



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 179**

51 Int. Cl.:
A23K 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **05741371 .8**

86 Fecha de presentación : **06.05.2005**

87 Número de publicación de la solicitud: **1748702**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **07.02.2007**

54 Título: **Pienso que contiene alcaloide o aditivo para pienso.**

30 Prioridad: **19.05.2004 AT A 882/2004**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2008

73 Titular/es: **Hermann Roth**
Kiedricher Strasse 35 c
65343 Eltville, DE

72 Inventor/es: **Roth, Hermann**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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

Pienso que contiene alcaloide o aditivo para pienso.

5 La presente invención se refiere a un pienso para promover el apetito y el rendimiento de animales de producción, conteniendo materias nutritivas convencionales tales como trigo o productos de trigo, maíz, proteínas y aminoácidos aromáticos, vitaminas, aditivos minerales, tales como sales, fosfatos, cal, enzimas y similares, así como a un aditivo para pienso para la fabricación de piensos de este tipo.

10 Los denominados promotores del rendimiento se utilizan con frecuencia durante la alimentación de animales de producción. Se trata de sustancias las cuales optimizan la absorción de la sustancia alimenticia en la panza o el intestino. Con ello se mejora el aprovechamiento del pienso y se reduce el consumo de pienso por kilogramo de aumento de peso. Se distingue entre promotores del rendimiento antibióticos, probióticos y químicos.

15 En los últimos tiempos, la utilización de promotores del rendimiento, en especial de promotores del rendimiento antibióticos y químicos, es rechazada cada vez más por los consumidores, aunque también por algunos expertos en la materia dado que, por un lado, se temen perjuicios para la salud humana a causa de los residuos de las sustancias utilizadas en los alimentos animales y, por el otro, la formación de resistencia contra microorganismos, en especial también microorganismos patógenos para el ser humano. Entre tanto, muchas de las sustancias utilizadas como promotores del
20 rendimiento están prohibidas como aditivos para piensos en diferentes países.

Por otro lado, cabe destacar que la utilización de promotores del rendimiento es recomendada por muchos criadores ya que estos medios no sólo fomentan el rendimiento del crecimiento animal, sino que mejoran también el estado de salud de los animales. Por consiguiente, la búsqueda de sustancias sustitutivas las cuales puedan sustituir a las
25 convencionales como promotores del rendimiento alternativos se ha convertido en el centro de interés.

Por el documento DE 43 03 099 se conoce la utilización de alcaloides de benzofenantridina como promotores del rendimiento. Estos alcaloides están contenidos, en especial, en la *Sanguinaria canadensis*, la cual sin embargo está disponible, como material vegetal natural, en un volumen limitado, de manera que estos alcaloides son relativamente
30 costosos.

Por el documento WO 02/21933 se ha dado a conocer la utilización de un alcaloide de protoberberina en combinación con un alcaloide de benzofenantridina como promotor del rendimiento y el apetito para animales de producción.

35 Sorprendentemente, se ha demostrado que los promotores del apetito y del rendimiento se pueden mejorar de manera significativa mediante la utilización de alcaloides de protopina, en especial α -alocriptopina.

La utilización de α -alocriptopina en la cría de animales no se conoce hasta ahora.

40 De acuerdo con una característica de la invención, se prevé un pienso del tipo mencionado al principio o un aditivo para pienso o principio(s) activo(s) para pienso para la fabricación de un pienso de este tipo, el cual contiene un alcaloide de protopina, en especial α -alocriptopina, en una cantidad efectiva como promotor del rendimiento y del apetito para animales de producción.

45 De acuerdo con otras características de la invención, el pienso o el aditivo para pienso puede contener un alcaloide de protopina, en especial α -alocriptopina, en combinación con por lo menos un alcaloide de benzofenantridina. Mediante la utilización de una combinación de alcaloides de este tipo se puede conseguir un efecto de sinergia inesperado.

Se supone que la α -alocriptopina es una sustancia hepatoprotectora. Existe bibliografía correspondiente acerca de su utilización en la medicina humana. Una combinación con los alcaloides de benzofenantridina parece digna de
50 consideración, dado que los sistemas de actuación deberían ser sinérgicos. Los alcaloides de benzofenantridina actúan en un grado pequeño de forma antimicrobiana y tienen una acción protectora sobre sustancias nutritivas tales como triptófano, lisina, etc. La α -alocriptopina protege el hígado y tiene una utilidad regenerativa supuesta la cual debería ser valiosa en especial en animales en crecimiento, durante la lactancia y en aves de corral, dado que en esos casos se
55 diagnostican con frecuencia problemas hepáticos clínicos (cerdos, cerdas, vaca lechera; toro de engorde) o aparecen a causa del síndrome de esteatosis hepática de manera estándar grandes problemas económicos y sanitarios (aves de corral de engorde, gallinas ponedoras).

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se pueden combinar ambos efectos, dado que un mejor suministro de aminoácidos esenciales ofrece al sistema de desintoxicación del hígado el sustrato necesario para que
60 entonces, mediante la combinación con la α -alocriptopina, este proceso y la totalidad del metabolismo hepático se vean fuertemente estimulados. Los procesos descritos pueden conducir, en último término, a una simbiosis sinérgica, la cual se caracteriza por valores de rendimiento mayores, una mejor salud, una mayor longevidad, una utilización reducida de medicamentos y un balance medioambiental, ecológico y empresarial asegurado.

65 De acuerdo con esta característica, la invención por consiguiente puede ir más allá de los efectos autónomos de las sustancias individuales, benzofenantridina o α -alocriptopina, utilizadas en cada caso y suponer un enorme progreso para la producción y para el consumidor.

De acuerdo con otra característica de la invención, el alcaloide de protopina y/o el alcaloide de benzofenantridina se puede utilizar en forma de material vegetal, como jugo de plantas prensadas o en forma de extractos de material vegetal. Por ejemplo, la α -alocriptopina se puede utilizar en forma de material vegetal de la *Macleaya cordata* o como extracto de ella. Los extractos utilizables en la presente invención se pueden obtener según cualquier procedimiento conocido, y se pueden utilizar, por ejemplo, extractos acuosos y/o alcohólicos y/o extractos de CO₂.

Evidentemente, el alcaloide de protopina utilizado así como el/los alcaloide(s) de benzofenantridina se pueden utilizar tanto como alcaloides aislados o mezclas de alcaloides así como también en forma de sus derivados o análogos sintéticos.

Se pueden utilizar también mezclas discrecionales de material vegetal, jugo de plantas prensadas, extractos de material vegetal, alcaloides aislados, sus derivados y sus análogos sintéticos.

La cantidad de alcaloide contenida en el pienso está limitada hacia abajo únicamente por la efectividad. La cantidad total de alcaloide por tonelada de pienso está preferentemente en el margen de 1 mg a 100 g.

Las ventajas del pienso o del aditivo para pienso fabricado según la invención, que presenta alcaloides de protopina, preferentemente α -alocriptopina, en especial en combinación con alcaloides de benzofenantridina, se justifican mediante las siguientes observaciones:

- El hígado de los animales de compañía y útiles, a los que se suministra este pienso, está claramente más sano que en animales de los grupos de control correspondientes.
- El hígado de los animales de experimentación tiene un peso en % de la masa corporal menor, dado que se almacena menos grasa y otros tejidos. Esto debe valorarse positivamente dado que indica un menor “estrés del hígado”.
- Los animales de experimentación muestran una ingesta de pienso claramente mayor que los grupos de control, debiendo indicarse, por un lado, que este efecto va esencialmente más allá del nivel del efecto de las sustancias aromáticas y que, por el otro, hay que partir de que este efecto beneficioso se debe atribuir a una mejor salud del aparato digestivo de los animales de experimentación, en especial a una salud mejorada del hígado.
- Gracias a la ingesta mejorada de pienso se muestra, globalmente, un rendimiento mejorado de los animales de experimentación así como una situación de defensa más favorable contra el estrés y las enfermedades debido a una salud hepática mejorada.
- El contenido en triptófano de la sangre de la vena porta de los animales de experimentación está claramente mejorado con respecto al de los animales de control, lo que indica de nuevo un efecto hepatoprotector y por consiguiente una salud hepática mejorada.

Las ventajas de la presente invención se explican a continuación a partir de los ejemplos y del dibujo adjunto, siendo la Fig. 1 una representación gráfica de los efectos sobre los parámetros de rendimiento y de los cuerpos de matanza, obtenidos con la ayuda de un pienso que contiene alcaloides según la presente invención, en el caso de cerdos de engorde.

Ejemplo 1

Fragmentos de planta peletizados de la *Macleaya cordata* fueron pulverizados y extraídos, con metanol acidificado (0,1% HCl), durante 12 horas en un extractor Soxhlet.

El extracto fue analizado mediante HPLC. El análisis HPLC se llevó a cabo en un aparato Shimadzu class VP, dotado con un detector UV SPD-10Avp y un detector fluorimétrico RF-10Ax1, con la utilización de una columna de inversión de fases Purospher® Star RP-18. La fase móvil era 1-heptan-ácido sulfónico/trietilamina en 25% de acetonitrilo con un gradiente con un 40% de acetonitrilo. La detección tuvo lugar mediante UV a 285 nm o mediante fluorometría a 327 nm de excitación/577 nm de emisión. Las soluciones de referencia de alcaloides se utilizaron en la fase móvil como estándar externo. Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado. Los resultados de los análisis respecto de los alcaloides directrices están recogidos en la Tabla 1.

Ejemplo 2

Un extracto de *Macleaya cordata*, obtenido mediante extracción acuosa etanólica, fue disuelto con una concentración de 1 mg/ml en metanol. La disolución fue sometida a un análisis HPLC. Antes del análisis fue diluida con la fase móvil. El análisis HPLC tuvo lugar como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los resultados del análisis respecto de los alcaloides directrices están recogidos en la Tabla 1.

Ejemplo 3

Otro extracto de *Macleaya cordata*, obtenido mediante extracción acuosa etanólica, fue disuelto con una concentración de 1 mg/ml en metanol. La disolución fue sometida a un análisis HPLC. Antes del análisis fue diluida con la fase móvil. El análisis HPLC tuvo lugar como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los resultados del análisis respecto de los alcaloides directrices están recogidos en la Tabla 1.

Ejemplo 4

En este ejemplo se analizó un aditivo para pienso el cual constaba de un 95% de fragmentos de planta de *Macleaya cordata* secados y un 5% de extracto de *Macleaya cordata*. La muestra fue extraída con metanol acidificado (0,1% HCl) durante 12 horas en un extractor Soxhlet. El extracto fue analizado mediante HPLC, como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados del análisis respecto de los alcaloides directrices están recogidos asimismo en la Tabla 1.

TABLA 1

	<i>Macleaya cordata</i> Fragmentos de planta (Ejemplo 1) (mg/g)	<i>Macleaya cordata</i> Extracto (Ejemplo 2) (mg/g)	<i>Macleaya cordata</i> Extracto (Ejemplo 3) (mg/g)	Aditivo para pienso (Ejemplo 4) (mg/g)
α -alocriptopina	6,8 $\pm$ 0,3	21 $\pm$ 4	6 $\pm$ 3	15,33
sanguinarina	6,5 $\pm$ 0,3	402 $\pm$ 19	213 $\pm$ 9	16,5
celeritrina	4,7 $\pm$ 0,3	125 $\pm$ 7	102 $\pm$ 6	9,33

Ejemplo 5

Fueron alojados cochinos de engorde en dos secciones de establo en grupos de a dos, del mismo sexo. Los animales fueron subdivididos en dos grupos de experimentación.

Los cochinos recibieron un pienso convencional compuesto por trigo, cebada, grano de soja HP, sustancias minerales, oligoelementos, vitaminas y aminoácidos, habiéndose añadido al pienso del grupo de experimentación 1 alcaloides de benzofenantridina y al pienso del grupo de experimentación 2 α -alocriptopina en combinación con alcaloides de benzofenantridina. La dosificación de los principios activos se recoge en la Tabla 2. El aditivo, el cual fue añadido al pienso del grupo de experimentación 2, contenía alcaloides de benzofenantridina y α -alocriptopina en una relación de aproximadamente 3:1.

TABLA 2

Grupo de experimentación	Alcaloides añadidos	Dosificación de los principios activos
1	alcaloides de benzofenantridina	0,5 mg/kg
2	α -alocriptopina + alcaloides de benzofenantridina	0,8 mg/kg

ES 2 307 179 T3

Los animales fueron pesados al inicio y al final del experimento semanalmente así como durante la duración del experimento cada 14 días. Tres de los animales quedaron eliminados durante el período de engorde. Los resultados del experimento de engorde desde 30 a 105 kg de peso *in vivo* están recogidos en la Tabla 3.

TABLA 3

Grupo de experimentación	1	2
Alcaloides en el pienso	Alcaloides de benzofenantridina	α -alocriptopina + alcaloides de benzofenantridina
Duración del engorde, días	86,3	81,6
Ingestión de pienso, kg/día	2,09	2,21
Crecimiento, g/día	874	931
Aprovechamiento del pienso, kg	2,39	2,38
Porción de carne, %	59,9	59,3
Número de calidad de la carne, puntos	53,5	54,3

Como se ve sobre la base de la Tabla 3, el nivel de rendimiento de engorde de los animales es muy alto. El grupo de experimentación 2 presentó ingesta de pienso más elevada. El grupo de experimentación 1 presentó un menor crecimiento por día, es decir 57 g menos que el grupo de experimentación 2. Estos 57 g corresponden, durante un engorde de 30 kg a 105 kg, aproximadamente a 5 días de engorde.

El grupo de experimentación 2, alimentado con un pienso según la invención, presentó las ingestas de pienso y crecimientos diarios mayores. Esto constituye un indicio de mucho apetito, el cual debe atribuirse a una salud hepática mejorada. El número de calidad de la carne, con 54,3, es en este grupo de experimentación mayor e indica asimismo una síntesis de proteínas más eficiente en el hígado.

Ejemplo 6

En dos procesos de experimentación se estudió en cada caso en 12 x 7 pollos (Ross 308) la influencia de 25, 50 ó 100 ppm de aditivo para pienso que contenía alcaloide. El pienso era un pienso usual en el comercio para el engorde de pollos, al que se añadieron 0, 25, 50 ó 100 ppm de aditivo que contenía alcaloide. Este aditivo constaba de una mezcla de rizomas molidos de *Sanguinaria canadensis* y fragmentos de planta de *Macleaya cordata* y contenía aproximadamente 1,5% de sanguinarina, 0,8% de celeritrina y 0,35% de α -alocriptopina. Los datos de análisis del pienso que contiene alcaloides según la invención están recogidos en la Tabla 4.

TABLA 4

Datos de análisis del pienso que contiene alcaloides según la invención así como del pienso de control

Contenido en aditivo	0 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm
α -alocriptopina (ppb)	0	230	465	856
alcaloides de benzofenantridina (ppb)	0	1013 $\pm$ 25	1963 $\pm$ 60	3850 $\pm$ 85
Sustancia seca (%)	87,9 $\pm$ 0,6	88,1 $\pm$ 0,7	88,0 $\pm$ 1,0	88,3 $\pm$ 0,3
Contenido por kg (para 890 g de sustancia seca)				
ceniza (g)	60 $\pm$ 1,2	60 $\pm$ 1,9	59 $\pm$ 2,0	50 $\pm$ 1,9
proteína bruta (g)	199 $\pm$ 3,2	200 $\pm$ 3,6	200 $\pm$ 1,0	200 $\pm$ 5,1
grasa (Soxhlet) (g)	63 $\pm$ 1,5	64 $\pm$ 2,4	63 $\pm$ 1,5	62 $\pm$ 1,7
fibra (g)	28 $\pm$ 2,1	26 $\pm$ 2,0	27 $\pm$ 0,7	27 $\pm$ 1,0
Energía total (MJ)	17,4 $\pm$ 0,2	17,4 $\pm$ 0,1	17,4 $\pm$ 0,2	17,4 $\pm$ 0,1

ES 2 307 179 T3

La Tabla 5 muestra los parámetros de crecimiento y de cuerpo de matanza.

TABLA 5

Contenido en aditivo	0 ppm Ø rel ⁽¹⁾		25 ppm Ø rel		50 ppm Ø rel		100 ppm Ø rel	
Peso corporal (= BM) en día 1 (g)	46	100	47	101	46	99,1	46	100
BM el día 40 (g)	2488	100	2464	99,0	2526	101,5	2474	99,5
Aumento de peso diario (g)	62,6	100	62,0	99,0	63,6	101,6	62,3	99,5
Pienso por día (g)	103	100	99	96,3	102	99,5	102	99,6
Pienso por kg de BM (kg)	1,64	100	1,60	97,6	1,61	98,2	1,64	100
Peso de matanza (g)	1799	100	1774	98,6	1834	101,9	1766	98,1
Rendimiento de carcasa (%)	72,1	100	72,0	99,9	72,6	100,7	71,4	99,0
Color del hígado ⁽²⁾	1,19	100	1,06	89	1,05	88	1,07	90
Agua al día (ml)	202	100	202	100	197	97,4	196	97,2
Agua: pienso (ml/g)	1,97	100	2,05	104	1,92	97,5	1,92	97,5
(1) Ø = media; rel = valor relativo (en %)								
(2) 1 = rojo oscuro (sano), 2 = amarillento (enfermo, esteatosis hepática, hepatitis)								

Los parámetros indicados en la Tabla 5 muestran que el peso de matanza fue el mayor, en comparación con el grupo de control, en el grupo de experimentación al que se suministró un pienso con 50 ppm de aditivo que contenía alcaloides. El aprovechamiento del pienso se mejoró en los grupos de experimentación a los que se suministró pienso con 25 ó 50 ppm de aditivo. Estos resultados no fueron estadísticamente significativos, dado que únicamente se disponía de cuatro grupos de experimentación y el experimento tuvo lugar con un nivel de rendimiento muy elevado. Para un número de grupos mayor de, por ejemplo, 10 repeticiones se podría haber fijado estadísticamente el resultado.

En todos los grupos de experimentación los animales tuvieron un hígado más oscuro que los pollos del grupo de control, lo que constituye una indicación clara del efecto hepatoprotector del pienso según la invención.

En el marco de esta serie experimental se estudiaron también el aprovechamiento de la energía, el almacenamiento de nitrógeno así como el contenido en sustancia seca de los excrementos. Los resultados se recogen en la Tabla 6.

TABLA 6

Contenido en aditivo	0 ppm Ø rel ⁽¹⁾		25 ppm Ø rel		50 ppm Ø rel		100 ppm Ø rel	
Aprovechamiento de la energía	0,77	100	0,78	101	0,78	101	0,77	100
Almacenamiento de nitrógeno	0,60	100	0,62	103	0,61	102	0,60	100
Contenido en sustancia seca de los excrementos (%)	28,9	100	29,2	101	29,0	100	29,3	101
(1) Ø = media; rel = valor relativo (en %)								

Los grupos de experimentación a cuyo pienso se añadieron 25 ó 50 ppm de aditivo que contenía alcaloides, mostraron como tendencia un mejor aprovechamiento de la energía y almacenamiento de nitrógeno. El contenido en energía medido del pienso, 17,4 MJ/kg, junto con el aprovechamiento de la energía de 0,77 a 0,78, conduce a un contenido en energía metabolizable en el pienso de 13,43 a 13,62 MJ/kg. Los excrementos de todos los grupos de experimentación mostraron un elevado contenido en sustancia seca, no existiendo apenas diferencias entre los grupos de experimentación.

Ejemplo 7

La influencia de la α -alocriptopina los alcaloides de benzofenantridina sobre parámetros escogidos del aprovechamiento de la proteína para alimentación estandarizada

Este ejemplo muestra la influencia del pienso que contiene α -alocriptopina y alcaloides de benzofenantridina sobre parámetros de las proteínas. Se muestra que la invención tiene lugar, mediante una inhibición irreversible de la AAD (decarboxilasa de aminoácidos aromáticos) mediante alcaloides de benzofenantridina tiene lugar *in vivo* y se mejora así la alimentación de los animales con sustancias nutritivas esenciales como triptófano o fenilalanina, y también de otros aminoácidos esenciales o se dan posibilidades de ahorro en la utilización de estas sustancias nutritivas en el pienso comercial mediante la utilización de estos alcaloides, que no se conocían ni se podían utilizar de este modo hasta ahora.

Dos grupos con 6 cerdos castrados se criaron en pocilgas. Al principio del experimento (día 0) el peso corporal medio de los animales del grupo de control era de $36,08 \pm 3,79$ kg y el de los animales del grupo de experimentación de $36,02 \pm 3,74$ kg. Los animales de ambos grupos fueron alimentados tres veces al día con el pienso indicado en la Tabla 7, conteniendo sin embargo el pienso del grupo de experimentación α -alocriptopina y alcaloides de benzofenantridina, en especial sanguinarina y celeritrina, y ello en forma de 30 ppm de un aditivo realizado en material vegetal de *Sanguinaria canadensis* y de *Macleaya cordata*. El contenido en principio activo fue del 2,2% de alcaloides de benzofenantridina y 0,1% de α -alocriptopina.

TABLA 7

Composición del pienso y valor nutritivo

Cebada	64,0 %	Proteína bruta	16,5 %
Grano de soja	18,9 %	Energía metabolizable	14,0 MJ/kg
Aceite de soja	7,9 %	Fibra bruta	5,0 %
Salvado de trigo	6,4 %	Ceniza bruta	5,5 %
Otros componentes	2,8 %	Grasa bruta	9,8 %
Total	100,0 %	Lisina	0,9 %
		Metionina/cisteína	0,5 %
		Treonina	0,6 %
		Triptófano	0,2 %
		Fósforo	0,6 %
		Sodio	0,1 %
		Calcio	0,9 %

Los animales tenían libre acceso a agua potable, aunque durante la fase de adaptación (día 33-39), en la cual los animales se mantenían individualmente en una jaula de metabolismo, y durante los experimentos de balance N llevados a continuación (día 40-49), se dió tras la alimentación únicamente agua hasta la saciedad.

Se tomaron muestras de orina una vez al día y muestras de excrementos tres veces al día. En los días 42 y 49 se tomaron muestras de sangre de la vena de la oreja para la determinación de nivel de amonio y de urea.

Al final del experimento el peso corporal medio de los animales del grupo de experimentación era algo mayor ($76,27 \pm 5,11$ kg) que el de los animales del grupo de control ($75,09 \pm 7,42$ kg). Se observó algo parecido en el aumento de peso diario. Fue, para el grupo de experimentación, de $821,3 \pm 44,7$ g y para el grupo de control de $796,1 \pm 86,2$ g. Al mismo tiempo la ingesta diaria de pienso era igual para ambos grupos mediante alimentación racionada, lo que era el objetivo del experimento: el grupo de experimentación: $1775,9 \pm 91,5$ g; el grupo de control $1770,8 \pm 120,3$ g. El aprovechamiento del pienso fue mejor en el grupo de experimentación, con $2,196 \pm 0,094$, que en el grupo de control, $2,237 \pm 0,173$.

El estudio del balance N, establecido sobre fundamentos científicos sobre la base de un peso corporal metabólico (la masa corporal^{0,75} corresponde a la denominada masa corporal metabólica, con lo cual el metabolismo de un elefante se hace comparable, sobre una base científica, al de un ratón) corregido y por consiguiente comparable, demostró que las ingestas N en el grupo de control ($2,057 \pm 0,011$ g/W^{0,75}/día) y en el grupo de experimentación ($2,062 \pm 0,010$ g/W^{0,75}/día) estaba al mismo nivel, lo que venía dado de manera forzada por el suministro de pienso racionado. También la medición de la excreción N en las heces dio valores casi iguales para el grupo de control y el de experimentación, o sea, $0,360 \pm 0,023$ g/W^{0,75}/día o $0,370 \pm 0,044$ g/W^{0,75}/día.

En el caso de la excreción N en la orina se encontraron sin embargo diferencias claras, o sea $0,774 \pm 0,094$ g/W^{0,75}/día en el grupo de experimentación en comparación con $0,860 \pm 0,135$ g/W^{0,75}/día en el grupo de control. Esto demuestra que en el grupo de experimentación la pérdida N se había reducido claramente un 11%. Estos datos demuestran que el medio según la invención conduce a un aprovechamiento mejorado de la totalidad de la proteína suministrada del pienso, lo que es objeto de la invención y tiene una gran utilidad económica e importancia medioambiental.

Estos datos son apoyados por la retención N, es decir la implantación de proteína en el cuerpo del animal, que en el grupo de control fue de $0,837 \pm 0,133$ g/W^{0,75}/día y en el grupo de experimentación de $0,918 \pm 0,084$ g/W^{0,75}/día, con lo cual la invención conduce a una retención un 10% mayor, lo que debe identificarse con un aprovechamiento un 10% mejorado de la proteína del pienso y de las plantas proteínicas, con lo cual se mejora la calidad de la alimentación y se reduce la carga con nitrógeno de las aguas freáticas el 10% indicado.

La digestibilidad N aparente no parece verse afectada por el pienso que contiene α -alocriptopina y alcaloides de benzofenantridina. Los porcentajes calculados fueron del $82,53 \pm 1,10\%$ para el grupo de control y de $82,07 \pm 2,06\%$ para el grupo de experimentación. Los datos del aprovechamiento N muestran sin embargo con claridad valores aumentados un 10% para el grupo de experimentación ($44,52 \pm 4,24\%$) en comparación con el grupo de control ($40,73 \pm 6,63$) con lo cual está demostrado el efecto, que tiene lugar *in vivo*, de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina sobre la implantación de la proteína y el aprovechamiento de la proteína en el organismo del animal.

Como se puede deducir de la siguiente Tabla 8, el contenido en alcaloide del pienso no tiene influencia alguna sobre el desarrollo del contenido en amonio en las muestras de sangre, que se tomaron en dos días con un intervalo de una semana durante la fase de los experimentos de balance N, si bien dio un nivel de urea claramente inferior en la sangre de los animales de experimentación. Valores de urea inferiores son un signo claro de un aprovechamiento mejorado de la proteína absorbida del pienso y de un menor esfuerzo del hígado para la desintoxicación del nitrógeno venenoso de la proteína del pienso no aprovechada. Este efecto útil no se alcanzó con la adición únicamente de alcaloides de benzofenantridina, sino que resultó de su combinación con el alcaloide α -alocriptopina. Un mayor número de animales por grupo hubiese conducido aquí a resultados significativos.

TABLA 8

Influencia del pienso que contiene alcaloides sobre el nivel de amonio y urea en sangre (n = 6)

	Amonio [μ mol/ml]		Urea [mmol/ml]	
	Día 42	Día 49	Día 42	Día 49
Grupo de control	$48,33 \pm 5,05$	$39,17 \pm 7,98$	$3,87 \pm 0,74$	$3,88 \pm 0,99$
Grupo de experimentación	$41,17 \pm 3,76$	$39,17 \pm 3,97$	$2,92 \pm 0,36$	$3,00 \pm 0,24$

Se demuestra que la adición de α -alocriptopina y de alcaloides de benzofenantridina al pienso tiene efectos claramente positivos con respecto a los parámetros de rendimiento estudiados, siendo el más fuerte el efecto sobre el aprovechamiento del pienso. Se muestran diferencias claras con respecto al experimento de balance N así como al nivel de amonio y urea en sangre, los cuales no estaban afianzados estadísticamente a causa del reducido número de animales. Los valores reducidos de amonio y de urea en sangre constituyen una prueba de que los animales aprovechan mejor la proteína ingerida y, por consiguiente, de un mejor funcionamiento del hígado. El desplazamiento observado hacia un ahorro de nitrógeno, que es una indicación del efecto sobre el metabolismo de las proteínas, puede confirmar que la inhibición de la AAD mediante alcaloides de benzofenantridina tiene lugar *in vivo* y tiene una gran utilidad económica.

Ejemplo 8

La influencia de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina en el pienso sobre la ingesta de pienso en cerdos para engorde con acceso sin limitación al pienso (alimentación a voluntad)

ES 2 307 179 T3

Se alimentaron 12 cerdos castrados en pocilgas separadas en grupos de a dos. Al grupo de control se le suministró el pienso indicado en la Tabla 9. El grupo de experimentación recibió este pienso dotado con 30 ppm del aditivo mencionado en la Tabla 7, formado por sanguinarina, celeritrina y α -alocriptopina.

TABLA 9

Composición del pienso (energía metabolizable: 13,5 MJ/kg; 18% proteína bruta)

Componente	%
Maíz	51
Cebada	21
Grano de soja	11
Harina de pescado	8
Gluten de maíz	6
Premezcla vitamina/mineral	3
Lisina	0,24
Treonina	0,18
Triptófano	0,07
Metionina	0,07

La Tabla 10 que viene a continuación muestra el resultado de este experimento.

TABLA 10

Influencia del contenido en alcaloide del pienso sobre la ingesta de pienso y el crecimiento en caso de cerdos para engorde (valor medio $\pm$ desviación estándar; n = 6)

	Grupo de control	Grupo de experimentación
Peso de partida, kg	35,8 $\pm$ 1,5	35,5 $\pm$ 0,8
Peso final, kg	43,8 $\pm$ 1,5	43,8 $\pm$ 1,0
Ingesta de pienso, g/día	1779 $\pm$ 102	1834 $\pm$ 68
Aumento de peso diario, g/día	1008 $\pm$ 80	1047 $\pm$ 63
Aprovechamiento del pienso, g/g	1,8 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,1

Aunque la ingesta de pienso en el grupo de control era relativamente grande, se mejoró aún en el grupo de experimentación mediante α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina. En caso de alimentación a voluntad se observó en el grupo de experimentación una ingesta de pienso aproximadamente un 4% mayor. Esto se atribuye a mayor absorción de triptófano. A causa de la inhibición de la decarboxilasa de aminoácidos aromáticos (AAD) mediante los alcaloides de benzofenantridina y al efecto hepatoprotector del alcaloide de α -alocriptopina está a disposición, por un lado, más triptófano para una mayor producción de serotonina, que actúa estimulando el apetito, y, por el otro, gracias a un hígado más sano y con un mayor rendimiento se estimula asimismo el apetito y las ganas de comer. Por consiguiente, el pienso según la invención conduce, a través de la protección de aminoácidos y sustancias nutritivas esenciales, a un aprovisionamiento mejorado y económico del animal con sustancias nutritivas esenciales las cuales, en caso contrario, deben darse mediante una mayor mezcla de pienso con unos costes claramente mayores, y mejora además, gracias a la acción hepatoprotectora de la α -alocriptopina, la salud del animal.

En el grupo de experimentación se observó, en comparación con el grupo de control, un aumento del aumento de peso diario. Durante el estudio no se observó una influencia del contenido en alcaloide del pienso sobre el aprovechamiento del pienso, dado que el pienso ingerido adicionalmente se usó para un mayor crecimiento.

Ejemplo 9

La influencia de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina en el pienso sobre el nivel de triptófano y de lisina en plasma

Este ejemplo estudia la influencia de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina sobre el nivel en plasma de los aminoácidos esenciales triptófano y lisina en el caso de cerdos para engorde. Hay que demostrar que los alcaloides de benzofenantridina, tales como sanguinarina y celeritrina, en relación con α -alocriptopina que desintegra aminoácidos esenciales, inhiben de forma irreversible enzimas bacterianos indeseados, con lo cual se dispone para la absorción de más sustancias nutritivas esenciales como aminoácidos esenciales (triptófano, lisina, metionina). El estudio debe demostrar si la descomposición indeseada reducida de aminoácidos esenciales conduce entonces, según la invención, a valores más altos *in vivo* en sangre, los cuales están más tarde a disposición para el crecimiento y rendimiento o se pueden ahorrar mediante utilización reducida en el pienso.

Se criaron 12 cerdos castrados separados en jaulas de metabolismo. El grupo de control y el grupo de experimentación comprendían en cada caso 6 animales. La composición del pienso fue para el grupo de control y el de experimentación en cada caso como en el Ejemplo 8. Con el fin de hacer posible una comparación directa de los resultados, se alimentó de manera restrictiva, o sea fijada a 95 g/kg de peso corporal metabólico ($BW^{0,75}$).

La fase de adaptación de los animales fue de 10 días, la fase de experimentación que vino a continuación fue de 7 días. El último día se tomaron, antes de la alimentación y una hora después de la alimentación, muestras de sangre para el análisis de triptófano y lisina.

Como se puede ver sobre la base de la Tabla 11, los experimentos demuestran, con vistas al aumento de peso diario y el aprovechamiento del pienso, mejores resultados para el grupo de experimentación que para el grupo de control.

TABLA 11

Efecto de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina en el pienso sobre el rendimiento del crecimiento de cerdos para engorde (valor medio $\pm$ desviación estándar, $n = 6$)

	Grupo de control	Grupo de experimentación
Peso de partida, kg	37,0 $\pm$ 0,6	36,5 $\pm$ 0,2
Peso final, kg	45,3 $\pm$ 0,9	44,9 $\pm$ 1,2
Aumento de peso diario, g/día	828 $\pm$ 25	841 $\pm$ 28
Aprovechamiento del pienso	1,86 $\pm$ 0,06	1,84 $\pm$ 0,06

El estudio de la concentración, pre- y posprandial, de triptófano y lisina en plasma demostró para ambos grupos un aumento significativo. La concentración, pre- y posprandial, de triptófano y lisina en plasma fue en el grupo de experimentación significativamente mayor que en el grupo de control. Esto demuestra que la inhibición de las decarboxilasas de aminoácido mediante los alcaloides de benzofenantridina, en especial sanguinarina, y α -alocriptopina tiene lugar *in vivo*, que el triptófano "protegido" y la lisina son disponibles activos en el intestino delgado para la absorción y que el pienso que contiene α -alocriptopina y alcaloides de benzofenantridina hace posible un mejor aprovechamiento del triptófano y la lisina en el pienso.

Ejemplo 10

Influencia de la α -alocriptopina los alcaloides de benzofenantridina sobre cerdas que dan de mamar y la capacidad de cría, producida por una mayor ingesta de pienso y una mayor disponibilidad de sustancia nutritiva *in vivo* gracias los efectos, mostrados en los ejemplos 7 a 9, del pienso según la invención.

Este ejemplo muestra la influencia de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenantridina en el pienso sobre la ingesta de pienso por parte de cerdas que dan de mamar y sobre el rendimiento de las cerdas y de sus crías durante la lactancia.

106 cerdas (72 cruzadas Landrace x Large White, 34 Leicoma) en la primera a novena paridad ($3,6 \pm 0,2$, valor medio $\pm$ desviación estándar) fueron alojadas de acuerdo con sus paridades. Todos los animales recibieron el mismo pienso maíz-soja (energía metabolizable 13,8 MJ/kg; 17,5% XP), añadiéndose a este pienso, en el caso de los dos grupos de experimentación, 30 ó 50 ppm del aditivo mencionado en el Ejemplo 8. El suministro de este pienso se inició 4 días antes del nacimiento de los lechones y finalizó el día 20 después (destete).

Con respecto a la ingesta de pienso se observó en los grupos de experimentación un aumento menor en comparación con el grupo de control. También la tasa de supervivencia de los lechones, medida el día 20, no se vio influenciada por el contenido en alcaloide. En la comparación con cerdas mayores con tres o más nacimientos no se mostraron diferencias en el aumento de peso de las crías.

Sin embargo, cuando se comparan las cerdas primíparas con las cerdas con el segundo nacimiento en comparación con el grupo de experimentación con alcaloides de benzofenatridina y α -alocriptopina, el panorama es completamente distinto. Se muestran incrementos significativos en el aumento de peso de las crías de los grupos de experimentación en comparación con el grupo de control. Por lo tanto se puede llegar a la conclusión de que la adición de α -alocriptopina y alcaloides de benzofenatridina al pienso influye positivamente sobre el aumento de peso de los lechones en caso de cría de cerdas primíparas durante la lactancia.

Gracias a la inhibición de la ADD se dispone de más triptófano, que conduce a una ingesta de pienso mayor por parte de las cerdas. Esto, en relación con más lisina como sustancia nutritiva esencial para la síntesis de proteínas, da lugar de nuevo a una mayor producción de leche, la cual tiene por su parte un efecto positivo sobre el crecimiento de los lechones.

Ejemplo 11

Influencia de la α -alocriptopina y los alcaloides de benzofenatridina en el pienso sobre los parámetros de rendimiento y de cuerpo de matanza de cerdos para engorde

Los componentes del pienso (energía metabolizable 13,8 MJ/kg; 1,00% de lisina) fueron:

Cebada	46 %
Trigo	35,40 %
Grano de extracción de soja	11,40 %
Harina de pescado	2,21 %
Aceite de soja	2,00 %
Cal forrajera	1,00 %
Fosfato de calcio bibásico	0,74 %
Sal	0,25 %
Premezcla: oligoelementos + vitaminas	1,00 %

Al pienso del grupo de experimentación se le añadieron 30 ppm de un aditivo, formado por material vegetal de *Sanguinaria canadensis* y de *Macleaya cordata*. Los alcaloides directrices contenidos en ellas son, principalmente, sanguinarina y celeritrina, así como α -alocriptopina. Todos los animales fueron alimentados dos veces al día, semi a voluntad, y tenían siempre acceso libre al agua.

El peso corporal medio al inicio y al final de los experimentos fue el siguiente:

	Grupo de control		Grupo de experimentación	
	Inicio	Fin	Inicio	Fin
Experimento	30,1 $\pm$ 0,5	100,9 $\pm$ 7,4	30,3 $\pm$ 0,9	100,4 $\pm$ 5,4

En este experimento no se mostraron diferencias entre el grupo de control y el grupo de experimentación en cuanto al aumento de peso, la ingesta de pienso y el aprovechamiento del pienso. De todos modos algunos de los parámetros de cuerpo de matanza del grupo de experimentación fueron claramente mejores que los del grupo de control, en especial se determinó de forma significativa más carne muscular así como significativamente un menor grosor de grasa dorsal.

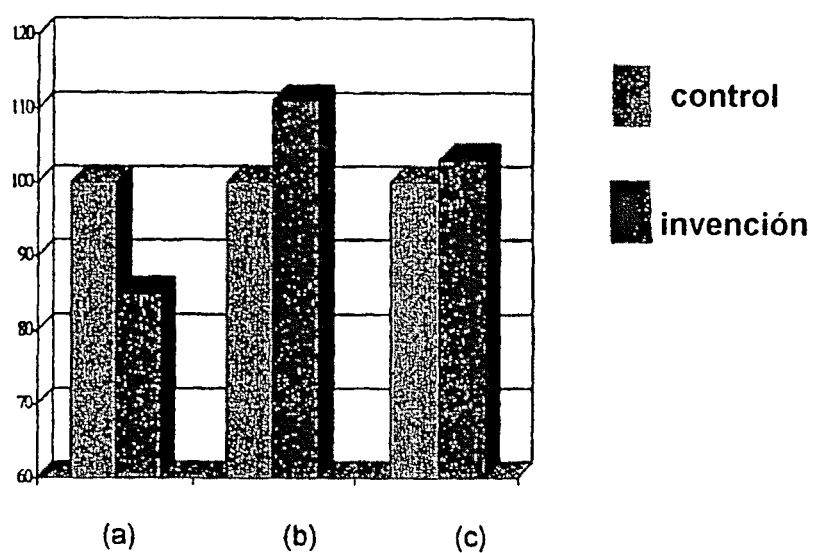
Los resultados del experimento están representados en la Fig. 1. Las barras oscuras representan los resultados para el grupo de control, las barras oscuras rayadas los del grupo de experimentación. La Figura 1 muestra los resultados significativamente positivos de la calidad de cuerpo de matanza, tales como grosor significativamente reducido e la grasa dorsal y superficie de músculo mejorada en la costilla, los cuales se pueden conseguir mediante piensos que contienen alcaloides según la invención.

Se ha demostrado que existe una relación entre la implantación de carne magra y el triptófano y la lisina disponibles, es decir, que la utilización del pienso que contiene alcaloides conduce, gracias a la optimización del balance de los aminoácidos esenciales, a un balance de proteínas mejorado y, como consecuencia, a más carne magra y más albúmina láctea.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Pienso, que contiene materias nutritivas convencionales, tales como trigo o productos de trigo, maíz, proteínas y aminoácidos esenciales, vitaminas, aditivos minerales, tales como sales, fosfatos, cal, enzimas y similares, o aditivo para pienso destinado a la fabricación de piensos de este tipo, **caracterizado** porque el pienso o el aditivo para pienso contiene un alcaloide de protopina, en particular α -alocriptopina, en una cantidad eficaz como promotor del rendimiento y del apetito para animales de producción.
- 10 2. Pienso o aditivo para pienso según la reivindicación 1, **caracterizado** porque contiene un alcaloide de protopina, en particular α -alocriptopina, en combinación con por lo menos un alcaloide de benzofenantridina.
3. Pienso o aditivo para pienso según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la α -alocriptopina y/o el alcaloide de benzofenantridina se utilizan en forma de material vegetal o como jugo de plantas prensadas.
- 15 4. Pienso o aditivo para pienso según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la α -alocriptopina y/o el alcaloide de benzofenantridina se utilizan en forma extractos de material vegetal.
- 20 5. Pienso o aditivo para pienso según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la α -alocriptopina se utiliza en forma material vegetal de *Macleaya cordata* o como extracto de la misma.
6. Pienso o aditivo para pienso según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la α -alocriptopina y/o el alcaloide de benzofenantridina se utilizan en forma de alcaloides aislados o de mezclas de alcaloides y/o en forma de sus derivados y/o análogos sintéticos.
- 25 7. Utilización de alcaloides de protopina, en particular α -alocriptopina, o de sus derivados o análogos sintéticos, preferentemente en combinación con alcaloides de benzofenantridina o de sus derivados o análogos sintéticos, y/o material vegetal o jugo de plantas prensadas que contiene estos alcaloides para promover el rendimiento y el apetito de animales de producción.
- 30 8. Utilización de alcaloides de protopina, en particular α -alocriptopina, o de sus derivados o análogos sintéticos, preferentemente en combinación con alcaloides de benzofenantridina o de sus derivados o análogos sintéticos, y/o material vegetal o jugo de plantas prensadas que contiene estos alcaloides para la fabricación de un pienso o de un aditivo para pienso con efecto hepatoprotector para animales de producción y animales de compañía.
- 35 9. Utilización de alcaloides de protopina, en particular α -alocriptopina, para la fabricación de un medicamento contra las enfermedades del hígado, en particular contra la esteatosis hepática, en animales de producción y de compañía.

Fig. 1



(a) grosor de la grasa dorsal en la última vértebra lumbar

(b) grosor de la carne de músculo

(c) porción de carne magra