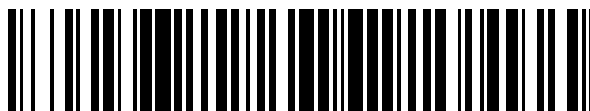


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 778**

51 Int. Cl.:

A23K 50/00 (2006.01)

C07C 229/76 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2014** **PCT/US2014/042608**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2015** **WO15047476**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2014** **E 14737441 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019** **EP 3054785**

54 Título: **Uso de complejos metálicos de etilen diamina para administrar metales altamente absorbibles para la nutrición animal**

30 Prioridad:

24.09.2013 US 201314034851

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

19.11.2019

73 Titular/es:

**ZINPRO CORPORATION (100.0%)
10400 Viking Drive, Suite 240
Eden Prairie, MN 55344, US**

72 Inventor/es:

**STARK, PETER A. y
KENDING, CORY SHAWN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 731 778 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de complejos metálicos de etilen diamina para administrar metales altamente absorbibles para la nutrición animal

Campo de la invención

- 5 El campo de la invención es la suplementación nutricional animal de minerales traza en un formato altamente absorbible y biodisponible.

Antecedentes de la invención

- 10 La presencia de metales esenciales a veces referidos como minerales traza, en cantidades suficientes y en una forma biológicamente disponible en la dieta es necesaria para mantener la salud y el bienestar de los animales domésticos y las aves de corral. Debido a que los metales esenciales como el cobre, hierro, manganeso y zinc son a menudo deficientes en los ingredientes comunes del pienso, a menudo se agregan cantidades suplementarias de estos nutrientes al pienso de los animales domesticados y las aves de corral. Se han desarrollado muchos aditivos para piensos comerciales para proporcionar los metales esenciales en formas que son fácilmente utilizables biológicamente. El grado de disponibilidad biológica de nutrientes a menudo se denomina "biodisponibilidad". La biodisponibilidad de los metales esenciales depende de las propiedades físicas y/o químicas de la forma en que el metal está presente en la dieta. El aumento de la biodisponibilidad de los metales complementarios es beneficioso porque permite el uso de concentraciones más bajas de los metales en la dieta para satisfacer las necesidades nutricionales de los animales, al tiempo que reduce los posibles efectos nocivos de los altos niveles de estos metales tanto en los animales como en el medio ambiente.

- 20 Hay varios productos comerciales disponibles en los que los elementos traza están más biodisponibles que la fuente inorgánica correspondiente del metal. La biodisponibilidad aumentada se atribuye a la asociación del metal con una molécula orgánica, generalmente conocida como un ligando. Esta asociación o enlace da como resultado una mayor disponibilidad del metal para la utilización por parte de los animales, es decir, un aumento de la biodisponibilidad. La mayor biodisponibilidad de los elementos esenciales en estos productos es el resultado de una mayor solubilidad, una mayor estabilidad en el intestino, una mejor absorción en la circulación y/o una mejor utilización metabólica.

- 25 Los diferentes tipos de productos que contienen un elemento traza asociado con un ligando orgánico están disponibles comercialmente. Estos se pueden clasificar en diferentes grupos según la naturaleza del ligando utilizado en la fabricación del producto. En una clase de productos, los aminoácidos se utilizan como ligandos que forman complejos o quelatos con el metal. Ejemplos de estos productos se describen en las patentes de Estados Unidos Números 3,941,818; 3,950,372; 4,067,994; 4,863,898 4,900,561; 4,948,594; 4,956,188; 5,061,815; 5,278,329; 5,583,243; y 6,166,071. Un segundo grupo de aditivos para piensos incluye las sales metálicas de ácidos carboxílicos de cadena corta, como el ácido propiónico (véanse las patentes de Estados Unidos números 5,591,878, 5,707,679, 5,795,615 y 5,846,581). Un tercer grupo de aditivos de elementos traza está clasificado por los Funcionarios de Control de Piensos de Estados Unidos como proteinato de metal y se define como "el producto resultante de la quelación de una sal soluble con aminoácidos y/o proteínas parcialmente hidrolizadas". Ejemplos de estos productos se describen en las patentes de Estados Unidos Nos. 3,440,054, 3,463,858, 3,775,132, 3,969,540, 4,020,158, 4,076,803, 4,103,003, 4,172,072 y 5,698,724.

- 40 El cesionario común de la presente solicitud en el pasado ha sintetizado y patentado complejos metálicos de aminoácidos como una fuente más biodisponible de los elementos esenciales. Los siguientes son ejemplos de estas patentes: Patente de Estados Unidos Números 3,941,818; 3,950,372; 4,021,569; 4,039,681; y 4,067,994 divulgan complejos 1:1 de alfa-aminoácidos, preferiblemente DL-metionina con los metales de transición zinc, cromo, manganeso y hierro. La formación de complejos similares con L-metionina se divulga en la patente de Estados Unidos No. 5,278,329. Patentes de Estados Unidos Nos. 4,900,561 y 4,948,594 divulgan complejos de cobre de alfa-aminoácidos que contienen grupos amino terminales. Los complejos de cobre, manganeso, zinc y hierro con ácidos carboxílicos alifáticos hidroxilo alfa, se divulgan en las patentes de Estados Unidos Nos. 4,956,188 y 5,583,243. Patentes de Estados Unidos Nos. 4,670,269 y 4,678,854 divulgan complejos de cobalto con ácido polihidroxil carboxílico tal como ácido glucoheptanoico. Los complejos del aminoácido L-lisina con elementos traza se divulgan en la patente de Estados Unidos No. 5,061,815. La efectividad de los compuestos divulgados en estas patentes se ha demostrado a partir de los datos proporcionados en algunas de estas patentes y en numerosas publicaciones científicas e informes técnicos.

- 50 Las patentes anteriores describen el uso de aminoácidos puros sintéticos o naturales. En la patente de Estados Unidos No. 5,698,724, el cesionario de la solicitud actual divulgó la síntesis de complejos de elementos esenciales con aminoácidos naturales obtenidos mediante la hidrólisis de proteínas. Desde que se emitió esta patente, una gran cantidad de estudios de campo han demostrado que los metales de estos complejos están más biodisponibles que los metales de fuentes inorgánicas.

- 55 La patente de Estados Unidos No. 2,960,406 divulga un pienso para animales que incluye un metal quelado seleccionado de hierro, cobalto, cobre, manganeso, molibdeno, zinc y yodo y un agente quelante seleccionado de la serie de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) que incluye el propio EDTA y derivados tales como sus sales mono y disódicas.

La etilendiamina (EDA) es bien conocida en el campo de la química y es un bloque de construcción para muchos compuestos y polímeros. También es un ligando importante para la complejación de metales. Como tal, se ha modificado químicamente para producir uno de los mejores y bien conocidos agentes quelantes, EDTA (ácido etilendiaminotetracético). Encontrar un buen ligando para la complejación química de los metales es completamente diferente a encontrar un buen ligando para la administración nutricional del metal a los animales para el desempeño animal. Hay muchos factores que determinan si un ligando será efectivo para la administración de un mineral a un animal. A menudo puede ser difícil evaluar la efectividad de un ligando metálico dado, ya que el mineral inorgánico es una fuente de mineral nutricionalmente viable. Muchos factores determinan si las fuentes de metales orgánicos son adecuadas para proporcionar una fuente biodisponible de minerales traza. Un buen portador para el mineral traza debe ser una molécula orgánica que brinde solubilidad en condiciones fisiológicas, estabilidad en el ácido del estómago; debe poder ser absorbido intacto a través de la pared intestinal, y debe liberar el mineral traza al cuerpo del animal para su uso, en lugar de excretarlo.

El aumento del rendimiento o eficacia de un oligoelemento orgánico debe determinarse mediante una selección cuidadosa del estudio para asegurarse de que está identificando una respuesta de rendimiento frente a una respuesta mineral. Típicamente se requiere la comparación de los mismos niveles de metal frente a un control inorgánico. Se requiere que la absorción del complejo metal-ligando sea intacta para que se considere un mineral traza orgánico. Si la disociación ocurre antes de la absorción, no se esperan diferencias de rendimiento de los minerales inorgánicos.

Con todo esto en mente, un mineral traza orgánico efectivo debe ser soluble y estable en condiciones fisiológicas y el mineral debe absorberse intacto. Los ligandos comunes que se han utilizado en el área de la nutrición animal son ácido propiónico, aminoácidos, hidroxiácidos, proteínatos, etc.

Por consiguiente, un objetivo principal de la presente invención es proporcionar un ligando preferido de molécula pequeña de los metales cobre, hierro, zinc y manganeso en un formato que sea altamente absorbible, soluble en condiciones fisiológicas, estable en ácido estomacal, absorbido intacto y capaz de liberar el mineral al animal en lugar de excretarlo.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar los ligandos metálicos anteriores en una forma fácilmente procesable y que sea fácil de hacer y fácil de usar para la suplementación.

El método y la manera de lograr los objetivos anteriores, así como otros, se harán evidentes a partir de la descripción detallada de la invención.

Sumario de la invención

Uso de complejos metálicos de etilendiamina, preferiblemente de cobre, zinc, hierro y manganeso en formatos altamente absorbibles para nutrición animal.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método para suplementar nutricionalmente la dieta de animales con minerales traza, que comprende:

alimentar a un animal con una pequeña pero efectiva cantidad suplemento de mineral traza de un ligando metálico de etilendiamina (EDA) de la fórmula:



en donde M es un metal seleccionado del grupo que consiste en zinc, hierro, cobre y manganeso, EDA es etilendiamina ligada al metal y X representa contraiones de cloruro o sulfato seleccionados para proporcionar un metal neutro y/o ligando.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un gráfico de la permeabilidad celular para Cu-EDA.

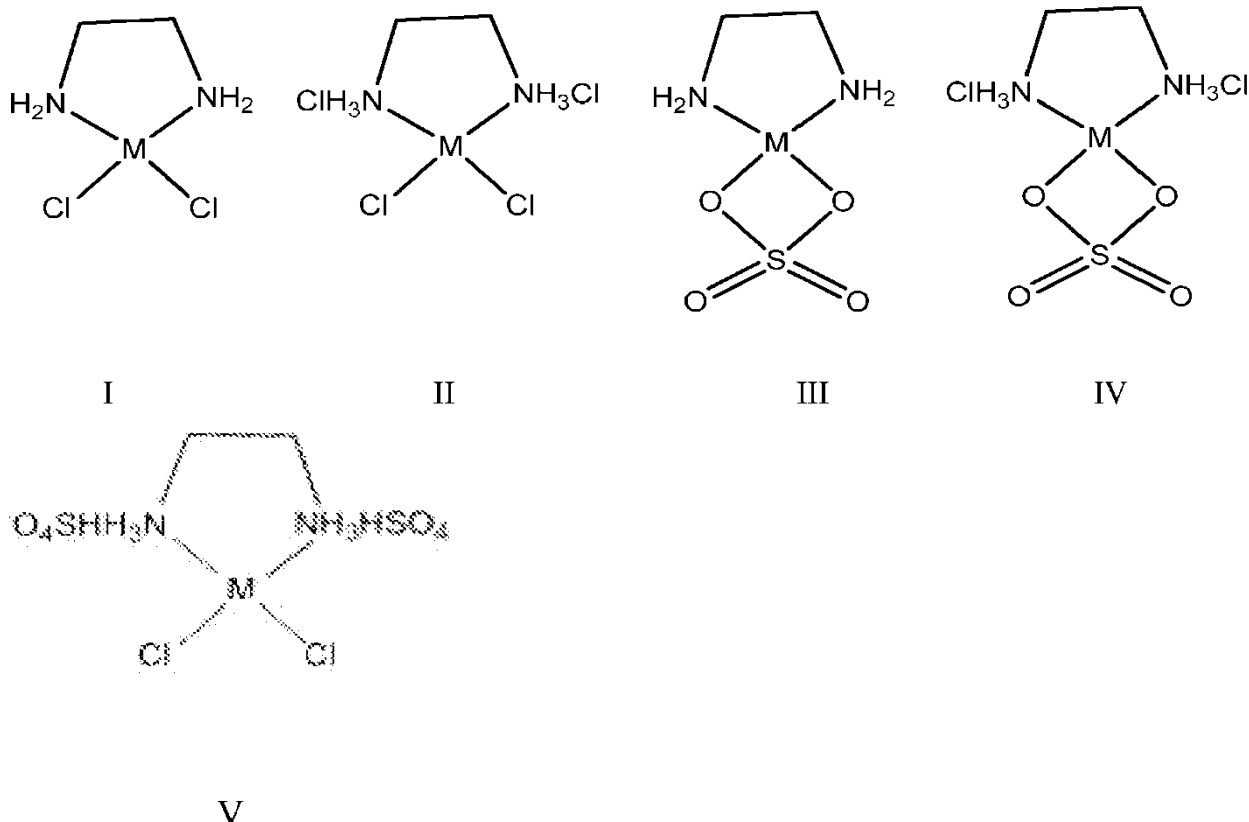
La Figura 2 muestra un gráfico de los resultados comparativos de las aves de corral para Zn-EDA y ZnO y arena.

La Figura 3 muestra un gráfico de datos comparativos de ovejas para el Ejemplo 20.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Es importante tener en cuenta que la unidad estructural orgánica del ligando de esta invención es etilendiamina sola, no ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) u otras moléculas más grandes. Esto es importante ya que la molécula más pequeña significa menos volumen y aumenta las posibilidades de una alta tasa de absorción exitosa a través del intestino y la asimilación en el sistema biológico del animal, en lugar de simplemente pasar por el sistema como excremento. Por supuesto, si hace esto último, simplemente se desperdicia sin ningún beneficio nutricional para el animal.

Hasta donde sabe el inventor, EDA no se ha utilizado como un ligando de administración para metales, aunque es bien conocido como un agente de complejación de metales. Tiene varias ventajas sobre algunos de los ligandos de metales orgánicos de la técnica anterior enumerados anteriormente. Es pequeño, lo que permite mayores concentraciones de metales sobre algunos de los otros ligandos. Es un complejo estable, mientras que algunos de los otros ligandos orgánicos forman un complejo demasiado débil como los ácidos hidroxilo y los ácidos lineales. La etilendiamina supera estos problemas. Es difícil predecir cuál será un mineral traza orgánico efectivo. Es fácil saber cuál no funcionaría debido a problemas de solubilidad y estabilidad, pero si un complejo puede absorberse o no debe determinarse mediante experimentos. Debido a su pequeño tamaño, solubilidad y absorción, cumple con todos los requisitos para un eficaz complejo de minerales traza orgánicos. La estructura general de estos complejos es la siguiente:



El contraión variará dependiendo de qué material metálico se utilizó para la formación. Por ejemplo, ZnCl_2 tendrá los contraiones de cloruro y ZnSO_4 tendrá el sulfato. Los metales preferidos son Zn, Fe, Mn, Cu. Dependiendo de las condiciones sintéticas, el complejo se puede hacer a partir de la amina libre, así como la amina protonada. Estas estructuras muestran la amina protonada (II, IV y V) que también funcionará. El contraión puede ser cualquier anión utilizado para equilibrar las cargas y proporcionar un ligando neutro. Sin embargo, los más probables y preferidos son el cloruro o el anión bisulfato (en la estructura V de tipo amina). La expresión "contraión", como se usa aquí, se refiere tanto al contraión para el metal como al contraión para el nitrógeno si está protonado.

Los productos se pueden usar en la forma libre de portador o con un portador no tóxico. Los portadores adecuados incluyen: hidrógeno fosfato de calcio, carbonato de calcio, sílice, mazorcas de maíz molidas, suero de leche, celulosa y otras fibras de madera y azúcar en polvo o una mezcla de cualquiera de los anteriores.

En los siguientes ejemplos, la preparación y el uso de suplementos nutricionales se demuestran para los ligandos EDA de zinc, cobre, hierro y manganeso y se comparan con fuentes inorgánicas para demostrar la biodisponibilidad para moléculas pequeñas.

Ejemplos

Ejemplo 1:

Cloruro de zinc EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de zinc (II)

Se disolvió EDA (100 ml, 1,5 moles) en 1 l de agua desionizada y se calentó a 50 °C. A esta solución se añadió ácido clorhídrico concentrado (437,5 ml, 5,25 moles) y la solución se dejó agitar durante 15 minutos. Se añadió óxido de

zinc (50,3 g, 1,5 mol) en una porción y se agitó durante 45 minutos o hasta que la suspensión se convirtió en una solución. Una vez completada, la reacción se secó en un horno de vacío hasta obtener un sólido blanco (314 g).

ICP: 27% Zn

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,23 (s ancho, 4H)

5 IR (KBr): 1.598, 1.574, 1.493, 1.444 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 9,79; H, 3,73; N, 11,13; Cl, 51,24.

Ejemplo 2:

Cloruro de zinc EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de zinc (II)

10 Se disolvió diclorhidrato de EDA (22 g, 0,16 moles) en 200 ml de agua desionizada y se calentó a 40 °C. A esta solución se le añadió cloruro de zinc (23,6 ml, 0,16 moles) que se había disuelto en un recipiente separado. Esta solución se calentó durante dos horas a 40 °C con agitación continua. Una vez completada, la reacción se secó en un horno de vacío hasta obtener un sólido blanco (34 g).

ICP: 26% Zn

15 ^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,40 (s ancho, 4H)

IR (KBr): 1.581, 1.486, 1.465 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 8,97; H, 3,55; N, 10,21; Cl, 52,36.

Ejemplo 3:

Sulfato de zinc EDA

20 1,2 Diaminoetano hidrosulfúrico-sulfato de zinc (II)

Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se suspendió heptahidrato de ZnSO_4 (143 g, 0,5 moles) en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de H_2SO_4 concentrado (36N, 28 ml). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido blanco (127 g).

25

ICP: 20,9% Zn

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,39 (s, 4H)

IR (KBr): 1.595, 1.573, 1.490, 1.473 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 7,55; H, 3,07; N, 8,64; S, 19,37.

30 Ejemplo 4:

Cloruro de cobre EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de cobre (II)

Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. El dihidrato de cloruro de cobre (85,24 g, 0,5 moles) se suspendió en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de HCl concentrado (12M, 83mL). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido azul verdoso (100 g).

35

ICP: 21,4% Cu

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,24 (s ancho, 4H)

40 IR (KBr): 1.573, 1.493 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 10,42; H, 3,89; N, 11,76; Cl, 53,40.

Ejemplo 5:

Cloruro de cobre EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de cobre (II)

- 5 Se disolvió diclorhidrato de EDA (100 g, 0,76 moles) en 600 ml de agua desionizada y se calentó a 40 °C. A esta solución se le añadió cloruro de cobre (100,76 g, 0,76 moles) que se había disuelto en un recipiente separado. Esta solución se calentó durante dos horas a 60 °C con agitación continua. Una vez completada, la reacción se secó en un horno de vacío hasta obtener un sólido blanco (178 g).

ICP: 23,54% Cu

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,17 (s, 4H)

IR (KBr): 1.576, 1.502 cm^{-1}

- 10 Encontrado por análisis: C, 9,12; H, 3,77; N, 10,36; Cl, 52,73.

Ejemplo 6:

Cloruro de cobre EDA-CuO

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de cobre (II)

- 15 Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se añadió óxido de cobre (39,8 g, 0,5 moles) en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de HCl concentrado (12M, 166 mL). La solución se calentó luego durante 2,5 horas a 50 °C y luego se evaporó en un horno de vacío hasta obtener un sólido amarillo claro (143 g).

ICP: 23,68% Cu

IR (KBr): 1.571, 1.495 cm^{-1}

- 20 Encontrado por análisis: C, 8,16; H, 3,53; N, 9,18; Cl, 51,73.

Ejemplo 7:

Sulfato de cobre EDA

1,2 Dihidrogenosulfato de diaminoetano-sulfato de cobre (II)

- 25 Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se suspendió pentahidrato de sulfato de cobre (124,9 g, 0,5 moles) en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de H_2SO_4 concentrado (36N, 28 ml). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido azul (180 g).

ICP: 17,9% Cu

- 30 ^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,22 (s ancho, 4H)

IR (KBr): 1.616, 1.545, 1.507, 1.486 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 6,09; H, 4,22; N, 6,81; S, 15,89.

Ejemplo 8:

Sulfato de Hierro EDA

- 35 1,2 Dihidrogenosulfato de diaminoetano: sulfato de hierro (II)

- 40 Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se suspendió heptahidrato de FeSO_4 (139,01 g, 0,5 moles) en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de H_2SO_4 concentrado (36N, 28 ml). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido verde claro (153,74 g).

ICP: 16,1% Fe

IR (KBr): 1.611, 1.530, 1.509 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 6,45; H, 3,50; N, 7,24; S, 20,09.

Ejemplo 9:

Cloruro de hierro EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de hierro (II)

- 5 EDA (33 ml, 0,5 moles) se disolvió en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. El tetrahidrato de cloruro ferroso (99,4 g, 0,5 moles) se suspendió en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de HCl concentrado (12M, 83mL). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido verde claro (111 g).

ICP: 22,7% Fe

- 10 IR (KBr): 1.617, 1.509 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 8,72; H, 3,62; N, 9,88; Cl, 50,44.

Ejemplo 10:

Cloruro de manganeso EDA

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de manganeso (II)

- 15 Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se suspendió tetrahidrato de cloruro de manganeso (99 g, 0,5 moles) en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de HCl concentrado (12M, 83mL). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó en un horno de vacío hasta obtener un sólido rosa claro (119 g).

- 20 ICP: 21,7% Mn

IR (KBr): 1.620, 1.616, 1.511, 1.505 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 9,12; H, 3,85; N, 10,42; Cl, 53,65.

Ejemplo 11:

Cloruro de Manganeso EDA-MnO

- 25 1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-cloruro de manganeso (II)

Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se añadió óxido de manganeso (43,5 g, 0,5 moles) en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de HCl concentrado (12M, 166 mL). La solución se calentó luego durante 2,5 horas a 50 °C y luego se evaporó en un horno de vacío hasta obtener un sólido rosa claro (131 g).

- 30 ICP: 25,08% Mn

IR (KBr): 1.617, 1.590, 1.509 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 8,57; H, 3,61; N, 9,57; Cl, 48,51.

Ejemplo 12:

Sulfato de Manganeso EDA

- 35 1,2 dihidrógenosulfato de diaminoetano-sulfato de manganeso (II)

Se disolvió EDA (33 ml, 0,5 moles) en 250 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. Se suspendió monohidrato de MnSO_4 (84,5 g, 0,5 moles) en 50 ml de agua desionizada en un recipiente separado y se agitó durante 5 minutos con una barra de agitación magnética. La suspensión se añadió en una porción al recipiente de reacción. La suspensión se aclaró con la adición de H_2SO_4 concentrado (36N, 28 ml). La solución se calentó luego durante 1,5 horas a 50 °C y luego se evaporó dentro de un horno de vacío hasta obtener un sólido rosa claro (146 g).

- 40

ICP: 16,5% Mn

IR (KBr): 1.675, 1.638, 1.609, 1.532 cm^{-1}

Encontrado por análisis: C, 7,09; H, 3,30; N, 8,10; S, 19,78.

Ejemplo 13:

Cloruro de zinc EDA- (MeOH)

1,2 Diaminoetano-cloruro de zinc (II)

- 5 Se disolvió cloruro de zinc (II) (102 g, 0,75 moles) en 800 ml de metanol a 60 °C para formar una solución transparente. Se añadió lentamente etilendiamina (50 ml, 0,75 moles) debido a la extrema naturaleza exotérmica de la reacción. Un sólido blanco claro se precipitó inmediatamente de la solución y esta suspensión se agitó durante una hora adicional. El sólido blanco (115 g) se filtró y se secó en un horno de vacío.

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,01 (d, 4H)

IR (KBr): 1.573 cm^{-1}

- 10 ICP: 32,7% Zn

Encontrado por análisis: C, 12,34; H, 4,19; N, 14,2; Cl 35,83

Ejemplo 14:

Cloruro de cobre EDA- (MeOH)

1,2 Diaminoetano-cloruro de cobre (II)

- 15 El dihidrato de cloruro de cobre (II) (56 g, 0,33 moles) se disolvió en 500 ml de metanol a 60 °C para formar una solución verde esmeralda. Se añadió lentamente etilendiamina (22 ml, 0,33 moles) debido a la naturaleza exotérmica de la reacción. Se precipitó inmediatamente un sólido azul claro de la solución y esta suspensión se agitó durante una hora adicional. El sólido azul claro (61 g) se filtró y se secó en un horno de vacío.

^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,16 (s, 4H)

- 20 IR (KBr): 1.570 cm^{-1}

ICP: 33,4% Cu

Encontrado por análisis: C, 12,44; H, 4,13; N, 14,14; Cl 36,16

Ejemplo 15:

Cloruro de manganeso EDA- (MeOH)

- 25 1,2 Diaminoetano-cloruro de manganeso (II)

El cloruro de manganeso (II) (55 g, 0,44 moles) se disolvió en 500 ml de metanol a 60 °C para formar una solución de color marrón claro. Se añadió lentamente etilendiamina (29,4 ml, 0,44 moles) debido a la naturaleza exotérmica de la reacción. Un sólido de color bronce claro se precipitó inmediatamente de la solución y esta suspensión se agitó durante una hora adicional. El sólido de color bronce claro (67 g) se filtró y se secó en un horno de vacío antes del análisis.

- 30 IR (KBr): 1.591, 1.510 cm^{-1}

ICP: 22% Mn

Encontrado por análisis: C, 15,08; H, 4,84; N, 13,28; Cl 30,77

Ejemplo 16:

Cloruro de hierro EDA- (MeOH)

- 35 1,2 Diaminoetano-cloruro de hierro (II) (20788-115)-MeOH

Se disolvió tetrahidrato de cloruro ferroso (II) (50 g, 0,25 moles) en 500 ml de metanol a 60 °C para formar una solución verde oscura. Se añadió lentamente etilendiamina (16,8 ml, 0,25 moles) debido a la naturaleza exotérmica de la reacción. Un sólido verde oscuro se precipitó inmediatamente de la solución y esta suspensión se agitó durante una hora adicional. El sólido verde oscuro se convirtió en un sólido rojo oscuro (38 g) al filtrar y secar en un horno de vacío.

- 40 ^1H RMN (D_2O , 300 MHz) δ 3,17 (s ancho, 4H)

IR (KBr): 1.510 cm^{-1}

ICP: 26,5% Fe

Encontrado por análisis: C, 12,16; H, 5,03; N, 10,89; Cl 32,31

Ejemplo 17:

Zinc EDA-Sulfato de cloruro

1,2 Diclorhidrato de diaminoetano-sulfato de zinc (II)

- 5 Se disolvió clorhidrato de EDA (22 g, 0,16 moles) en 100 ml de agua desionizada y se calentó a 50 °C. A esta solución se le añadió heptahidrato de sulfato de zinc (50,3 g, 0,17 moles). La solución se agitó a 50 °C durante 2 horas adicionales. Una vez completada, la reacción se secó en un horno de vacío hasta obtener un sólido blanco (58 g).

ICP: 22,5% Zn

IR (KBr): 1.595, 1.574, 1.491, 1.474 cm⁻¹

- 10 Ejemplo 18:

- 15 El Cu²⁺ se transportó en solución salina de Hanks regulada (HBSS) de pH 5,5 a 7,4 a 37 °C. La concentración fue de 100 µg/ml de Cu²⁺. Cada punto de datos es el promedio de tres determinaciones. Se utilizó el modelo de cultivo celular Caco-2 (adenocarcinoma colorrectal epitelial humano heterogéneo), que es reconocido por la FDA por caracterizar el patrón de absorción del fármaco. La solución de prueba con concentraciones apropiadas de producto se cargó en el lado apical (donante). Se tomaron muestras de un donante (2.500 µL) y una muestra del receptor a las 0, 3 y 6 horas seguidas de la adición de 2.500 µL de solución de donante fresca al lado del donante o 2.500 µL de regulador fresco al lado del receptor. El contenido de metal se midió por ICP-OES.

La Figura 1 muestra los resultados gráficamente y demuestra la clara superioridad de Cu-EDA sobre el CuSO₄.

Ejemplo 19:

- 20 Ovejas

A las ovejas se les dio un bolo de zinc de 250 mg de ZnSO₄ en el momento 0. Luego, a las 6 horas, se les dio otro bolo de óxido de zinc sin zinc (arena) o Zn-EDA. Los niveles séricos de zinc fueron los más altos y más altos para una duración más prolongada con el Zn-EDA que los otros tratamientos. Los resultados se muestran en la Figura 2.

Ejemplo 20:

- 25 Ensayo de aves de corral

- 30 Los animales eran pollos de engorde machos Cobb. El experimento se inició con animales de 1 día de nacidos. Se usó ZnSO₄ como ejemplo comparativo usando 80 ppm de zinc de ZnSO₄. Zn-EDA reemplazó 40 ppm del zinc, por lo que había 40 ppm de Zn de ZnSO₄ y 40 ppm de Zn de Zn-EDA y se comparó con 80 ppm de Zn de ZnSO₄. Se utilizaron dietas integradoras reales de pollos de engorde. Contienen 500 ftu de fitasa y una enzima NSP (enzima degradante de polisacáridos no almidonosos). El plano de nutrición está dirigido a estar en el percentil 75 de AgriStat. El experimento tuvo un diseño completamente aleatorizado. Hubo 12 réplicas por tratamiento y 21 aves por réplica.

La siguiente Tabla 1 muestra los datos que se representan para el ensayo de aves de corral con pollos de engorde machos Cobb. Demuestra de manera estadísticamente significativa la conversión mejorada del pienso y una menor mortalidad cuando se practica la invención.

- 35 Tabla 1

Tratamiento	Peso corporal, Kg	Conversión de pienso	Mortalidad, %
Sulfato de Zn ^a	2,212	1,531	4,71
Zn-EDA ^{bc}	2,200	1,500	1,81
Valor P	0,160	0,031	0,214
a Un suplemento dietético de zinc = 80 ppm.			
b Se reemplazó a 40 ppm de Zn de la fuente de sulfato			
c El contenido de Zn para ZnEDA fue 24,1			

En los siguientes ejemplos, a las ovejas se les administró una inyección de bolo como en el Ejemplo 19 y luego se midió la captación por la sangre en diversos intervalos. Por alguna razón, el nivel de 30 horas parece ser un mejor punto observado para la diferenciación, con base en experimentos anteriores con EDA.

5 Ejemplo 21

El Fe-EDA (Ejemplo 9) y el Fe-EDA (Ejemplo 16) se analizaron para determinar la captación de hierro en la sangre en comparación con la inyección en bolo de FeSO_4 . Como puede verse en la figura 3, las muestras de Fe-EDA fueron mejores en todos los intervalos que el sulfato de hierro inorgánico, especialmente a las 30 horas.

Ejemplo 22

- 10 Las pruebas como en el Ejemplo 19 y 21 se ejecutaron con MnSO_4 en comparación con la Mn-EDA del Ejemplo 10. En todos los puntos, la captación de manganeso en sangre de la oveja se encontraba en niveles más bajos que otros ligandos probados. Esto puede ser una característica del propio Mn. Sin embargo, los datos a las 30 horas si mostraron una diferencia significativa en comparación con el MnSO_4 inorgánico.

hora 30

MnSO_4	24
Mn-EDA (Ejemplo 10)	33

15

De lo anterior, se puede ver que la invención logra al menos todos los objetivos establecidos.

REIVINDICACIONES

1. Un método para suplementar nutricionalmente la dieta de animales con minerales traza, que comprende:

alimentar a un animal con una pequeña pero efectiva cantidad de suplemento de mineral traza de un ligando metálico de etilendiamina (EDA) de la fórmula:

5 M (EDA)X,

en donde M es un metal seleccionado del grupo que consiste en zinc, hierro, cobre y manganeso, EDA es etilendiamina ligada al metal y X representa contraiones de cloruro o sulfato seleccionados para proporcionar un metal neutro y/o ligando.

2. El método de la reivindicación 1, en donde el animal es un animal domesticado de ganado o aves de corral.

10 3. El método de la reivindicación 1, en donde antes de la alimentación, el ligando neutro de etilendiamina metálica se mezcla con un portador no tóxico.

4. El método de la reivindicación 3, en donde el portador se selecciona del grupo que consiste en azúcares, solubles de fermentación, granos de pienso, harina de mazorca de maíz, celulosa y otras fibras de madera y suero de leche.

15 5. El método de la reivindicación 4, en donde la cantidad que suplementa la dieta de dicho complejo de ligando metálico es suficiente para satisfacer las necesidades diarias del metal seleccionado en los animales.

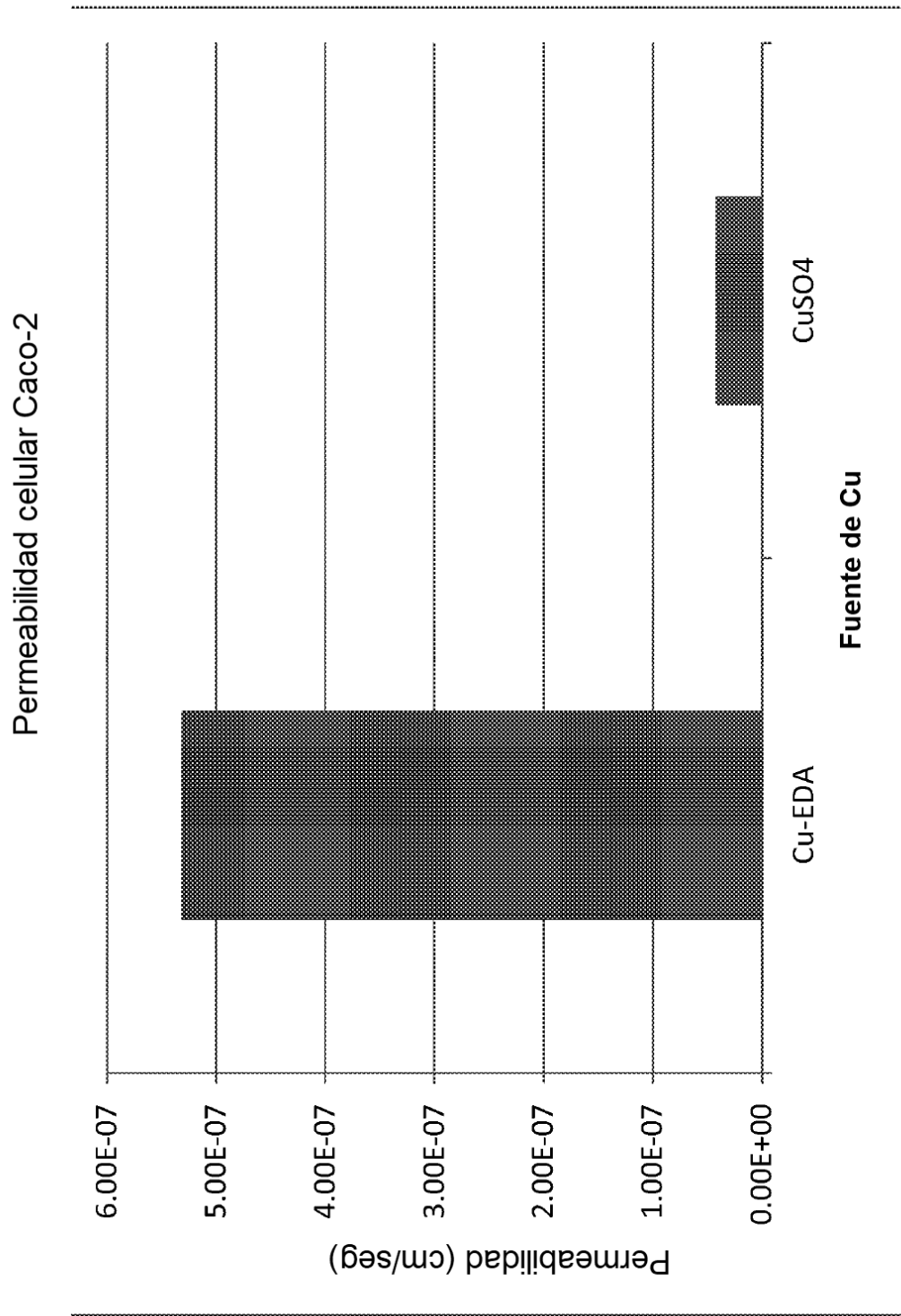


FIG. 1

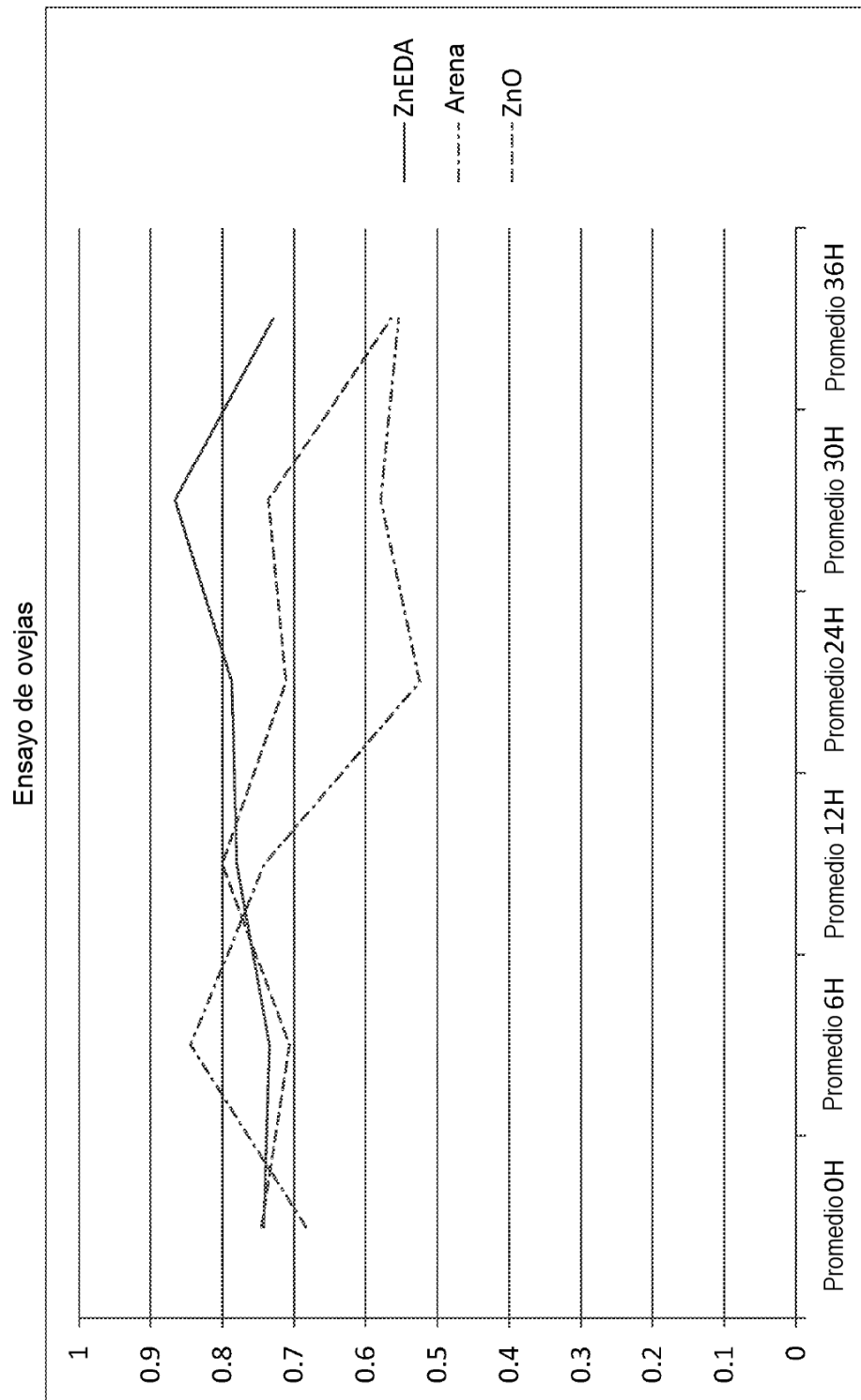


FIG. 2

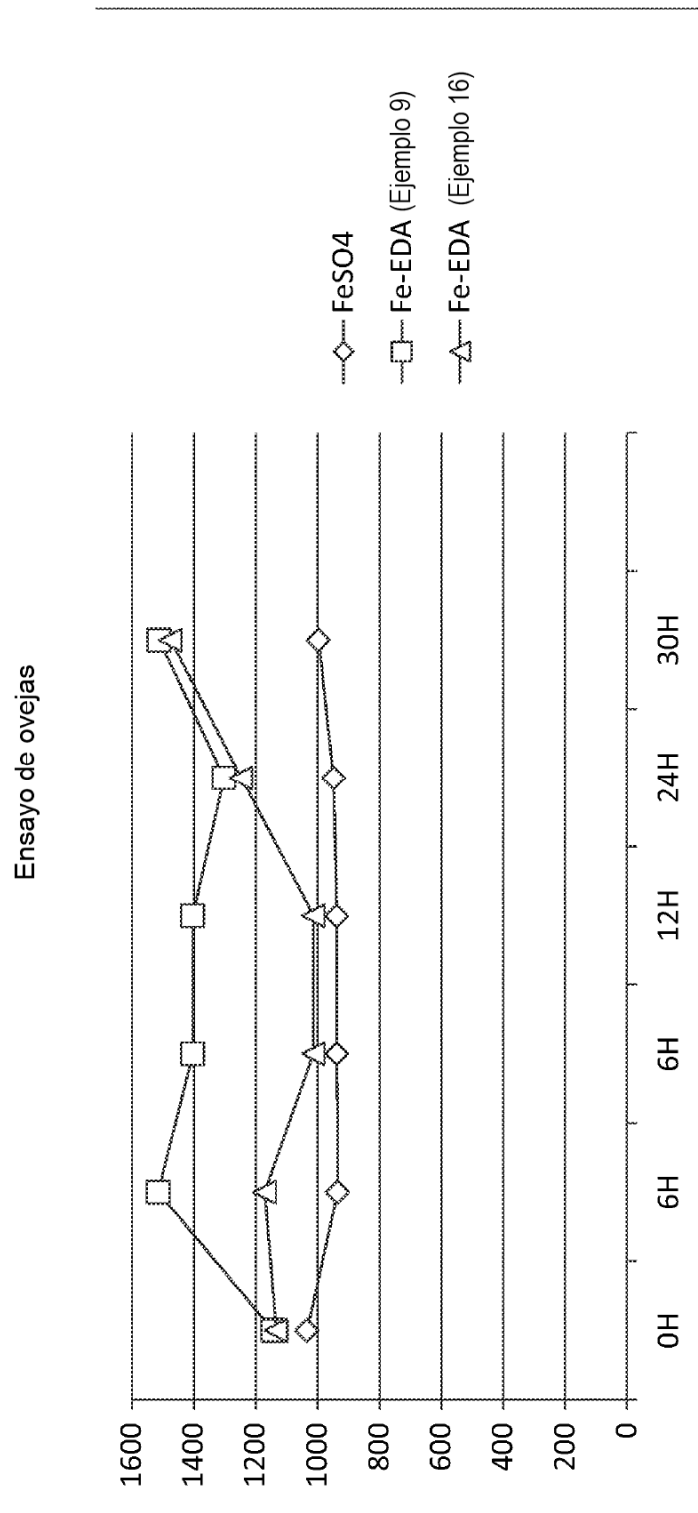


FIG. 3