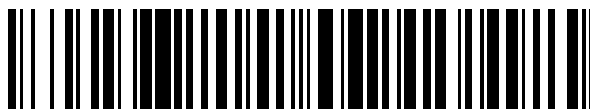


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 829 803**

51 Int. Cl.:

A61K 9/14	(2006.01) A61P 3/02	(2006.01)
A61K 31/07	(2006.01) A61P 7/00	(2006.01)
A61K 31/355	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61K 31/375	(2006.01) A61K 36/899	(2006.01)
A61K 31/715	(2006.01) A61K 47/10	(2007.01)
A61K 33/26	(2006.01) A61K 9/16	(2006.01)
A61K 35/741	(2015.01) A61K 9/00	(2006.01)
A61K 36/06	(2006.01) A61K 36/30	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01) A61K 36/55	(2006.01)
A61K 47/44	(2007.01) A61K 36/63	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2016 PCT/PL2016/000008**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.07.2016 WO16118028**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2016 E 16705599 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 3247335**

54 Título: **Composición fluida que contiene una fuente de hierro en forma no iónica y métodos de uso**

30 Prioridad:

25.01.2015 PL 41106215

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.06.2021

73 Titular/es:

**WRZOSEK, ARTUR (33.3%)
Ul. Aleksandra Fredry 3
05-532 Tomice, PL;
KLYS, PIOTR (33.3%) y
CIECIARA, MARIUSZ (33.3%)**

72 Inventor/es:

**WRZOSEK, ARTUR;
KLYS, PIOTR y
CIECIARA, MARIUSZ**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 829 803 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

Composición fluida que contiene una fuente de hierro en forma no iónica y métodos de uso

- 5 La invención se refiere a una composición fluida que contiene una fuente de hierro en forma no iónica con un tamaño de partícula estrictamente definido. La composición puede usarse como preparación farmacéutica o complemento dietético.

10 El hierro es uno de los elementos químicos más importantes necesarios para el funcionamiento normal del organismo. Este oligoelemento es un componente principal de la hemoglobina, que transporta oxígeno. Controla el procedimiento de producción adecuada de glóbulos rojos y de hemoglobina, decidiendo el transporte correcto de oxígeno en el organismo. El hierro también desempeña un papel importante en el funcionamiento correcto del sistema inmunitario, manteniendo las funciones cognitivas adecuadas, y en el proceso de división celular. La demanda diaria de hierro depende de la edad, el sexo y estado de salud. La demanda es diferente en adultos, niños, mujeres embarazadas, mujeres en período de lactancia, así como en personas después de intervenciones quirúrgicas que dan como resultado una gran pérdida de sangre. Se supone que la demanda diaria promedio de las cantidades de hierro es de 10-20 mg, según la Directiva de la Comisión 2008/100/CE del 28 de noviembre de 2008. El RDA de hierro es de 14 mg. La alteración de la regulación del hierro puede conducir a numerosos cambios adversos en el funcionamiento correcto del organismo, de los que la anemia que es el más importante. Es el tipo más frecuente y distribuido de más manera más global de anemia, que se manifiesta en sí mismo por un nivel de hemoglobina muy bajo y un pequeño número de glóbulos rojos.

25 La disponibilidad de hierro desde los productos alimenticios es relativamente baja y oscila desde pequeñas cantidades hasta el 20 % como máximo. Por tanto, muchas personas usan preparaciones que contienen hierro pero tal como se muestra mediante estudios científicos, su disponibilidad en forma de sales solubles tampoco es alta y, por lo general, no supera el 25 %.

30 Debido a los difíciles parámetros de disponibilidad de hierro, el elemento se usa en medicamento en diversas formas químicas, adaptadas para formas farmacéuticas y vías de administración específicas. Las formas más populares y usadas más frecuentemente incluyen las sales de hierro solubles. Entre ellas se incluyen compuestos orgánicos e inorgánicos, tales como: sulfato (VI) de hierro (II), cloruro de hierro (III), difosfato (V) de hierro (III), fumarato de hierro (II) o gluconato de hierro (II). También se conocen preparaciones que contienen hierro elemental. La forma y el porcentaje de hierro en una sal soluble determina la absorción del elemento, así como su posterior actividad biológica. Considerando la alta masa molar y el bajo porcentaje de hierro (el 10-36 %) en sus sales, y su biodisponibilidad impedida, con el fin de obtener el efecto terapéutico deseado, es necesario aplicar altas dosis de sales de hierro, lo que conduce a un aumento de los efectos secundarios en el sistema gastrointestinal. Además, la aplicación de altas dosis de sales solubles aumenta el riesgo de envenenamiento o sobredosis de preparaciones que contienen hierro y tales acontecimientos requieren una intervención de un médico. El estado de oxidación del hierro incluido en la composición de la sal soluble es de gran importancia, los iones Fe^{3+} presentan una biodisponibilidad significativamente menor que los iones Fe^{2+} (el mecanismo de transporte de hierro está relacionado con DMT (*Divalent Metal Transporter*, transportador de metal divalente)).

45 Algunos de estos problemas se resuelven mediante el uso de hierro elemental. El hierro elemental se transforma en forma ionizada no antes que en el tubo digestivo, bajo la influencia del jugo gástrico y el ácido clorhídrico que contiene. El hierro elemental se caracteriza por un alto contenido de hierro superior al 98 % y una baja masa molar, lo que permite el uso de mínimas dosis del mismo para satisfacer la demanda diaria para el hierro, en comparación con las de una sal de hierro (II).

50 Se conoce una amplia gama de preparaciones farmacéuticas y complementos dietéticos que complementan las deficiencias de hierro o que satisfacen una demanda aumentada de hierro. Estas preparaciones están en forma de comprimidos, comprimidos efervescentes, cápsulas y sobres, así como en forma líquida, tal como jarabe o tónico.

55 Un plan de complementación de deficiencia de hierro debe tener características lineales, adaptadas para las necesidades individuales. La solución óptima está constituida por una preparación que permite la dosificación de hierro por kilogramo de peso corporal. Las preparaciones en forma de comprimidos, comprimidos efervescentes, cápsulas y sobres se caracterizan por la dosificación umbral, y no ofrecen ninguna posibilidad de ajuste individual de la dosis de hierro aplicada de una manera que implique un simple cálculo. Productos que tienen formas de un jarabe o una disolución oral no ofrecen esta posibilidad; sin embargo, su uso está relacionado con un manchado oscuro de los dientes. Dependiendo de la fuente de hierro usada, también se produce el efecto de un sabor metálico en la boca, percibido como una impresión desventajosa.

65 Las preparaciones conocidas que contienen hierro elemental adoptan la forma de comprimidos o cápsulas. También se conocen ejemplos de composiciones fluidas que contienen fuentes de hierro no iónicas en forma de hierro elemental, basadas en agua como vehículo. Tales composiciones, considerando las propiedades oxidativas del agua, requieren el uso de una amplia gama de sustancias adicionales, conservantes y estabilizantes, tales como: EDTA, terc-butilhidroquinona (TBHQ), metilparabeno o propilparabeno. La necesidad de usar estas sustancias y sus

límites cuantitativos en los límites en productos alimenticios o farmacéuticos impide incluso el uso de una composición de este tipo para la complementación de deficiencias de hierro en niños y lactantes. Otro problema consiste en el hecho de que como resultado de la acción oxidativa del agua, puede formarse una mezcla ternaria que contiene hierro en forma inalterada, así como iones de hierro con diversos estados de oxidación (Fe^{2+} , Fe^{3+}) y se desconocen las proporciones de estas tres formas en la mezcla.

También se conoce un ejemplo de una composición veterinaria oral que contiene hierro elemental para su uso en lactantes de mamíferos que no son humanos, dada a conocer en la solicitud de patente n.º WO 2010/146155. Esta solicitud se refiere a una preparación que tiene forma de gel con un alto contenido de hierro elemental micronizado, con aceite como vehículo. El contenido de hierro en la preparación puede oscilar desde el 5 % hasta el 30 %, preferiblemente desde el 10 % hasta el 25 %, lo más preferiblemente el 20 %. El tamaño de partícula preferido del hierro elemental se definió en el intervalo de 3-7 μm .

Un tamaño de partícula tan pequeño y, por consiguiente, la alta área superficial de la sustancia activa resultante del mismo conduce a un aumento de la tasa de transformación de hierro elemental en iones Fe^{2+} . Esto da como resultado que se alcance una alta concentración de hierro en forma iónica en el organismo durante un corto tiempo. El efecto del aumento rápido de la concentración de iones se potencia adicionalmente mediante el alto contenido de hierro en la preparación. El alto contenido de hierro elemental en la preparación, relacionado con el pequeño tamaño de partícula, puede parecer muy preferible para un experto en la técnica en el contexto de complementación de deficiencias de hierro. Las partículas más grandes de hierro elemental con un área superficial más pequeña, que tienen una menor tasa de transformación en iones Fe^{2+} , podrían, entonces, parecer menos preferibles en el proceso de complementación de deficiencias de hierro debido a la menor concentración lograda en el mismo tiempo. Sin embargo, una alta concentración de iones de hierro no es equivalente a su alta disponibilidad, ya que esto último está limitado por varios procesos bioquímicos que se producen en el organismo. El nivel de hierro en el organismo está regulado por el duodeno, ya que es aquí donde las células epiteliales, los enterocitos, son responsables de la absorción de hierro de los alimentos. El mecanismo más conocido de transporte de hierro está relacionado con el DMT (transportador de metal divalente, por sus siglas en inglés). El transportador de metal divalente (DMT1) transporta los cationes de hierro y otros metales en el estado de oxidación II desde la luz intestinal a los enterocitos. En esta etapa, es necesaria la presencia de proteínas auxiliares, que reducen el hierro presente en los alimentos. Es sólo entonces cuando el hierro presente en los enterocitos se transporta a los vasos sanguíneos. Una alta concentración de iones Fe^{2+} obtenidos durante un corto periodo, que resultan del uso de partículas con tamaños pequeños y una gran área superficial para la reacción, relacionada con las limitaciones bioquímicas del proceso de asimilación de hierro, conduce a la formación de un exceso de iones no usados por el organismo. El exceso no usado de iones presentes en una alta concentración puede conducir a una gama de alteraciones en el equilibrio microbiológico de la flora bacteriana en el intestino del organismo. Numerosos estudios realizados usando modelos animales y humanos, confirman el argumento de la influencia de la complementación de hierro sobre el sistema inmunitario. Tal como se ha demostrado en el artículo titulado *Iron and Infection* EUGENE D. WEINBERG, MICROBIOLOGICAL REVIEWS, marzo de 1978, vol. 42, n.º L, págs. 45-66, lactantes sometidos a una carga de hierro que supera la capacidad de absorción del organismo presentan una inmunidad claramente reducida frente a las infecciones bacterianas. Se obtuvieron asociaciones similares en estudios sobre lactantes en los que se probó estadísticamente una relación entre una administración en exceso de hierro y la frecuencia de aparición de septicemia inducida por bacterias Gram-negativas. Barry, D. M. J. y A. W. Reeve. 1977. *Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscular iron administration. Pediatrics* 10:908-912.

También se ha demostrado de manera indiscutible que el hierro es un factor que limita el crecimiento y la actividad patológica de algunos microorganismos que colonizan el aparato digestivo humano. Seguido por una competencia continua por una fuente de hierro entre el sistema de transporte de hierro intestinal y su uso por microorganismos patógenos. Tan pronto como la administración en exceso de hierro supera la capacidad de asimilación del organismo, el hierro se usa por estos microorganismos. El potencial redox del hierro conduce a su transformación desde el estado de oxidación II a III, siendo a su vez una fuerza impulsora para muchos patógenos, dando como resultado estrés oxidativo y, como consecuencia, daño a las estructuras de ADN, lípidos y proteínas. *Iron in Infection and Immunity* James E. Cassat¹ and Eric P. Skaar *Cell Host & Microbe* 13, May 15, 2013^a 2013 Elsevier Inc. Los científicos notifican que los mecanismos inmunitarios naturales dependen estrictamente del mantenimiento de un entorno con un bajo suministro de hierro, estando ayudado el organismo por estas estructuras especializadas de las proteínas de unión a hierro, transferrina y lactoferrina (*The Critical Role of Iron in Some Clinical Infections* J.J. Bullen, C.G. Ward, H.J. Rogers, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, agosto de 1991, págs. 613-617). Cuando el hierro se encuentra disponible en cantidades que superan la capacidad de los mecanismos de captura de hierro naturales (iones libres en una cantidad por encima de 10^{-18}), se alteran los mecanismos (Bullen, JJ, Rogers, H.J. y Griffiths, E. (1978) *Role of iron in bacterial infection. Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 80, 1-35).

La publicación "*Iron-Fortified Infant Cereals*", R.C. Theuer (FOOD REVIEWS INTERNATIONAL, vol. 24, n.º 3, 30 de mayo de 2008, páginas 277-310) da a conocer cereales para lactantes enriquecidos con hierro; sin embargo, no se describió ninguna preparación que contuviese partículas de hierro elemental con la distribución de tamaño media de 7-10 μm . En esta publicación, se han citado otros dos documentos (Murray D. Pennell *et al.*: "*Factors affecting the relative biological value of food grade elemental iron powders for rats and humans*", "*Journal of Food Science*, vol. 40, n.º 4, 1 de mayo de 1975, páginas 879-883; Verma Rs *et al.*: *Effect of storage in flour and of particle size on the*

bioavailability of elemental iron powders for rats and humans”, PubMed NCBI, J.Assoc Off Anal Chem., 1 de mayo de 1977, páginas 759-765); sin embargo, estos documentos sólo se centran en los valores biológicos relativos.

El documento AU2013206429 A1 se refiere al tratamiento con hierro elemental de estados relacionados con hierro pero sólo se dan a conocer complejos de hidrato de carbono de hierro. El documento US2007065521 dio a conocer una composición que comprendía un polipéptido de hierro y/o hierro de grupo hemo en combinación con hierro iónico) y/o hierro quelado.

Es de suma importancia que las preparaciones de hierro se caractericen por un perfil de liberación muy preciso, lo más preferiblemente un perfil lineal. Un perfil de este tipo debe permitir obtener una alta biodisponibilidad de hierro, lo que permite en relación con un tiempo de liberación adecuadamente largo, la absorción óptima por el organismo y, en consecuencia, una reducción de un exceso nocivo de iones no usados.

La presente invención resuelve el problema de la fabricación de una preparación que complementa deficiencias de hierro o que satisface una demanda aumentada de hierro, sin los efectos secundarios descritos anteriormente, sin generar ningún riesgo de envenenamiento y permitiendo una dosificación adecuada.

La composición según la invención tiene una forma fluida y consiste en hierro elemental con un tamaño de partícula promedio en el intervalo de desde el 7 hasta el 10 % en una cantidad de desde el 0,1 % hasta el 15,0 % p/p y un vehículo seleccionado de: glicerol, un aceite vegetal y/o de pescado en una cantidad de desde el 85 % hasta el 99,9 % p/p, individualmente o en una mezcla. Preferiblemente, el hierro elemental tiene una distribución de tamaño de partícula con características de $7\ \mu\text{m} < D_{50} < 10\ \mu\text{m}$ y $D_{90} < 15\ \mu\text{m}$.

Como aceite, la composición contiene preferiblemente: triglicéridos de ácidos grasos de cadena media con una longitud de cadena de C6 a C14, aceite de maíz, aceite de colza, aceite de linaza, aceite de coco no tratado, aceite de hígado de pescado, aceite de hígado de bacalao u otros aceites de pescado, aceite de oliva, o cualquier mezcla de los mismos.

Lo más preferiblemente, la composición contiene una mezcla de triglicéridos de ácidos grasos de cadena media con una longitud de cadena de C6 a C14 lo más preferiblemente, las cadenas con una longitud de C8 a C10 constituyen no menos del 90 % p/p de la mezcla.

La composición según la invención también puede enriquecerse con componentes adicionales que desempeñan un papel importante en el funcionamiento del sistema circulatorio y los procesos hematopoyéticos, en los que el hierro desempeña un papel clave. Las sustancias adicionales y los mecanismos de su acción determinan el grado de idoneidad en los casos de productos previstos para niños y lactantes y para las mujeres embarazadas o mujeres que planean un embarazo. Los componentes que pueden enriquecer la composición incluyen: una mezcla de tocoferoles (vitamina E) y/o α -tocoferol, compuestos orgánicos del grupo de retinoides (vitamina A) y/o retinol, un grupo de compuestos químicos que son derivados de 2-metil-1,4-naftoquinona (vitamina K), de los que son los dos derivados más importantes la vitamina K₁ (denominada fitomenadiona, fitonadiona, filoquinona) y la vitamina K₂ (menaquinona-6, farnoquinona), un grupo de compuestos orgánicos esteroideos liposolubles denominados vitaminas D, de los que son los dos derivados más importantes: ergocalciferol (vitamina D₂) y (vitamina D₃) colecalciferol, vitamina C (ácido ascórbico) y vitaminas del grupo B, especialmente la B₆, B₉, y/o sus tetrahidrofolatos estabilizados reducidos, por ejemplo, L-5-MTHF, L-5-metiltetrahidrofolato, y B₁₂. La vitamina C ayuda a la absorción de hierro y también desempeña un papel importante en la activación del ácido fólico (vitamina B₉) y en el proceso de respiración celular, así como estimula la maduración de los glóbulos rojos. El ácido fólico desempeña un papel importante en la hematopoyesis y actúa conjuntamente con la vitamina B₁₂ en la regulación de la formación y maduración de los glóbulos rojos. La vitamina B₁₂ participa en la transformación del ácido fólico en un tetrahidrofolato biológicamente activo y su nivel adecuado previene enfermedades tales como anemia perniciosa. La vitamina B₆ participa en el proceso de formación de hemoglobina y también aumenta la inmunidad del organismo.

La composición según la invención también pueden enriquecerse con sustancias del grupo de carotenoides orgánicos naturales carotenoides, tales como: luteína y/o licopeno, y/o zeaxantina que, además de tener intensas propiedades neuroprotectoras y antioxidantes, afectan a la biodisponibilidad de hierro y eliminan el denominado “efecto del café”, que es de importancia extremadamente alta para adultos con una deficiencia de hierro o una demanda aumentada de hierro que consumen grandes cantidades de café.

La composición según la invención también puede enriquecerse con componentes del grupo de las bacterias probióticas: *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, cultivos puros no patogénicos de la levadura *Saccharomyces boulardii*, o sustancias del grupo de polisacáridos con propiedades prebióticas: arabinogalactano, inulina. Estas sustancias afectan favorablemente a la función del sistema inmunitario al tener una influencia sobre los linfocitos, o presentan una fuerte actividad prebiótica al ayudar al crecimiento de la microflora intestinal útil, siendo una barrera natural para la colonización del intestino por microorganismos nocivos. Estos componentes pueden ser útiles en el caso de la aplicación de la preparación para pacientes altamente expuestos a la alteración patógena de la microflora intestinal: las personas con un sistema inmunitario debilitado o comprometido, especialmente aquellos tratados con eritropoyetina.

La composición según la invención contiene componentes activos adicionales en una cantidad de desde el 0,001 hasta el 10 % p/p, dependiendo del tipo de componente.

La invención también incluye la aplicación de la composición mencionada anteriormente para la fabricación de una preparación para la complementación de deficiencias de hierro y/o para satisfacer una demanda aumentada de hierro en mamíferos, incluyendo seres humanos. Debido a sus propiedades únicas, la composición está destinada, particularmente, para la administración, en el tratamiento y la profilaxis, a lactantes, niños, mujeres embarazadas y mujeres que planean un embarazo.

La composición según la invención se prepara mezclando de manera inicial el hierro elemental con la primera parte del vehículo en una cantidad de desde el 5 hasta el 30 % p/p y añadiendo luego la otra parte del vehículo, agitando vigorosamente para formar una suspensión. Los componentes activos adicionales se añaden a la suspensión en la última fase de mezclado. El procedimiento de mezclado y envasado de la composición se lleva a cabo preferiblemente en la atmósfera protectora de un gas inerte, tal como nitrógeno, argón, helio.

El vehículo de la composición según la invención puede mezclarse en cualquier razón con otro vehículo recomendado que se use en productos destinados para niños y lactantes, tales como: glicerol, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de oliva tratado, generalmente para mejorar las propiedades del producto: solubilidad de los componentes insolubles en grasa, s y aceites o para adaptarse a las preferencias de gusto de receptores individuales, así como para mejorar el sabor. Simultáneamente, el vehículo puede no tener un carácter oxidante, que podría provocar una desproporción descontrolada del hierro en forma atómica en relación con el hierro en forma de iones con diversos estados de oxidación (Fe^{2+} , Fe^{3+}), el uso de tal vehículo conduciría a un deterioro de la biodisponibilidad del hierro debido a la presencia de una forma ionizada.

La composición según la invención reduce la posibilidad de que se produzca una mayor concentración de iones de hierro no usados. Esta propiedad resulta de una tasa de conversión prolongada de hierro elemental en iones de hierro con la participación de ácidos gástricos, siendo una consecuencia de la aplicación de hierro elemental con el tamaño de partícula definido anteriormente.

La propiedad mencionada anteriormente se confirmó en estudios sobre la velocidad de disolución *in vitro* de hierro elemental en ácido clorhídrico 0,1 M llevados a cabo por los autores de la invención. Se usó hierro elemental con características definidas de tamaño de partícula, comparando con una mediana de tamaño de partícula: 8,5 μm , 9,5 μm , y para comparación, 5,2 μm (del intervalo descrito en la solicitud de patente n.º WO 2010/146155). Para el hierro con una mediana de tamaño de partícula de 5,2 μm , ya se logró la absorbancia máxima después de 15 minutos. Para una mediana de 8,5 μm , se logró la absorbancia máxima después de 20 minutos y para 9,5 μm , después de 60 min, mientras que en este último caso, se obtuvo una dependencia lineal de la liberación de hierro durante hasta 45 min.

Básicamente, cuanto más pequeñas sean las partículas de hierro, más rápida será la reacción de su disolución en ejecuciones en ácido clorhídrico. Los autores de la presente invención descubrieron que existe un intervalo muy estrecho de tamaños de partícula, para los que este procedimiento cambia de una dependencia exponencial a lineal y luego se aproxima a las características de orden cero. Este límite está en un intervalo de tamaños de partícula de entre 7 y 9,5 micrómetros.

Las características de disolución de las partículas de hierro en ácido clorhídrico 0,1 M se traducen en las características de liberación de hierro desde las preparaciones farmacéuticas que contienen partículas con un tamaño definido. Una preparación fabricada según la descripción de la solicitud de patente n.º WO 2010/146155.1 en forma de un gel basado en el aceite de TCM y las partículas con un tamaño de 5,2 micrómetros (mediana D_{50}) presenta una tendencia a la liberación exponencial de iones de hierro. Por otra parte, el uso de partículas con un tamaño de 8,5 micrómetros en la preparación basada en el aceite de TCM conduce a una cinética lineal, y se obtiene una concentración máxima en el tiempo correspondiente al tránsito gástrico. Como consecuencia, una preparación farmacéutica preparada basándose en el intervalo de tamaño de partícula definido según la invención, en relación con la dosis determinada como la más alta posible para la asimilación, constituye una preparación con una disponibilidad muy eficiente y reduce al mínimo los efectos secundarios relacionados con la introducción de hierro en el organismo en una cantidad que supera la capacidad de asimilación, cuando los excedentes de iones de hierro que se forman en el intestino pueden promover el crecimiento de flora bacteriana no fisiológica.

La influencia de la concentración reducida de iones de hierro no usados sobre bacterias patógenas en condiciones que simulan el intestino delgado se mostró en otro estudio *in vitro* llevado a cabo por los autores de la invención. El estudio se realizó con las siguientes cepas: *E. coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* BAA-1705, *Enterococcus faecalis* ATCC 2912 y *Staphylococcus aureus* con el mecanismo de SARM ATCC-BAA-36. Las cepas seleccionadas representan la flora del tubo digestivo humano y son de particular importancia para recién nacidos o lactantes, debido al hecho de que estas cepas son una causa principal de septicemia. Como fuente de hierro, se usaron la preparación que es el objeto de la invención (muestra A) y la preparación dada a conocer en la solicitud de patente n.º WO 2010/146155 1 (muestra B). Ambas fuentes de hierro se usaron en la misma cantidad de 300 μl . En el

estudio, se observaron diferencias significativas en la cantidad de hierro liberado y hierro usado por las cepas estudiadas después del mismo tiempo de incubación para ambas muestras. Después de un periodo de incubación de 24 h, se descubrió lo siguiente: el consumo de hierro mayor en 3 veces para la cepa convencional de *S. aureus*, el consumo de hierro mayor en 13 veces para la cepa convencional de *E. faecalis*, el consumo de hierro mayor en 187 veces para la cepa convencional de *E. coli* ATCC25922 y una ligera diferencia (aprox. 1 vez) en el uso de hierro por la cepa convencional de *K. pneumoniae* de la muestra B en relación con la muestra A.

En el caso de la preparación que es el objeto de la invención (muestra A), se liberaron 35,6 mg/l a una fase acuosa después de 48 h, mientras que para la preparación descrita en la solicitud de patente n.º WO 2010/146155 A1 (muestra B), esta concentración ascendió a 132,1 mg/l. Como en el resultado de los nuevos cálculos, se ha probado que con una concentración de hierro igual a 0,026 mg/ml, se observa un crecimiento de 1 log de la población de *E. coli* ATCC 25922 y en ambas muestras estudiadas, el número de microorganismos creció en un grado similar al cabo de 48 h. Sin embargo, debido a diferencias significativas en las concentraciones de hierro liberado y hierro absorbido por los microorganismos, debe esperarse un crecimiento reducido de la población de bacterias patógenas en el caso de la preparación que es el objeto de la invención en condiciones *in vivo*. Los resultados del estudio *in vitro* muestran, de una manera obvia, una dependencia entre el tamaño de partícula de hierro elemental y la tasa de liberación de iones, así como la capacidad de bacterias para una mayor absorción en el caso de una concentración aumentada de iones de hierro no usados. Tal como se indica mediante los datos numéricos, la capacidad de absorción y, por tanto, la capacidad de la población de bacterias patógenas para crecer, es considerablemente limitada en el caso de una composición de la invención estrictamente con tamaño de partícula estrictamente definido de hierro elemental.

Gracias a las propiedades mencionadas y la posibilidad de usar bajas dosis, la preparación según la invención, que contiene hierro elemental con un tamaño de partícula estrictamente definido, se caracteriza por una toxicidad infinitesimal, y se reduce al mínimo la aparición y la intensidad de los efectos secundarios. En estudios que usan modelos animales, se ha demostrado que el hierro elemental es 30-150 veces menos tóxico en comparación con las sales de hierro solubles. La posibilidad de reducir al mínimo la dosis de tal hierro en provoca que, a pesar del hecho de la participación de los jugos gástricos en la transformación del hierro elemental en sus formas iónicas, no se producen alteraciones en la regulación de jugos gástricos que desempeñan un papel clave en procesos nutricionales.

La forma fluida de la composición según la invención ofrece la posibilidad de seleccionar individualmente la dosis de preparación por medio de un simple nuevo cálculo de la cantidad de preparación por kilogramo de peso corporal. Un producto de este tipo elimina totalmente las desventajas de la característica de dosificación umbral para la formulación sólida y aquellas relacionadas con un riesgo de sobredosis, lo que puede conducir a envenenamiento o intensificación de los efectos secundarios, o recibir una dosis no suficiente para satisfacer la demanda aumentada de hierro.

La aplicación de hierro elemental con un intervalo estrecho de tamaños de partícula definidos según la invención conduce a una biodisponibilidad muy alta en el organismo humano y reduce el efecto de una alta concentración de iones de hierro no usados. Este hecho, cuando se relaciona con una absorción lenta desde el tubo digestivo, hace que el hierro elemental se libere de manera gradual y lineal. Como resultado, se reducen la toxicidad y la intensidad de los efectos secundarios y simultáneamente se prolonga el tiempo requerido para la asimilación de la cantidad adecuada de iones, al igual que lo hace el tiempo para intervención médica en caso de sobredosis accidental de la preparación.

Los vehículos de la composición según la invención se caracterizan por una ausencia total de reactividad con la fuente de hierro y no tienen propiedades oxidantes. Gracias a este hecho, tanto el hierro como el vehículo mantienen de manera estable sus propiedades fisicoquímicas en su interacción. Por tanto, no solamente agua como vehículo, sino también la necesidad de usar cualquier sustancia que conserve y establezca la composición. Además, parte de los aceites mencionados, especialmente el aceite de TCM, presentan propiedades antibacterianas y antifúngicas, que resultan de su estructura química específica, contribuyendo adicionalmente a la alta estabilidad de la composición. Debe destacarse que la aplicación de una mezcla de aceites de cadena media como vehículo, particularmente un complejo de aceites del grupo de TCM (mezcla de triglicéridos de cadena media), afecta adicionalmente al organismo favorablemente, considerando el efecto positivo del propio vehículo. Además, la composición según la invención proporciona un gusto y aroma neutros.

El perfil preferido de liberación de hierro desde la preparación según la invención permitió determinar una razón cuantitativa óptima del componente activo con respecto al vehículo en la dosis ingerida del producto final. La seguridad de uso y las propiedades organolépticas del vehículo (gusto, aroma, color) desempeñan un papel importante, en particular en el caso de los productos usados en pediatría. La cantidad del vehículo que se usa en relación con el componente activo tampoco es insignificante en el caso de preparaciones para niños y lactantes, así como para mujeres embarazadas y mujeres que planean un embarazo.

El tamaño estrictamente definido de las partículas usadas de hierro elemental también permitió minimizar el riesgo relacionado con la inducción de actividad patológica de las cepas bacterianas presentes en la flora fisiológica del intestino al proporcionar hierro exógeno en cantidades que superan la capacidad de asimilación del organismo.

- 5 La combinación de componentes de la composición según la invención resuelve los problemas existentes hasta el momento presente y constituye una característica común de todas las preparaciones que contienen hierro, gracias al hecho de que la combinación tiene las siguientes propiedades:
- la posibilidad de dosificación continua y lineal ajustada a las necesidades del paciente individual;
 - la determinación de dosis simples;
 - 10 - alta biodisponibilidad de hierro;
 - eliminación de la necesidad de usar estabilizadores o conservantes adicionales;
 - estabilidad a lo largo del tiempo;
 - eliminación del riesgo de formación de una forma ionizada con un estado de oxidación que es difícil de determinar;
 - eliminación de la necesidad de usar formulaciones modificadas para mejorar la biodisponibilidad y proteger al
 - 15 organismo frente a altas dosis de hierro;
 - reducción significativa de la intensidad de los efectos secundarios;
 - reducción del riesgo de una sobredosis accidental o intencionada de la preparación;
 - eliminación del gusto metálico en la boca;
 - eliminación de manchado de los dientes, que es característico de los productos líquidos con iones de hierro;
 - 20 - la falta de características desfavorables para una preparación que tiene la forma de un gel: la restauración difícil y que lleva mucho tiempo de la homogeneidad de la preparación después de la sedimentación de partículas de hierro, es una aplicación inconveniente de la dosis relacionada con la alta viscosidad de la preparación y la tendencia del gel a adherirse a las membranas mucosas del esófago y las secciones iniciales del aparato digestivo.
- 25 Estas características hacen que la composición según la invención sea única y tecnológicamente avanzada, preparación actualizada que complementa deficiencias de hierro o satisface una demanda aumentada de hierro en el organismo humano. Gracias a la falta de estabilizantes y conservantes, la preparación según la invención puede usarse por niños y lactantes, así como por mujeres embarazadas. La composición también es útil en la eliminación del denominado "efecto del café" en personas que beben grandes cantidades de esta bebida.

30 El objeto de la invención se describe con mayor detalle en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1.

- 35 Se preparó una composición que consistía en: hierro elemental con una finura media de $D_{50}=8,5$ micrómetros en la cantidad de 2,958 g y una mezcla de triglicéridos de cadena media C6-C14, conocida como aceite de TCM, en la cantidad de 95,600 g, de la siguiente manera.

40 Se añadió la cantidad pesada total de hierro a un tanque que contenía el 5 % de la cantidad total de aceite. Se agitó el contenido vigorosamente durante la dosificación, a una velocidad de al menos 50 rpm, y se añadió el polvo en lotes, con el fin de evitar la posible aglomeración del material. Se continuó con la agitación durante 15 minutos después de la dosificación del polvo. Se completó la suspensión obtenida con el aceite restante y se mezcló durante 30 minutos a una velocidad de al menos 50 rpm. Se continuó con el mezclado durante toda la duración del procedimiento, y se llevó a cabo la totalidad del procedimiento a temperatura ambiente.

45 Ejemplo 2.

- 50 Se preparó una composición que consistía en: hierro elemental con una finura media de $D_{50}=8,5$ micrómetros en la cantidad de 15,915 g y aceite de TCM en la cantidad de 85,600 g, de la siguiente manera.

Se añadió la cantidad total pesada de hierro a un tanque con la cantidad total del aceite. Se agitó el contenido vigorosamente durante la dosificación, a una velocidad de al menos 50 rpm, y se añadió el polvo en lotes, con el fin de evitar la posible aglomeración del material. Después de la dosificación del polvo, se agitó la mezcla durante 25 minutos más. Se llevó a cabo el procedimiento de mezclado a temperatura ambiente.

55 Ejemplo 3.

- 60 Se preparó una composición que consistía en: hierro elemental con una finura media de $D_{50}=8,5$ micrómetros en la cantidad de 2,958 g, tocoferol en la cantidad de 0,050 g y glicerol en una cantidad de 95,600 g, de la siguiente manera.

65 Se añadió tocoferol a un tanque que contenía el 5 % de la cantidad total de glicerol y, después se añadió la cantidad pesada total de hierro. Se agitó el contenido vigorosamente durante la dosificación, a una velocidad de al menos 50 rpm, y se añadió el polvo en lotes, con el fin de evitar la posible aglomeración del material. Se continuó con la agitación durante 20 minutos después de la dosificación del polvo. Se completó la suspensión obtenida con el

glicerol restante y se agitó vigorosamente durante no menos de 30 minutos a una velocidad de al menos 50 rpm. Se llevó a cabo el procedimiento de mezclado a temperatura ambiente.

Ejemplo 4.

Se preparó una composición que consistía en: hierro elemental con una finura media de $D_{50}=8,5$ micrómetros en la cantidad de 2,958 g, tocoferol en la cantidad de 0,050 g, aceite de TCM en la cantidad de 60,000 g, aceite de oliva en la cantidad de 35,500 g, vitamina B₁₂ (disolución al 0,1 % en glicerol) en la cantidad de 0,100 g, de la siguiente manera.

Se añadió tocoferol a un tanque que contenía el 5 % de la cantidad total de TCM y, después se añadió la cantidad pesada total de hierro. Se agitó el contenido vigorosamente durante la dosificación, a una velocidad de al menos 50 rpm, y se añadió el polvo en lotes, con el fin de evitar la posible aglomeración del material. Se continuó con la agitación durante 15 minutos después de la dosificación del polvo. A continuación se añadió una cantidad pesada de aceite de oliva y se mezcló el contenido del tanque durante otros 15 minutos. Se completó la suspensión obtenida con el aceite de TCM restante y se agitó vigorosamente durante no menos de 30 minutos a una velocidad de al menos 50 rpm. Se llevó a cabo todos el procedimiento a temperatura ambiente.

Ejemplo 5.

Se realizaron estudios *in vitro* sobre la velocidad de reacción de la disolución de hierro elemental en ácido clorhídrico 0,1 M. Se determinó la concentración de iones de hierro en las muestras usando el método espectrofotométrico mediante la medición de la absorbancia a una longitud de onda de 511 nm en relación con un indicador coloreado: fenantrolina (según los datos de la bibliografía, este valor corresponde a la absorbancia máxima para un complejo de hierro (II)-fenantrolina).

En el estudio, se usó hierro elemental (polvo de carbonilo de hierro) con medianas de tamaño de partícula de: 5,2 μm (muestra A), 9,5 μm (muestra B) y 8,5 μm (muestra C). Las características de los tamaños de partícula de hierro se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características de los tamaños de partícula de hierro.

Designación de la muestra	Mediana de distribución del tamaño de partícula D_{50} [μm]	D_{10} [μm]	D_{90} [μm]
A	5,2	3,5	9,2
B	9,5	3,6	17,8
C	8,5	2,7	13,0

Se pesaron 10,5 mg de cada muestra (A, B, C), se añadieron 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 M a 37 °C a cada una de las pesadas, hasta una concentración de 2,1 mg/ml (antes se termostató el ácido en un baño de ultrasonidos). Se mantuvieron las muestras en un lavador ultrasónico a 37 °C durante todo el periodo de mediciones y se recogieron 10 μl de la muestra en forma de suspensión después de un tiempo especificado. Antes de la recogida, se agitó la muestra para obtener una concentración homogénea en todo el volumen y, después se aisló el hierro de la disolución usando un imán de neodimio para retirar las partículas de hierro no ionizadas que podrían seguir reaccionando durante la medición de la absorbancia y alterar los resultados. Se llevaron a cabo las mediciones hasta que se obtuvo una concentración constante de iones de hierro (II): una meseta en la curva de concentración de iones de hierro (II) en la muestra frente al tiempo. Se transfirieron porciones de la disolución investigada (de 10 μl cada una) que contenían iones de hierro (II) en ácido clorhídrico a celdas que contenían una disolución con la siguiente composición indicada en la tabla 2.

Tabla 2. Composición de la muestra en la celda de medición antes de añadir los iones de hierro (II).

Composición de la muestra	μl
agua	1720
citrato de sodio al 10 % p/p	20
clorhidrato de hidroxilamina al 10 % p/p	40
fenantrolina (al 0,25 % p/p en 0,1 M HCl)	200

Se registró el espectro de absorción inmediatamente después de añadir una porción de la disolución que contenía iones de hierro (II) a la celda que contenía otros reactivos. Se registraron los espectros en el intervalo de desde 360 nm hasta 700 nm, a una resolución de 1 nm, usando un espectrofotómetro UV-Vis Lambda 650 de Perkin Elmer. Para la longitud de onda de 511 nm, se observó un máximo de absorbancia: según los datos de la bibliografía, esto corresponde a la absorbancia del complejo de hierro (II)-fenantrolina. Las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo en el máximo correspondiente a la longitud de onda de 511 nm. Los valores de absorbancia obtenidos se

usaron para los cálculos de concentración de iones de hierro (II) en la muestra, basándose en la curva analítica y teniendo en cuenta la dilución (se seleccionaron las condiciones de medición de modo que todos los valores de absorbancia obtenidos estuviesen en el intervalo de linealidad de la curva de calibración). Se representó gráficamente una dependencia de los cambios en la concentración de iones de hierro (II) en la muestra frente al tiempo.

El hierro se liberó más rápidamente de la muestra A: se obtuvo la absorbancia máxima después de 15 minutos. La muestra C se disolvió de manera relativamente más lenta que la muestra A: se obtuvo la absorbancia máxima después de 20 min. Para la muestra B, se obtuvo una dependencia lineal de la liberación de hierro a lo largo del tiempo hasta 45 min. Se obtuvo la absorbancia máxima después de 60 min.

Los resultados se recopilan en los gráficos: Las figuras 1 y 2 muestran la absorbancia de las muestras estudiadas A, B y C frente al tiempo a una concentración de 2,1 mg/ml. La figura 2 muestra una comparación detallada de las muestras A, B y C con una concentración de 2,1 mg/ml para ilustrar con precisión la esencia de la invención.

Tal como puede observarse en la figura 1 y en la figura 2, las partículas de hierro del intervalo de tamaño de 5-8,5 micrómetros (calculado como una mediana D_{50}) adoptan un carácter exponencial de la reacción mientras que un ligero aumento del tamaño de partícula más allá del umbral de 8,5 micrómetros (en el estudio: mediana de 9,5 micrómetros) ya provoca una transformación de esta dependencia en una forma lineal y tiene una tendencia adicional a comportarse según la cinética de orden cero.

Ejemplo 6.

A continuación se realizó un estudio sobre las preparaciones farmacéuticas desarrolladas basadas en partículas de hierro A y C usando el mismo método analítico. Se preparó una preparación basada en partículas de la muestra A según la descripción dada a conocer en la solicitud de patente n.º WO 2010/146155A1, mientras que se preparó una preparación basada en partículas de la muestra C según la descripción que es el objeto de la invención.

Tabla 3. Composición de la formulación de los productos farmacéuticos basados en las partículas A y C.

Designación del producto	Hierro elemental	TCM	Sílice coloidal	Óxido de aluminio
A	25 %.	Hasta 100 g	0,625 g	0,125 g
C	1,52 %	Hasta 100 g	-	-

Antes de recoger una pesada de la preparación C, se llevó a cabo la homogeneización de la muestra agitando durante 5 min en un homogeneizador (amplitud=70 %, ciclo=0,5) para obtener una mezcla uniforme. Se disolvió una pesada de suspensión en aceite de hierro (carbonilo de hierro en TCM, 1,52 %, $D_{50}=8,5 \mu\text{m}$): preparación con un peso de 668,7 mg, en ácido clorhídrico 0,1 M hasta una concentración de 2,1 mg/ml. Se llevó a cabo una serie de mediciones como en el caso del ejemplo 5. Se obtuvo una dependencia "lineal" de la concentración de iones de hierro (II) con el tiempo de reacción durante 5-45 min para el máximo a 511 nm ($R^2=0,999$).

Antes de recoger una pesada de la preparación A, se llevó a cabo la homogeneización de la muestra agitando durante 5 min en un homogeneizador (amplitud=70 %, ciclo=0,5) para obtener una mezcla uniforme. Se disolvió una pesada de la suspensión en aceite de hierro (hierro elemental, 25 %, $D_{50}=5,2 \mu\text{m}$): preparación con un peso de 42 mg, en ácido clorhídrico 0,1 M hasta una concentración de 2,1 mg/ml. Se llevó a cabo una serie de mediciones como en el caso del ejemplo 5.

La comparación de las composiciones se muestra en la tabla 3, y la figura 3 muestra una comparación de la velocidad de liberación de los iones de hierro desde las preparaciones farmacéuticas basadas en hierro elemental frente al tiempo.

Las preparaciones farmacéuticas producidas usando las partículas investigadas en el ejemplo 5 confirman las tendencias de las características de liberación. La preparación A, en forma de un gel basado en el aceite de TCM y las partículas con un tamaño de 5,2, (mediana D_{50}), presenta una tendencia a la liberación exponencial de iones de hierro. La preparación C que contiene partículas de hierro con un tamaño de 8,5 micrómetros conduce a una cinética lineal, y la concentración máxima se obtiene en el tiempo correspondiente al tránsito gástrico.

Ejemplo 6.

Se llevó a cabo un estudio *in vitro* que muestra las diferencias en las cantidades de hierro liberado y hierro absorbido por cepas patógenas, con el uso de un medio mínimo M9 carente de iones o TSB (caldo de soja tripticasa). Se hicieron crecer cepas convencionales de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* en el medio mínimo de la tabla 9 a 37 °C +/- 1 °C durante 24 h. Se hicieron crecer cepas convencionales de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* con un mecanismo de SARM en el medio TSB (caldo de soja tripticasa) a 37 °C +/- 1 °C durante 24 h. Después de este

tiempo, se centrifugó el cultivo de cepas convencionales (2000 rpm, 10 min), se decantó el sobrenadante, y se lavó el sedimento de las células bacterianas que permanecieron en el fondo con 10 ml del medio correspondiente, M9 o TSB y, después se centrifugó otra vez. Se repitió el procedimiento dos veces. Después del lavado del depósito celular, se añadieron 10 ml del medio correspondiente, M9 o TSB, y se mezclaron meticulosamente en vórtex. Se inoculó el cultivo puro preparado de esta manera en un medio agar Columbia (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) o agar McConkey (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) para determinar el número inicial de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) (mediante el método de diluciones de 10 veces) y, después se usaron para pruebas adicionales. Se diluyó el cultivo así preparado hasta una suspensión con una densidad de $10^2/10^3$ UFC/ml en el medio correspondiente (TSB o M9). se colocaron 300 µl de la suspensión en un tubo de ensayo Eppendorf y se añadieron 300 µl de la muestra A o B correspondiente. Para cada cepa, se prepararon de este modo 2 tubos de ensayo Eppendorf para la muestra A y 2 tubos de ensayo Eppendorf para la muestra B (el primero para la medición de la concentración hierro, el segundo para las mediciones de UFC/ml y DO). Se prepararon del mismo modo 2 muestras de control sin cultivos: añadiendo 300 µl de muestra A o B a 300 µl de medio M9. Se incubaron todas las anteriores a 37 °C +/- 1 °C, entonces se llevaron a cabo las mediciones después de los tiempos de: 30 min, 8 h, 24 h, 48 h, usando solamente la fase acuosa. Se centrifugó la fase acuosa en su totalidad, y se usaron el sedimento celular (para investigar la cantidad de hierro absorbido por las células) y el sobrenadante restante para la prueba por separado. Para liberar el hierro del sedimento celular, se incubó este último a 60 °C durante 3 h y después se disgregó usando perlas de vidrio. Se usó espectrometría de masas de plasma acoplado por inducción (ICP EM, por sus siglas en inglés) usando un espectrómetro ELAN 6100 (Perkin Elmer, EE. UU.) para la medición del nivel de iones de hierro. A continuación, se mineralizaron las muestras (sedimento y sobrenadante) añadiendo 1,2 ml de ácido nítrico ultrapuro (V), después se recogieron 100 µl y se diluyeron hasta 5 ml con agua destilada. Para los mismos tiempos, se midió también la DO y se llevó a cabo un cultivo cuantitativo mediante el método de dilución en serie, y simultáneamente, también se llevó a cabo un control positivo para las cepas individuales. Los resultados obtenidos de la concentración del hierro liberado para las muestras A y B se muestran en la tabla 4 y en la figura 4. Las concentraciones de hierro absorbidas por las bacterias patógenas se muestran en las tablas 5, 6.

Tabla 4. Cantidad de hierro liberado para las muestras A y B.

Tiempo	Preparación A	Preparación B
	µg/l	µg/l
30'	41,53	108,68
8	36,45	109,29
24 h	37,85	103,96
48 h	35,63	132,13

Tabla 5. Concentración de hierro absorbida por las cepas: *S. Aureus* ATCC -BAA-36 y *E. faecalis* ATCC 2912 para las muestras A y B.

Tiempo	<i>S. aureus</i> cepa ATCC-BAA-36		<i>E. faecalis</i> cepa ATCC 2912	
	Concentración de hierro absorbida desde la preparación A, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación B, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación A, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación B, mg/0,3 ml
0 h	0	0	0	0
30'	0,03	0,05	0,018	0,05
8	0,04	0,12	0,029	0,06
24 h	0,05	0,159	0,04	0,54
48 h	0,122	0,157	0,09	0,98

Tabla 6. Concentración de hierro absorbida por las cepas: *E. coli* ATCC25922 y *K. pneumonia* BAA-1705 para las muestras A y B.

Tiempo	<i>E. coli</i> cepa ATCC25922		<i>K. Pneumoniae</i> cepa BAA-1705	
	Concentración de hierro absorbida desde la preparación A, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación B, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación A, mg/0,3 ml	Concentración de hierro absorbida desde la preparación B, mg/0,3 ml
0 h	0	0	0	0
30'	0,016	0,04	0,013	0,029
8	0,019	2,88	0,023	0,026
24 h	0,0155	2,81	0,015	0,02
48 h	0,018	0,01	0,025	0,028

REIVINDICACIONES

1. Composición fluida que contiene una fuente de hierro en forma no iónica y el vehículo, **caracterizada por que** consiste en hierro elemental con un tamaño de partícula promedio D_{50} en el intervalo de desde 7 hasta 10 micrómetros en una cantidad de desde el 0,1 % hasta el 15,0 % p/p, y un vehículo seleccionado de glicerol y/o un aceite vegetal y/o aceite de pescado en una cantidad de desde el 85 % hasta el 99,9 % p/p, individualmente o en una mezcla.
5
2. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada por que** el hierro elemental tiene una distribución de tamaño de partícula con las siguientes características: $7\text{ }\mu\text{m} < D_{50} < 10\text{ }\mu\text{m}$ y $D_{90} < 15\text{ }\mu\text{m}$.
10
3. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada por que**, como aceite, contiene: triglicéridos de ácidos grasos de cadena media con una longitud de cadena de C6 a C14, individualmente o en una mezcla, glicerol, aceite de maíz, aceite de colza, aceite de linaza, aceite de coco no tratado, aceite de hígado de pescado, aceite de hígado de bacalao u otros aceites de pescado, aceite de oliva, o cualquier mezcla de los mismos.
15
4. Composición según la reivindicación 3, **caracterizada por que** contiene una mezcla de triglicéridos de ácidos grasos de cadena media, en la que las cadenas C8-C10 constituyen al menos el 90 % p/p.
20
5. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada por que** contiene adicionalmente al menos un componente activo seleccionado de un grupo que consiste en: una mezcla de tocoferoles, α tocoferol, compuestos orgánicos del grupo de los retinoides, retinol, vitamina K, vitaminas D, carotenoides orgánicos naturales, vitamina C, vitaminas del grupo B.
25
6. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada por que** contiene adicionalmente componentes del grupo: bacterias probióticas, levadura de cultivo puro no patógena. arabinogalactano, inulina.
30
7. Composición según la reivindicación 5 ó 6, **caracterizada por que** el componente activo adicional contenido en la composición está en una cantidad de desde el 0,001 hasta el 10 % p/p.
8. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada por que** contiene adicionalmente al menos una sustancia auxiliar farmacéuticamente aceptable.
- 35 9. Composición según la reivindicación 8, **caracterizada por que** la sustancia auxiliar contenida en la composición está en una cantidad de desde el 1 % hasta el 10 % p/p.
10. Composición fluida según las reivindicaciones 1-9, para su uso en la complementación de deficiencias de hierro.
40
11. Composición fluida según las reivindicaciones 1-9, para su uso para satisfacer una demanda aumentada de hierro en mamíferos, incluyendo seres humanos.

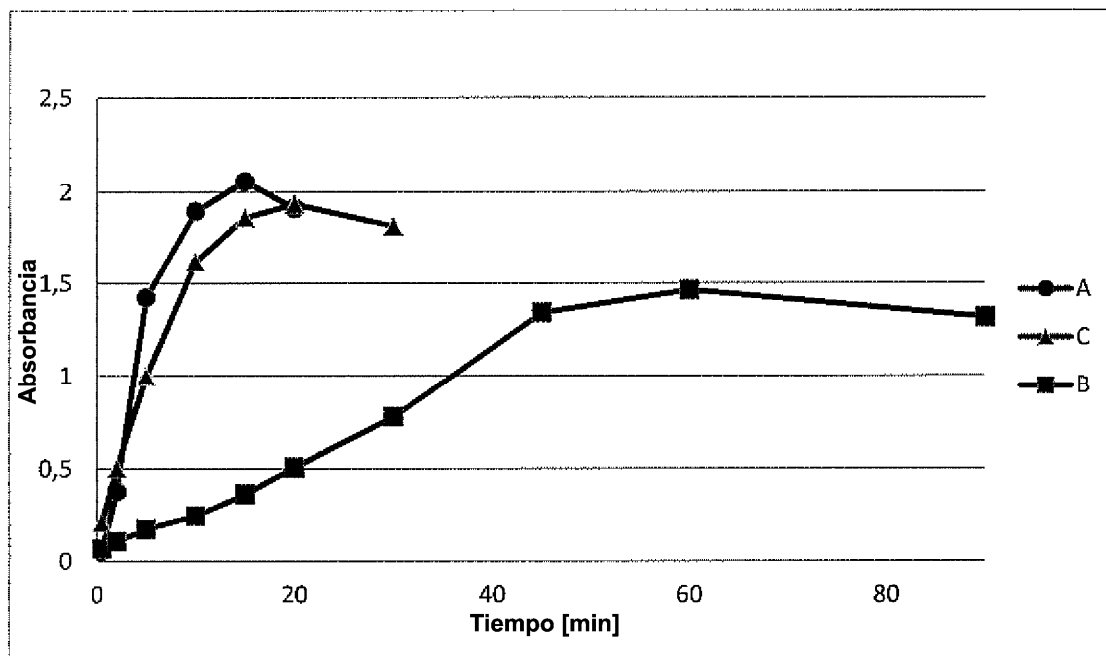


Fig. 1

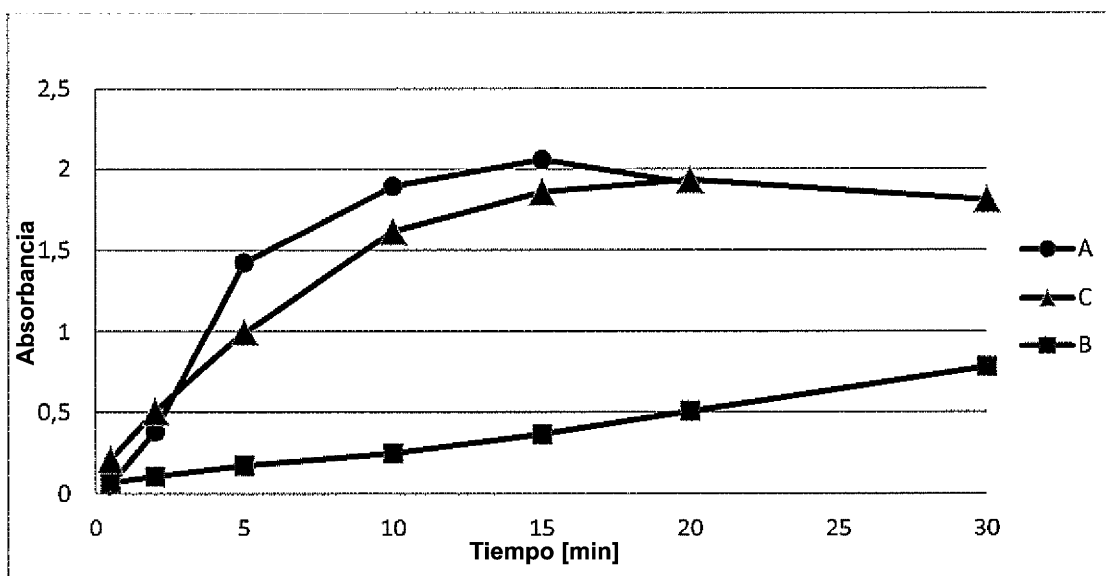


Fig. 2

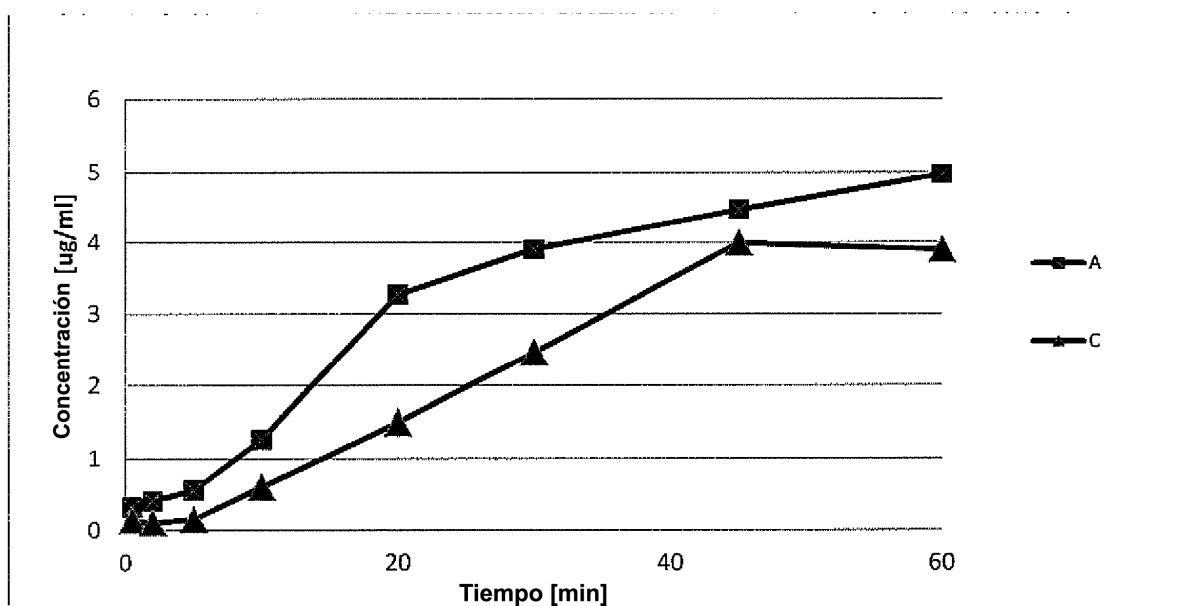


Fig. 3

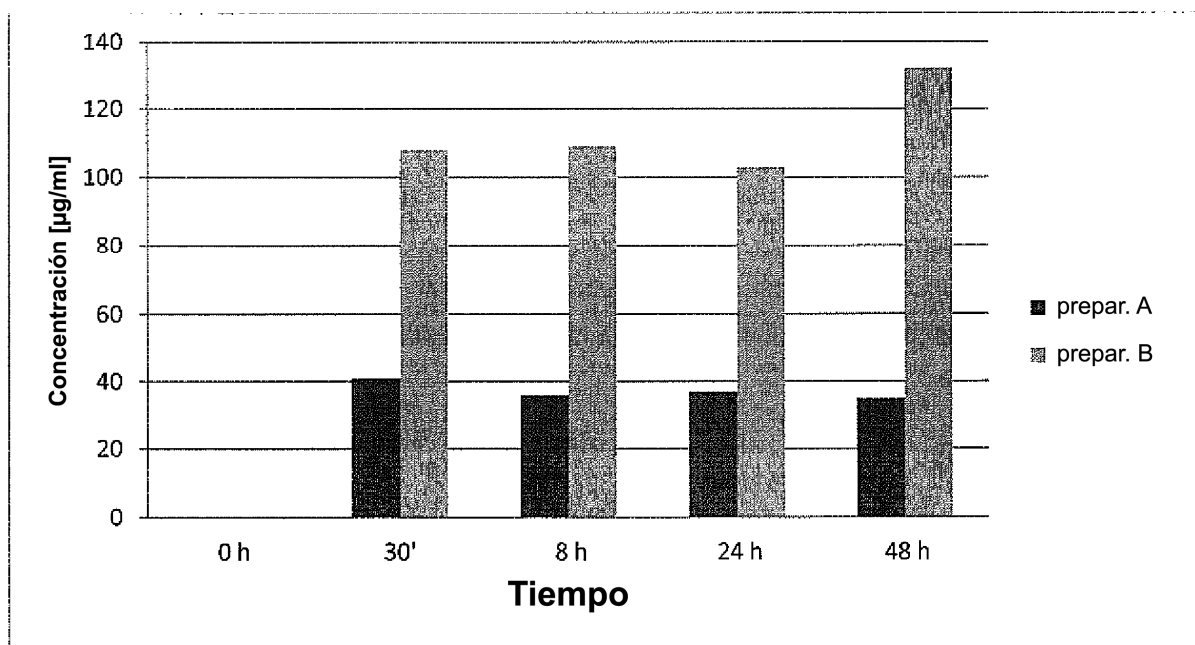


Fig. 4