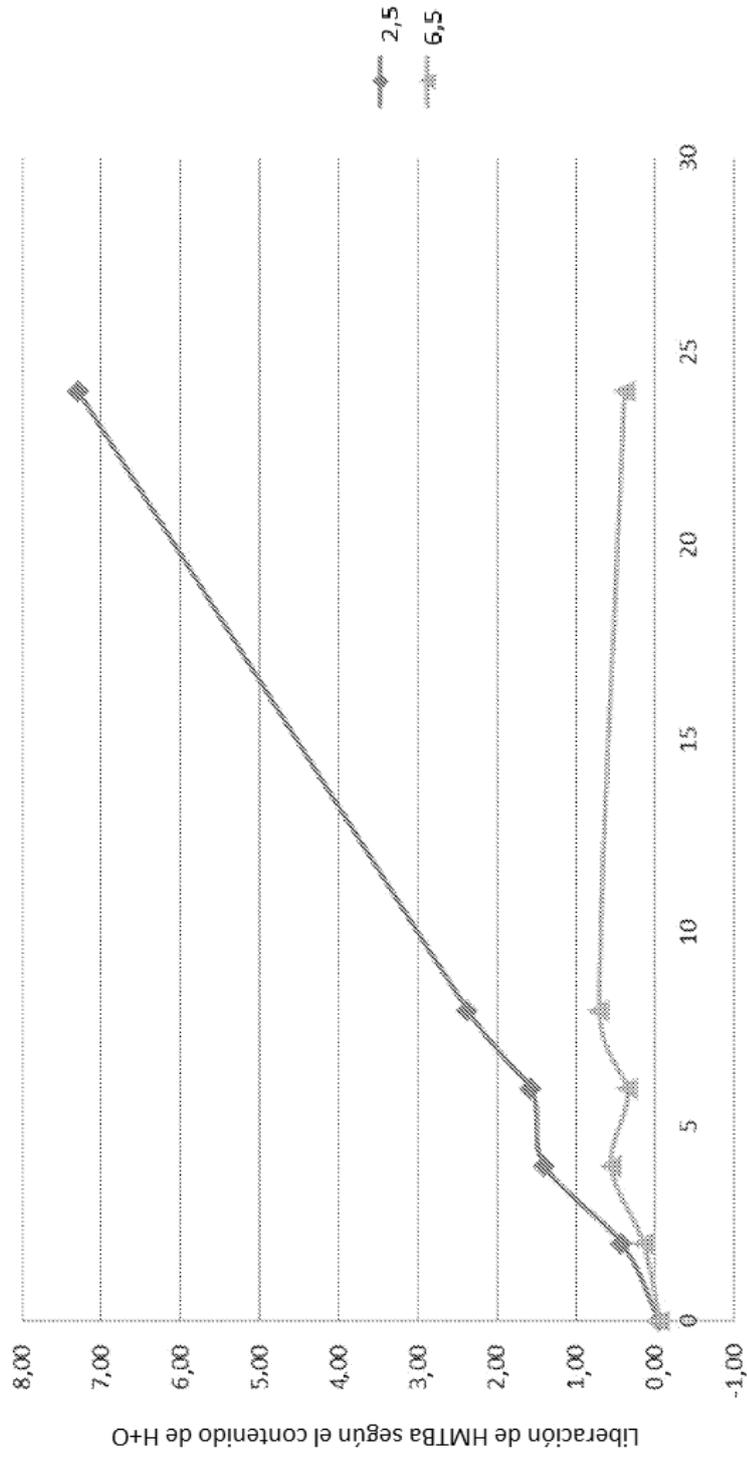


en la que, m es un número entero > 1.

7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el primer polímero tiene un peso molecular promedio de al menos 500 Da.
- 5 8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el agente bioactivo se elige entre aceites esenciales, aminoácidos o un análogo de un aminoácido, vitaminas, minerales, antioxidantes, pigmentos, enzimas, ácidos orgánicos, ácidos grasos poliinsaturados, prebióticos, probióticos, hierbas, agentes farmacéuticamente activos y combinaciones de los mismos.
- 10 9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el al menos un agente adicional es un polímero sensible al pH.
10. La composición de la reivindicación 9, en la que el polímero sensible al pH es poli-2-vinilpiridina-co-estireno.
11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el agente bioactivo es la sal de calcio del ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanoico.
- 15 12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que la composición se hidroliza en solución acuosa a un pH inferior a 5,0.
13. Una composición según la reivindicación 1, para su uso en un procedimiento para proporcionar un agente bioactivo a un sujeto con fines terapéuticos, comprendiendo el procedimiento administrar la composición al sujeto, en el que el agente bioactivo se libera después del paso de la composición a través del rumen.
- 20 14. Un procedimiento para proporcionar un agente bioactivo a un sujeto con fines no terapéuticos, comprendiendo el procedimiento administrar la composición como se cita en la reivindicación 1 al sujeto, en el que el agente bioactivo se libera después del paso de la composición a través del rumen.

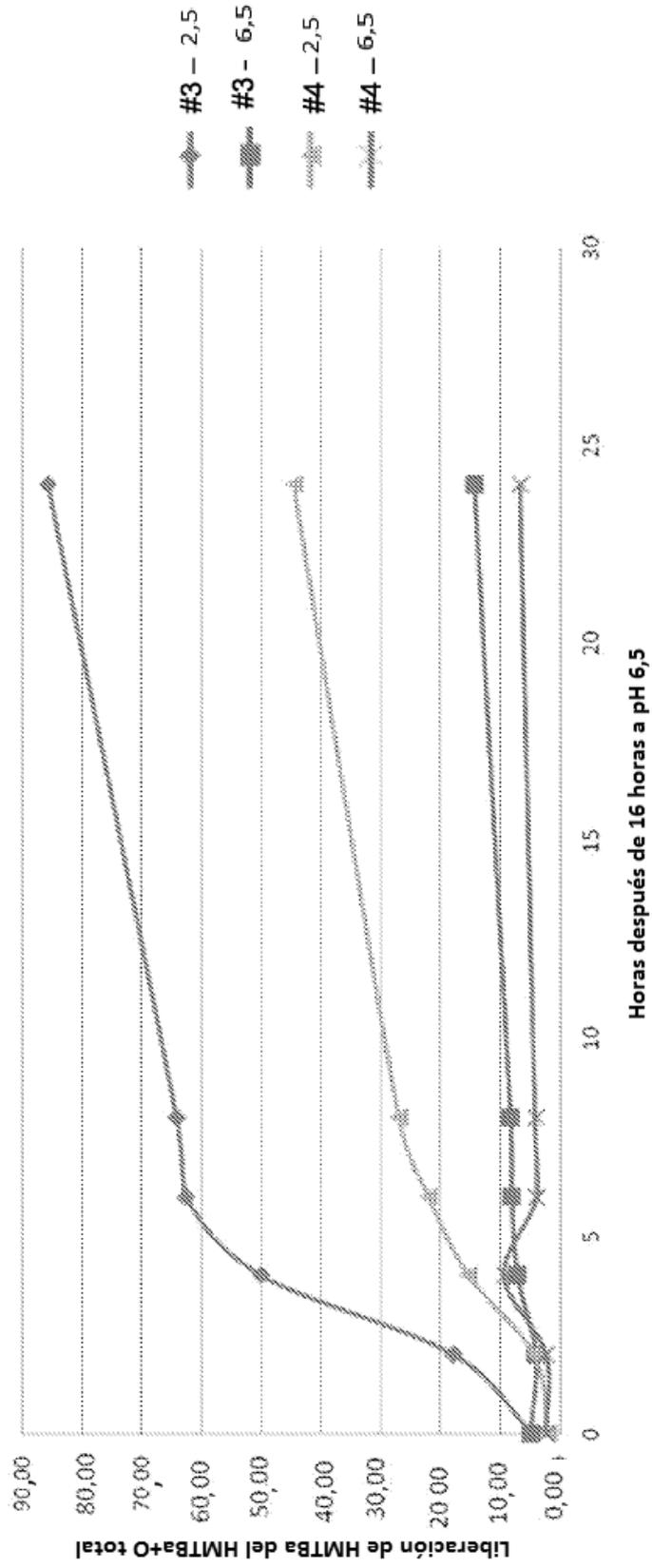


**FIG. 1A**

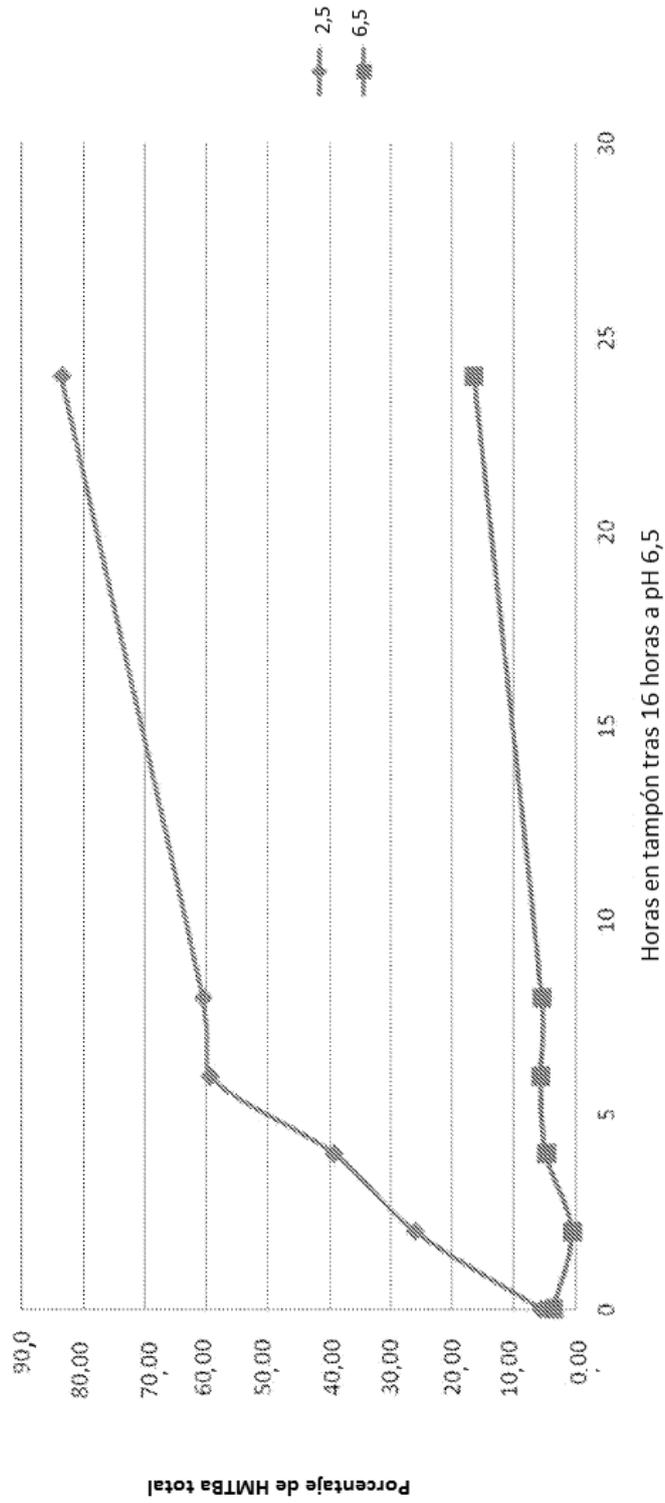


Horas en tampón

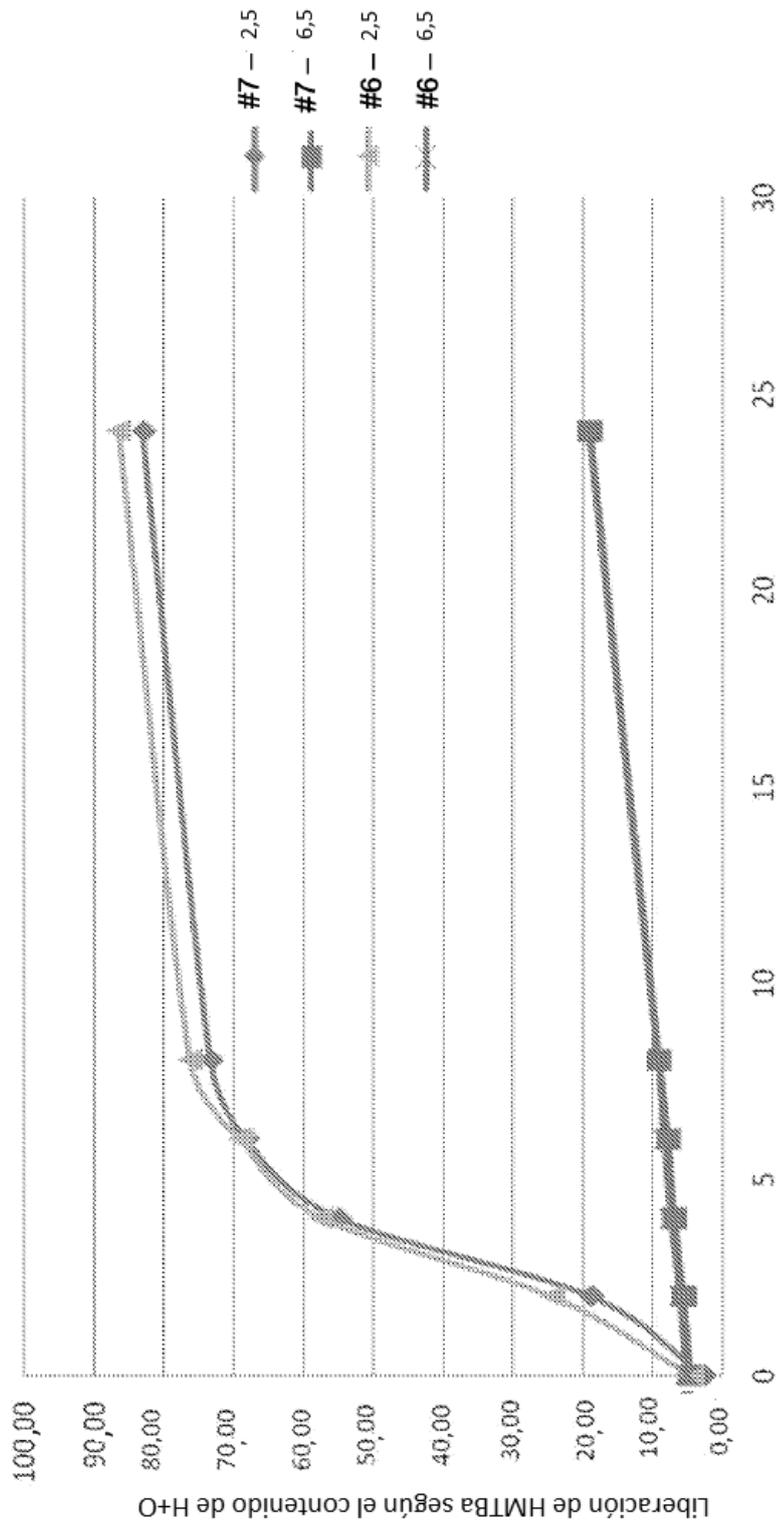
**FIG. 1B**



**FIG. 1C**

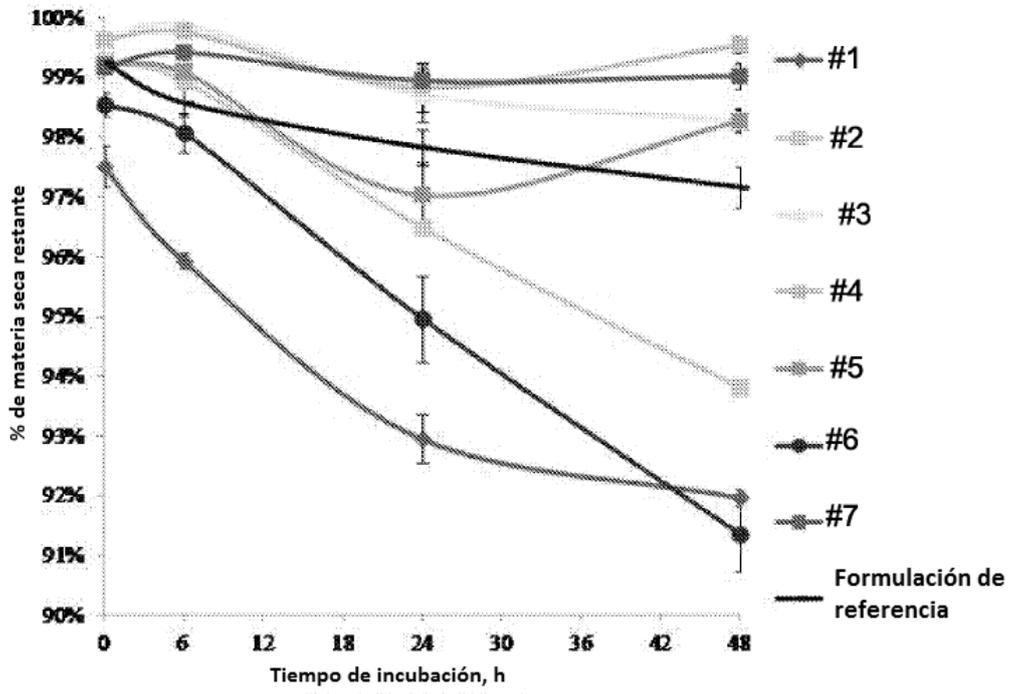


**FIG. 1D**

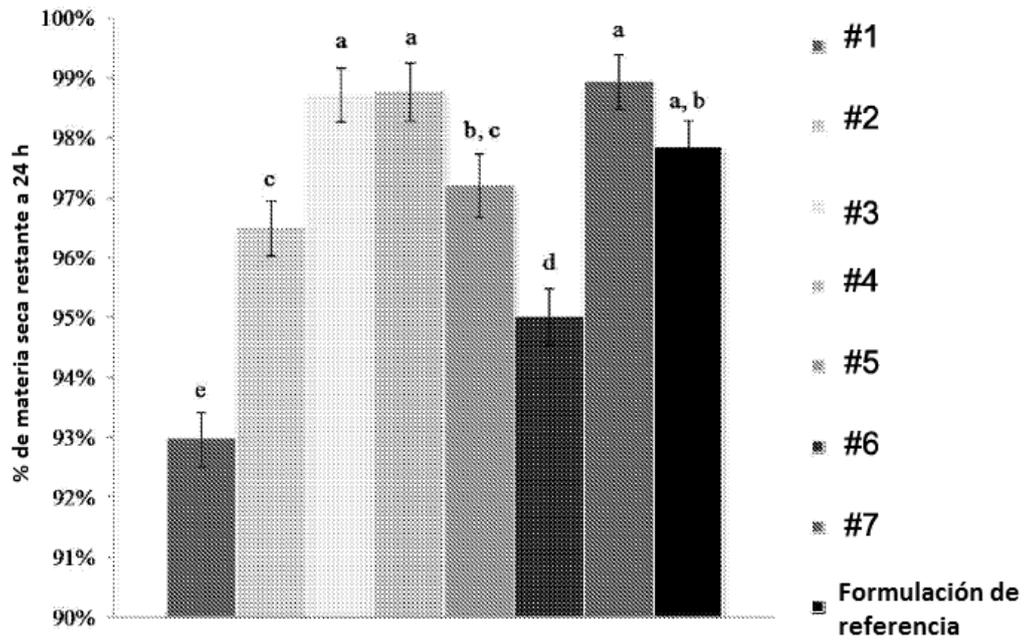


Horas en tampón tras 16 horas a pH 6,5

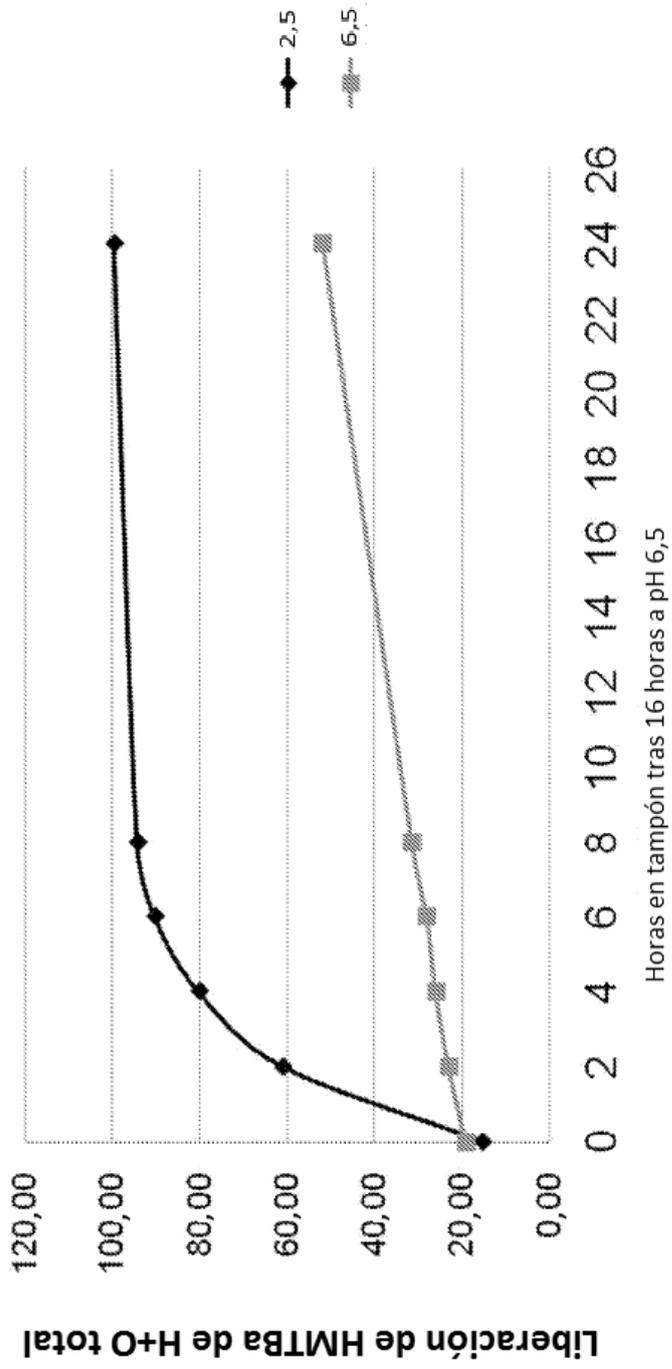
**FIG. 1E**



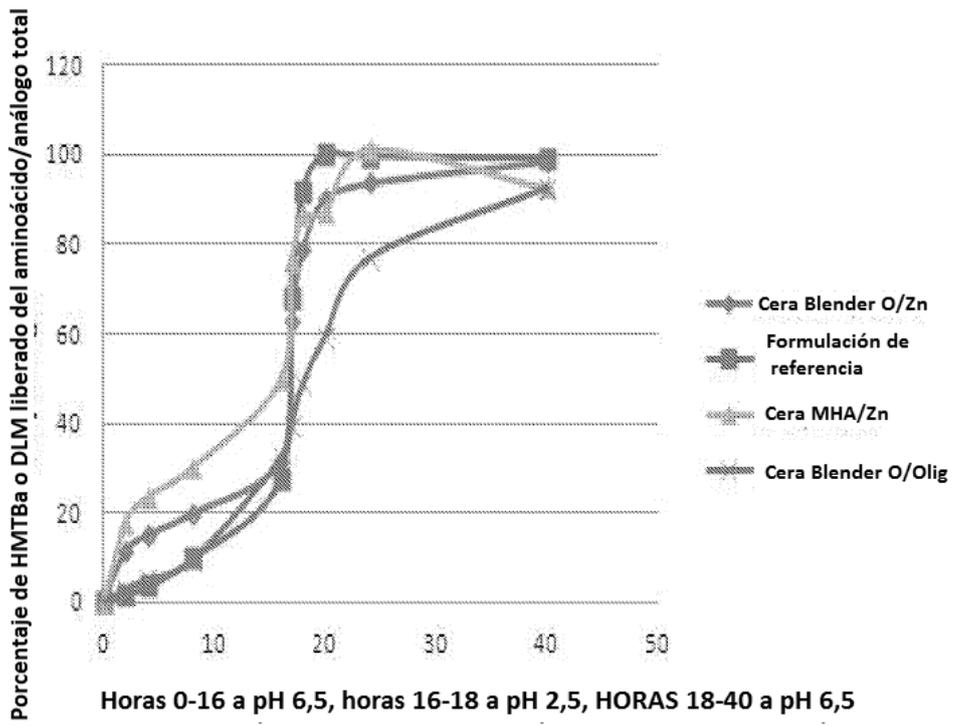
**FIG. 2A**



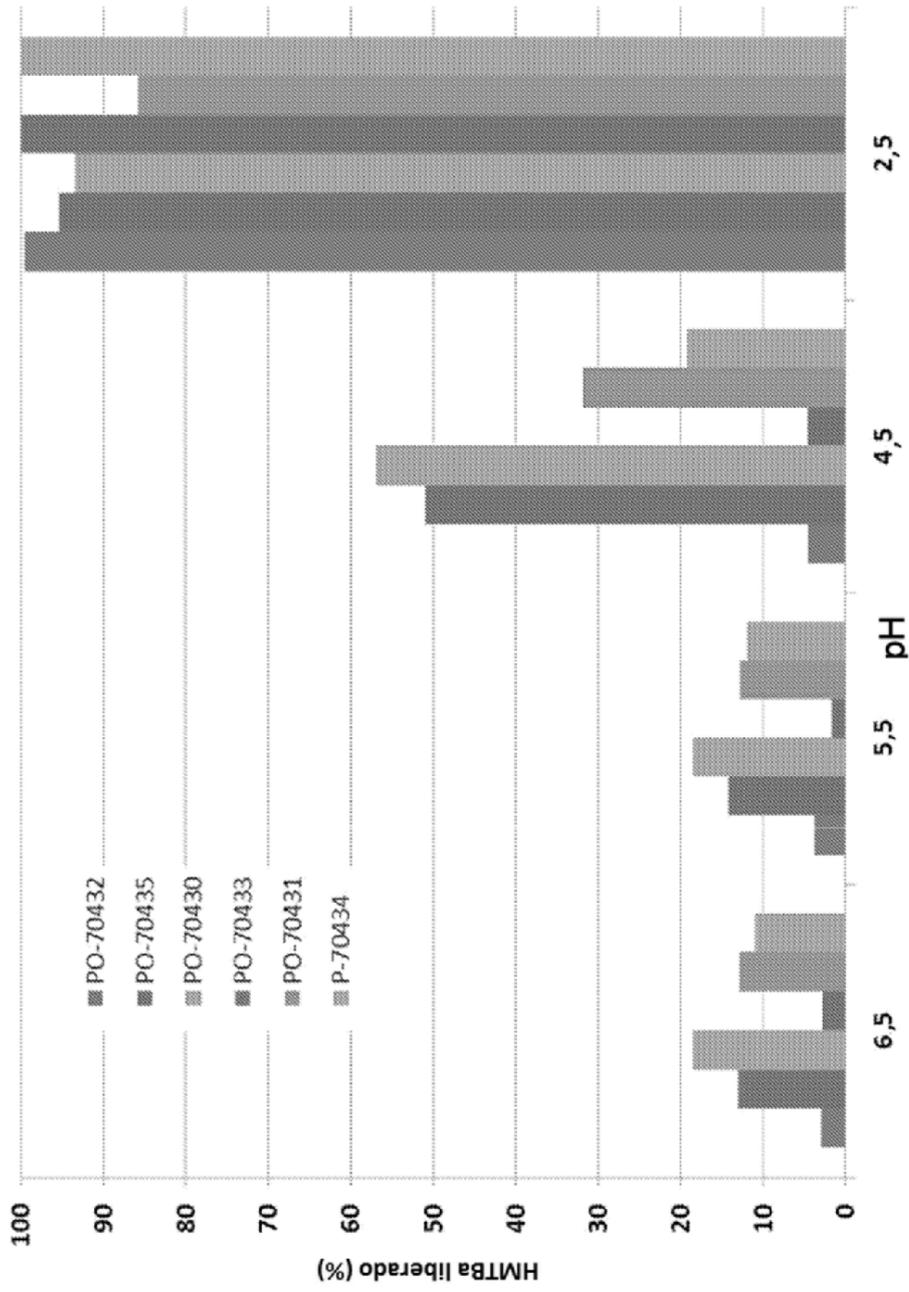
**FIG. 2B**



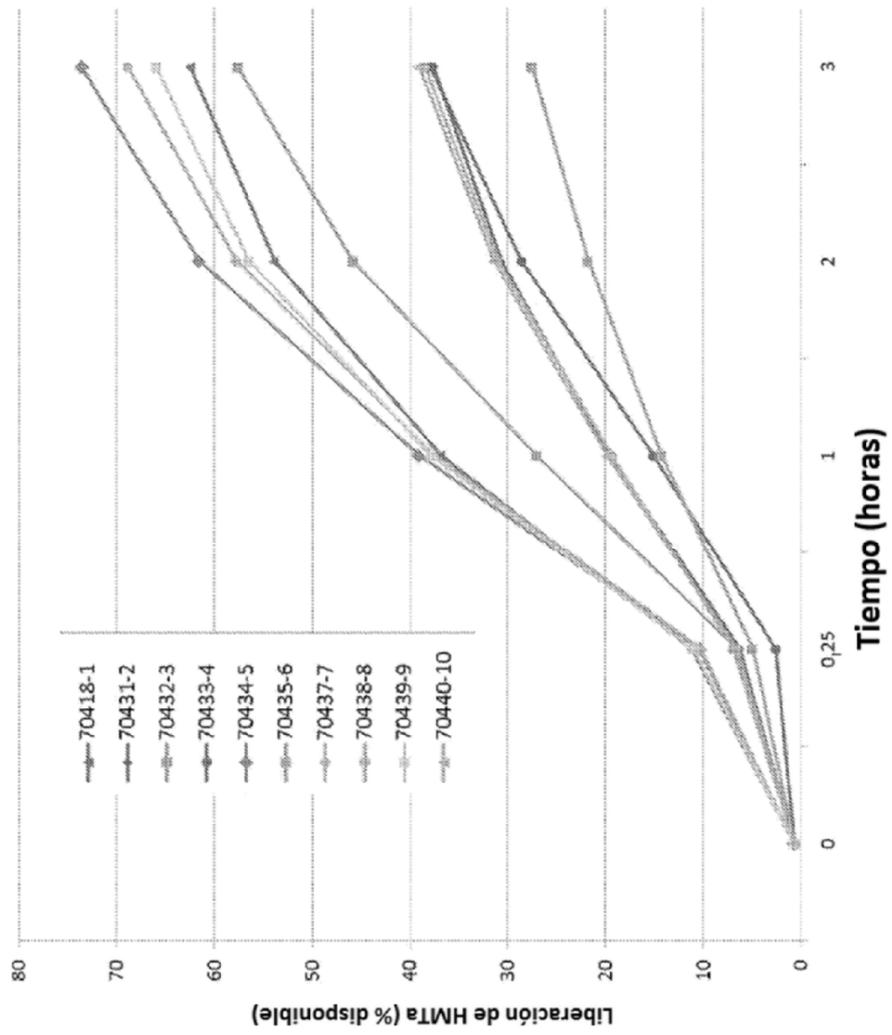
**FIG. 3**



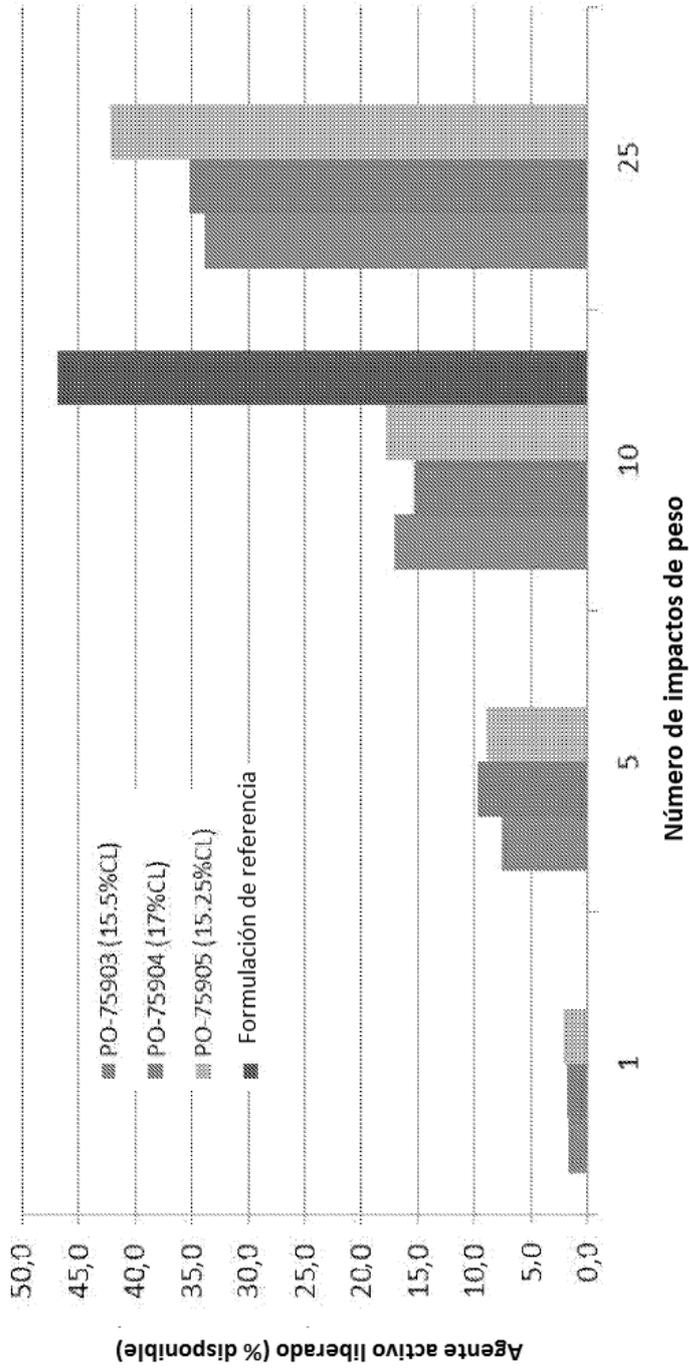
**FIG 4**



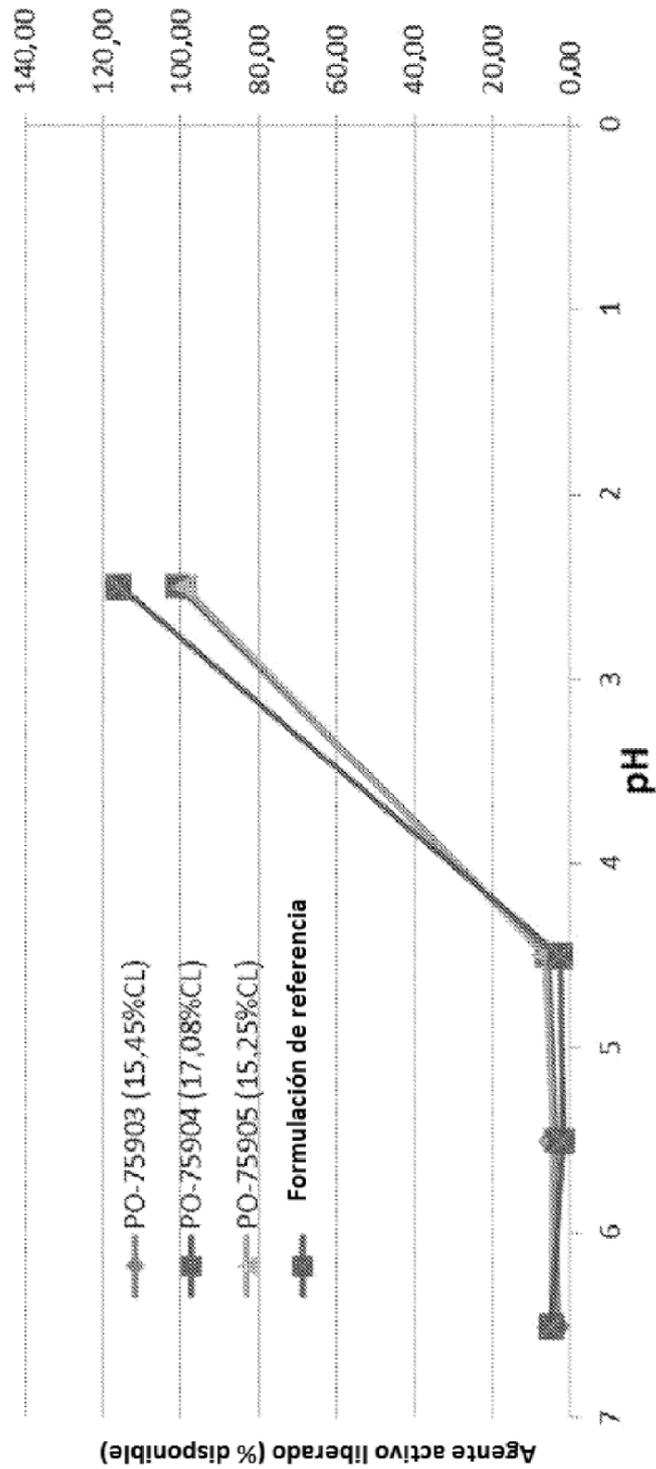
**FIG. 5**



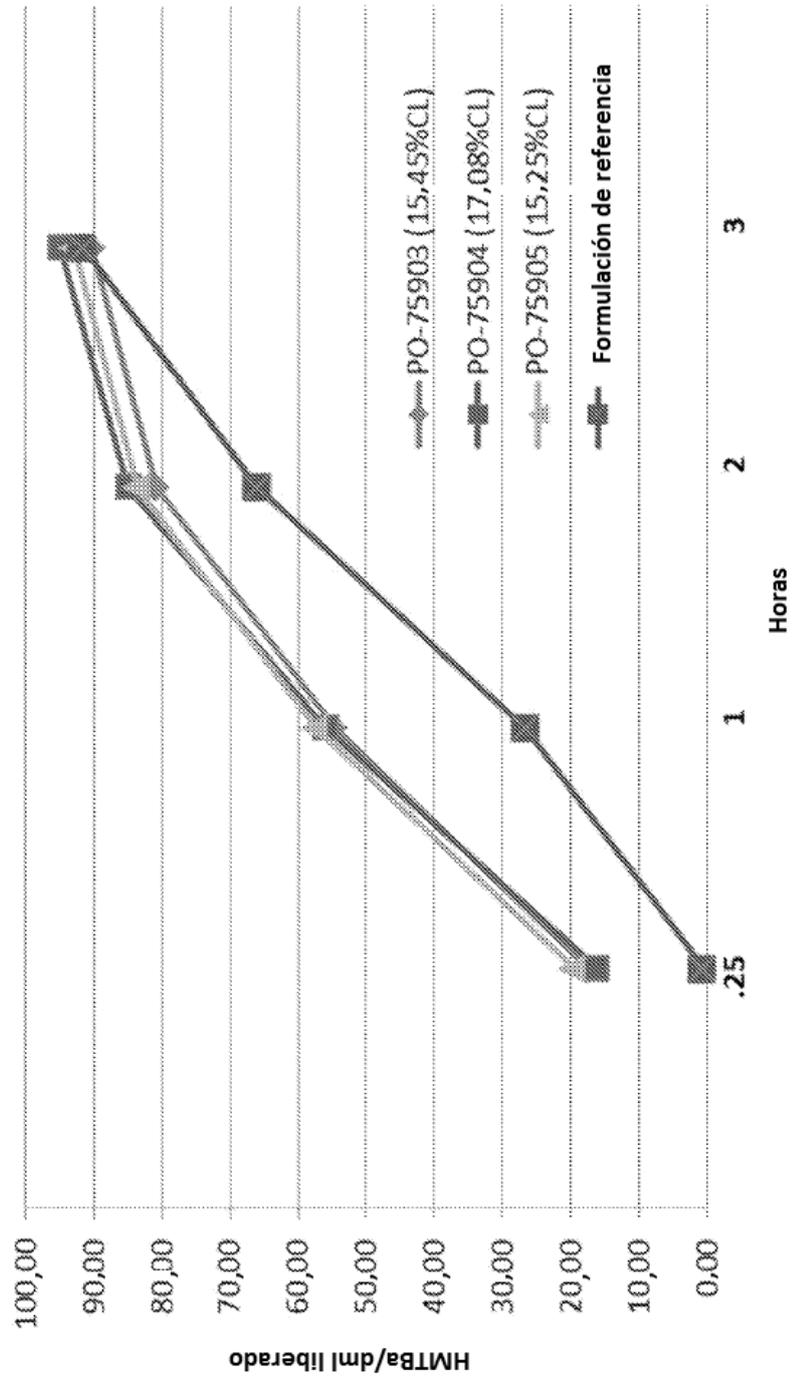
**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**



**FIG. 9**