

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 026 513**

51 Int. Cl.:

A61K 31/714 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 33/24 (2009.01)

A61K 33/30 (2006.01)

A61K 33/32 (2006.01)

A61K 33/34 (2006.01)

A61K 47/10 (2007.01)

A23K 50/10 (2006.01)

A23K 20/20 (2006.01)

A23K 20/174 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.07.2020** **PCT/AU2020/050710**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2021** **WO21007610**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2020** **E 20838886 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025** **EP 3996720**

54 Título: **Complemento nutricional inyectable**

30 Prioridad:

12.07.2019 AU 2019902471

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

11.06.2025

73 Titular/es:

**CHEMVET AUSTRALIA PTY LTD (100.00%)
1/8 Rocklea Drive
Port Melbourne VIC 3207, AU**

72 Inventor/es:

GRANT, MURRAY, GRAHAM

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 3 026 513 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

Complemento nutricional inyectable

5 Campo

La invención se refiere a un complemento nutricional inyectable para ganado y en particular un complemento nutricional inyectable acuoso para ganado que contiene vitamina B₁₂ y uno o más oligoelementos, y a un método para proporcionar un complemento nutricional al ganado.

10

Antecedentes de la invención

15

La vitamina B₁₂ es una vitamina hidrosoluble que actúa como una coenzima para diversas funciones metabólicas, que incluyen el metabolismo de grasas y de carbohidratos y la síntesis de proteínas. Es esencial para la producción de glucosa en rumiantes, que es esencial para satisfacer las demandas de alta energía del crecimiento y la lactancia. La deficiencia de vitamina B₁₂ da como resultado la reducción del apetito, las tasas de crecimiento y la producción de leche y pueden causar anemia y muerte dependiendo de la gravedad de la deficiencia.

20

El aporte complementario al ganado de pastoreo con vitamina B₁₂ y oligoelementos esenciales tales como cobre, cobalto, zinc y selenio se ha considerado durante largo tiempo como un método para mejorar la productividad, particularmente cuando estos oligominerales son deficientes o marginalmente deficientes en sus dietas.

25

Los rumiantes de pastoreo tales como ovejas, reses, ciervos, cabras, llamas, etc. no reciben nada de vitamina B₁₂ directamente a través de sus dietas. Ellos dependen de bacterias en su rumen para que la fabriquen por ellos. La vitamina B₁₂ fabricada en el rumen luego es absorbida por el animal. El cobalto es un componente vital de la molécula de vitamina B₁₂ y es un oligomineral que a menudo es deficiente en la dieta de animales de pastoreo. Cuando esto ocurre, la producción de vitamina B₁₂ mediante bacterias ruminales se ve comprometida y el animal se vuelve deficiente en vitamina B₁₂.

30

El cobalto administrado mediante inyección no es eficaz para corregir la deficiencia de vitamina B₁₂ causada por deficiencia de cobalto debido a que, cuando se administra de esta forma, este no encuentra la forma de llegar al fluido ruminal para permitir que las bacterias ruminales produzcan vitamina B₁₂ para el animal.

35

Los complementos nutricionales que proporcionan un complemento de vitamina B₁₂ junto con uno o más oligoelementos en una única administración son deseables particularmente en países que tienen pasturas deficientes en estos minerales. La administración de complementos mediante inyección subcutánea es particularmente conveniente, ya que la inyección es un método conveniente para administrar complementos, especialmente a ganado más grande donde la dosificación oral es difícil.

40

Las composiciones acuosas concentradas inyectables son deseables para compatibilidad de tejido así como también para promover la absorción fácil de los oligominerales pero la vitamina B₁₂ es lábil en composiciones acuosas y se degrada en almacenamiento, lo que da como resultado una concentración eficaz menor que la preparada originalmente.

45

Las formulaciones inyectables que combinan vitamina B₁₂ y oligoelementos son particularmente problemáticas ya que la concentración de oligomineral debe ser alta para que el volumen administrado por inyección sea de un volumen aceptable.

50

Durante el transcurso de la realización de experimentos para preparar composiciones acuosas inyectables de vitamina B₁₂ y complejos de oligoelementos, el inventor de la presente descubrió que los complejos de oligoelementos exacerbaban el problema de degradación de vitamina B₁₂ acuosa para los que anteriormente se informaron estrategias para controlar la degradación que no fueron particularmente eficaces. Existe la necesidad de una composición inyectable estable de composición de vitamina B₁₂ con uno o más oligoelementos que sea estable durante el almacenamiento y conveniente para administrar.

55

IE 58361 B1 se refiere a una composición vitamínica, especialmente para uso veterinario, que contiene minerales y oligoelementos, más concretamente destinada a corregir o mejorar la alimentación de rumiantes. Este documento no divulga la presencia de EDTA ni de complejos metálicos del mismo, ni de oligoelementos en una concentración divulgada en la presente solicitud.

60

EP 3078274 se refiere a una solución de oligoelementos que incluye al menos dos metales seleccionados del grupo que comprende selenio, cobre, zinc, manganeso, hierro y cromo, y que comprende una concentración de los metales de al menos 60 mg/ml. Al menos uno de los metales seleccionados del grupo que comprende cobre, zinc, manganeso, hierro y cromo puede estar presente en forma de un complejo EDTA. Este documento no divulga la presencia de glicoles ni vitamina B₁₂ en la solución de oligoelementos.

65

5 WO 2005/094842 se refiere a composiciones que incluyen uno o más compuestos de vitamina B₁₂ y uno o más excipientes que mejoran la solubilidad de los compuestos de vitamina B₁₂. En aspectos de la invención descritos en WO 2005/094842, los excipientes son alcoholes, en particular etanol, propilenglicol, un polietilenglicol (PEG), glicerol, manitol, sorbitol, Tween 20 o dimetilsulfóxido, o una combinación de los mismos, y/o un formador de sales. Este documento no divulga la presencia de oligoelementos ni de complejos de EDTA de los mismos.

10 WO2013/171538 se refiere a una solución de oligoelementos que contiene al menos los siguientes metales: zinc, manganeso, selenio y cobre, y que contiene vitamina B₁₂. La solución comprende además butafosfano para estabilizar la vitamina B₁₂, y la inclusión de butafosfano puede tener una actividad sinérgica con los minerales. Este documento no divulga la presencia de un glicol en la composición.

Síntesis

15 En consecuencia, se proporciona una composición de complemento nutricional inyectable acuoso para ganado, que comprende:

un complejo de EDTA de uno o más oligoelementos;

20 vitamina B₁₂; y

un líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos;

25 en donde el uno o más oligoelementos están en una cantidad de 1 g a 100 g por litro de composición acuosa inyectable, en donde el uno o más oligoelementos comprenden al menos uno de zinc, cobre, manganeso, selenio y cromo, en donde la cantidad de oligoelemento se basa en el elemento en sí mismo y no en todo el complejo de oligoelementos o mezcla de complejos,

30 en donde el líquido hidrosoluble se selecciona del grupo que consiste en propilenglicol, éteres de glicol con un peso molecular no superior a 300, polietilenglicol con un peso molecular no superior a 300, éter de dipropilenglicol monometilo y mezclas de los mismos,

35 en donde el líquido hidrosoluble está presente en la composición acuosa inyectable en una cantidad de 20 g a 300 g por litro.

El líquido hidrosoluble de mayor preferencia es propilenglicol.

40 El uno o más oligoelementos presentes en la composición típicamente incluyen de 10 g a 60 g de zinc por litro y de 5 g a 30 g, preferentemente, 10 g a 30 g, de cobre por litro de composición de complemento nutricional inyectable acuoso. Al menos uno de cobre y zinc estarán típicamente en la forma de un complejo de EDTA. Preferentemente, al menos uno, y, con mayor preferencia, ambos de zinc y cobre están presentes como complejos de EDTA.

45 En una forma de realización, el complemento nutricional inyectable acuoso comprende:

de 1 g a 5 g de cianocobalamina, hidroxocobalamina o mezclas de estas por litro;

de 10 g a 60 g de zinc por litro;

50 de 5 g a 30 g, preferentemente, de 10 g a 30 g, de cobre por litro;

Opcionalmente, de 1 g a 10 g de selenio; y

55 de 50 g a 200 g por litro de líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos, preferentemente, de 50 g a 200 g por litro de propilenglicol.

60 La composición de complemento nutricional inyectable acuoso típicamente comprenderá los oligoelementos en una cantidad de 1 g a 100 g por litro de composición inyectable acuosa, preferentemente, de 20 g a 100 g por litro de composición inyectable acuosa.

En un aspecto adicional, se proporciona un método para complementar el estado nutricional de ganado que comprende administrar mediante inyección subcutánea al ganado (particularmente ganado rumiante) una composición de complemento nutricional inyectable acuoso descrita en la presente.

65 Descripción detallada

Se descubrió que la presencia de un líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos tiene un efecto muy significativo en la estabilización de vitamina B₁₂ contra la degradación en una solución acuosa en presencia de complejos de EDTA de oligoelementos. Se descubrió que la presencia de cantidades significativas de complejos de oligoelementos exacerbaba la degradación de vitamina B₁₂ que no podía controlarse eficazmente mediante los métodos usados típicamente en la formulación de composiciones inyectables de vitamina B₁₂.

Se descubrió que las estrategias adoptadas anteriormente para estabilizar la vitamina B₁₂ contra la degradación, tales como proporcionar un pH ácido, la adición de sulfato de aluminio o clorhidrato de cisteína y la formación de micelas, no son eficaces en presencia de concentración alta de complejos de EDTA de los oligoelementos.

El inventor de la presente descubrió que los glicoles y éteres de glicol y, en particular, propilenglicol, proporcionan una estabilidad inesperada de la vitamina B₁₂ en presencia de incluso la concentración alta de complejos de oligoelementos.

El término "glicol" se refiere a cualquiera de un grupo de alcoholes que contienen dos grupos hidroxilo, en particular que incluyen propilenglicol (PG) (propan 1,2-diol) y propan-1,3-diol.

El término "éter de glicol" se refiere a un compuesto en el que uno o ambos de los grupos hidroxilo de un diol o condensado de este están eterificados. El término incluye éteres de monoglicol y éteres de poliglicol. Típicamente, los éteres de glicol son de la fórmula HO--{A---O}n---R, en donde A representa porciones etileno o propileno, R representa porciones alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, y n puede asumir valores entre 1 y 8, preferentemente, entre 1 y 4. Los ejemplos de éteres de glicol incluyen éter de etilenglicol monoisopropilo, éter de etilenglicol monobutilo, éter de etilenglicol monoalilo, éter de dietilenglicol monometilo, éter de dietilenglicol monoisopropilo, éter de dietilenglicol monobutilo, éter de dietilenglicol monoisobutilo, éter de dietilenglicol monobencilo, éter de dietilenglicol dimetilo, éter de dietilenglicol dietilo, éter de dietilenglicol metil etilo, éter de trietilenglicol monometilo, éter de trietilenglicol monobutilo, éter de trietilenglicol dimetilo, éter de polietilenglicol monometilo, éter de propilenglicol monometilo, éter de propilenglicol monopropilo, éter de dipropilenglicol monometilo, éter de tripropilenglicol monometilo y 3-metoxi-3-metil-1-butanol.

Los glicoles y éteres de glicol preferidos son líquidos hidrosolubles, que típicamente tienen un peso molecular no mayor de 300, en particular, no mayor de 200 tal como no mayor de 150. El líquido hidrosoluble de mayor preferencia seleccionado de glicoles y éteres de glicol son propilenglicol y polietilenglicol de peso molecular no mayor de 300.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de la presente memoria descriptiva, la palabra "comprender" y variaciones de la palabra, tales como "que comprende" y "comprende" no pretende excluir otros aditivos, componentes, números enteros o etapas.

El complemento nutricional inyectable acuoso comprende un complejo de EDTA de uno o más oligoelementos. El uno o más oligoelementos comprende al menos uno de zinc, cobre, manganeso, selenio y cromo. Preferentemente, los oligoelementos comprenden zinc, cobre o una mezcla de los mismos. En una modalidad, los oligoelementos comprenden zinc, cobre y selenio. La cantidad del oligoelemento referida en la presente se basa en el elemento en sí mismo y no en la totalidad del complejo de oligoelemento o mezcla de complejos.

La composición de complemento nutricional inyectable acuoso comprende los oligoelementos en una cantidad de 1 g a 100 g por litro de composición inyectable acuosa. Las cantidades preferidas de oligoelementos están en el rango de 20 g a 100 g, tal como 30 g/l a 100 g/l, 40 g/l a 100 g/l, 50 g/l a 100 g/l o 60 g/l a 100 g/l. En consecuencia, en una forma de realización, los oligoelementos comprenden entre 1 g y 100 g por litro de zinc, cobre o una mezcla de ambos, preferentemente entre 20 g y 100 g, por ejemplo, entre 30 g/l y 100 g/l, 40 g/l a 100 g/l, 50 g/l a 100 g/L o 60 g/L a 100 g/L. El contenido total de oligoelementos suele ser de hasta 100 g/l de composición.

En una forma de realización, el contenido es de 10 g a 60 g de zinc por litro, 5 g a 30 g de cobre por litro, tal como, por ejemplo 10 g a 30 g de cobre por litro, o 10 g a 60 g de zinc por litro y 5 g a 30 g de cobre por litro, tal como, por ejemplo, 10 g a 30 g de cobre por litro. La vitamina B₁₂ puede estar en un rango de formas conocidas. Por ejemplo, la vitamina B₁₂ puede comprender al menos una de cianocobalamina, hidroxocobalamina, acetato de hidroxocobalamina, metilcobalamina y acuacobalamina y mezclas de estos. La cantidad de vitamina B₁₂ es típicamente de 0,5 g a 8 g, tal como de 1 g a 8 g por litro de composición inyectable acuosa o de 1 g a 5 g por litro de composición inyectable acuosa.

El líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos típicamente está presente en la composición inyectable acuosa en una cantidad de 20 g a 300 g por litro, preferentemente, de 50 g a 250 g por litro, con mayor preferencia, de 80 a 250 g por litro, tal como 100 g/l a 250 g/l o 120 a 200 g/l de la composición inyectable acuosa.

En un conjunto de formas de realización, la composición de complemento inyectable acuoso comprende:

de 1 g a 5 g de cianocobalamina, hidroxocobalamina o mezclas de estas por litro;

de 10 g a 60 g de zinc por litro;

de 5 g a 30 g de cobre por litro, tal como de 10 g a 30 g;

de 1 g a 10 g de selenio por litro; y

de 50 g a 200 g por litro de líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos, preferentemente, de 50 g a 200 g de propilenglicol por litro.

La composición de complemento nutricional inyectable acuoso comprende un complejo de EDTA de uno o más oligoelementos. El uno o más complejos de EDTA pueden formarse con cualquiera de un rango de formas de EDTA, tales como EDTA disódico, EDTA dipotásico, EDTA de dialquilamonio, EDTA diamónico o combinación de dos o más de estos. Típicamente, se descubrió que es conveniente usar el EDTA disódico en la formación de los complejos de oligoelementos.

La deficiencia de selenio en muchas pasturas en países tales como Australia puede inhibir severamente el crecimiento de ganado e incluso dar como resultado la muerte. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso comprende, preferentemente, de 1 g a 10 g de selenio por litro de composición inyectable acuosa, tal como de 2 g a 8 g por litro.

En una forma de realización adicional, la composición de complemento nutricional inyectable acuoso comprende:

de 2 g a 4 g de cobalaminao acetato de hidroxocobalamina por litro

de 20 g a 45 g de zinc por litro;

de 10 g a 20 g de cobre por litro;

de 2 g a 10 g de selenio por litro; y

de 80 g a 180 g por litro de líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos, preferentemente, de 50 g a 200 g de propilenglicol por litro.

El pH de la composición de complemento nutricional inyectable acuoso no es estrictamente crucial y no tiene un efecto significativo en la degradación de la vitamina B₁₂ en presencia de los complejos de oligoelementos. El pH está preferentemente en el rango de 5 a 8, tal como de 6 a 8, 6,5 a 7,5 o alrededor de 7.

En formas de realización de la invención en las que el control del pH debe proporcionar un rango ajustado, la composición puede estar amortiguada mediante un amortiguador adecuado tal como un amortiguador de citrato, fosfato, trimetamina (también denominado amortiguador tris) o acetato. Se prefieren los amortiguadores de fosfato, tales como fosfato de sodio, fosfato de potasio y mezclas de estos.

El contenido de agua de la composición de complemento nutricional inyectable acuoso en un conjunto de formas de realización es de 40 % a 80 % v/v.

En una forma de realización adicional, la invención proporciona un método para complementar el estado nutricional de ganado que comprende administrar mediante inyección subcutánea al ganado la composición de complemento nutricional inyectable acuoso como se describió anteriormente en la presente.

El método es particularmente útil para proporcionar complementación nutricional a animales rumiantes, especialmente animales bovinos.

La invención se describirá a continuación con referencia a los Ejemplos siguientes. Debe entenderse que los Ejemplos se proporcionan a modo de ilustración de la invención y que no limitan el alcance de la invención de manera alguna.

60 Ejemplos

Ejemplo comparativo 1

Se preparó una formulación, la misma que una solución de vitamina B₁₂ más selenio supuestamente estable disponible y registrada en el comercio.

ES 3 026 513 T3

La formulación contenía los componentes en las cantidades mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1

| Compuesto | Elemental g/l | g/l |
|--|------------------|------|
| Clorocresol | | 1 |
| Acetato de sodio | | 1 |
| Cloruro de sodio | | 2,67 |
| Acetato de hidroxocobalamina (Vitamina B ₁₂) | | 1,8 |
| Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂) | | 0,2 |
| Ácido acético | | 1,09 |
| Selenato de sodio | 5,0 | 12 |
| Agua hasta volumen | | |

5 A la formulación de la Tabla 1, se agregaron exitosamente EDTA de cobre disódico hidrosoluble y EDTA de zinc disódico a una tasa de 107 g/l y 285 g/l, respectivamente, y luego se llenaron con agua hasta el volumen requerido.

Esto proporcionó una formulación final como se muestra en la Tabla 2.

10

Tabla 2

| Compuesto | Elemental g/l | g/l |
|--|------------------|------|
| Clorocresol | | 1 |
| Acetato de sodio | | 1 |
| Cloruro de sodio | | 2,67 |
| Acetato de hidroxocobalamina (Vitamina B ₁₂) | | 1,8 |
| Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂) | | 0,2 |
| Ácido acético | | 1,09 |
| Selenato de sodio | 5,0 | 12 |
| EDTA de cobre disódico | 15 | 107 |
| EDTA de zinc disódico | 40 | 285 |
| Selenato de selenio | 5 | 8 |
| Agua hasta volumen | | |

La formulación se disolvió completamente sin evidencia de precipitado.

15 Esta formulación se envió para realizar un análisis químico, y se analizó a tiempo 0 y se colocó en almacenamiento de estabilidad a 5 °C y 40 °C (75 % de RH).

Los resultados fueron los que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

| Vitamina B ₁₂ | T=0 (mg/ml) | | T=1 mes (mg/ml) | |
|------------------------------|-------------|-------|-----------------|-------|
| | 5 °C | 40 °C | 5 °C | 40 °C |
| Cianocobalamina | 0,24 | 0,24 | 0,23 | 0,14 |
| Acetato de hidroxocobalamina | 0,49 | 0,49 | 0,26 | 0,03 |

20

El ensayo se abandonó debido a la obvia carencia de estabilidad de la formulación.

Ejemplo comparativo 2

25 Las formulaciones mostradas en la Tabla 4 se prepararon con un único mineral quelado o combinaciones de estos (EDTA disódico), se formularon con cianocobalamina (CNCBL) y se sometieron a estudios de estabilidad de cribado.

Tabla 4

| Formulación | Componentes (g/l) | pH | 40 °C Mes 1 | 40 °C Mes 2 | 40 °C Mes 3 |
|-------------|--|------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | CNCBL 4,0 Zn 40 Agua hasta volumen | 6,94 | CNCBL 3,3 | CNCBL 3,3 | |
| 2 | CNCBL 4,0 Cu 16 Agua hasta volumen | 4,4 | CNCBL 3,3 | CNCBL 3,3 | |
| 3 | CNCBL 4,0 | 6,18 | CNCBL 3,1 | CNCBL 3,2 | |

ES 3 026 513 T3

| | | | | | |
|---|--------------------|------|------|------------|-----------|
| | Zn | 20,0 | | | |
| | Cu | 7,5 | | | |
| | Agua hasta volumen | | | | |
| 4 | CNCBL | 4,0 | 4,32 | CNCBL 3,3 | CNCBL 1,8 |
| | Zn | 40 | | | |
| | Agua hasta volumen | | | | |
| | | | | | |
| 5 | CNCBL | 2,5 | 5,9 | CNCBL 1,24 | |
| | Zn | 40,0 | | | |
| | Cu | 15,5 | | | |
| | Agua hasta volumen | | | | |
| 6 | CNCBL | 2,5 | 5,9 | CNCBL 1,47 | |
| | Zn | 40,0 | | | |
| | Cu | 15,5 | | | |
| | Se | 5,0 | | | |
| | Agua hasta volumen | | | | |

CNBL - Cianocobalamina

5 Los resultados mostrados en la Tabla 4 demuestran que en presencia de 40 g/l de zinc (como EDTA de zinc disódico), 15 g/l de cobre (como EDTA de cobre disódico) y 5,0 g/l de selenio (como selenato de selenio) (en las formulaciones 4, 5 y 6), que son los niveles necesarios para proporcionar suficiente oligomineral en una única inyección al ganado, no se pueden mantener en el tiempo niveles suficientes de cianocobalamina. Contrariamente a los descubrimientos informados en la literatura, disminuir el pH no mejoró la estabilidad de la cianocobalamina.

Ejemplo comparativo 3

10 Se reivindicó que la adición de sulfato de aluminio podría mejorar la estabilidad de vitamina B₁₂ en soluciones acuosas.

15 Las soluciones de la Tabla 5 se formularon y se sometieron a evaluación de estabilidad acelerada a 40 °C.

Tabla 5

| Formulación | Componentes (g/l) | pH | 40 °C Mes 0 | 40 °C Mes 1 | 40 °C Mes 2 | 40 °C Mes 3 |
|-------------|---|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 7 | CNCBL 2,5 Zn 40,0 Cu 15,5 Se 5,0 Sulfato Al. 62,5 | 5,8 | CNCBL 2,0 | CNCBL 1,06 | | |
| 10 | CNCBL 2,5 Zn 40,0 Cu 15,5 Se 5,0 Sulfato Al. 10,0 | 5,1 | CNCBL 2,3 | CNCBL 1,70 | CNCBL 1,36 | |

20 Se concluyó que la adición de sulfato de aluminio no mejoró la estabilidad de cianocobalamina en soluciones que contienen niveles altos de oligominerales.

Ejemplo comparativo 4

25 Se utilizaron las formulaciones de micelas para mejorar la estabilidad de moléculas que son solubles en solventes orgánicos pero se descomponen en soluciones acuosas. Se formularon soluciones que incluyen solventes orgánicos singulares o en combinación y un tensioactivo adecuado, y se evaluaron para determinar la estabilidad de la cianocobalamina de acuerdo con la Tabla 6.

Tabla 6

| Formulación | Componentes (g/l) | pH | 40 °C Mes 0 | 40 °C Mes 1 | 40 °C Mes 2 | 40 °C Mes 3 |
|-------------|--|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 8 | CNCBL 2,5 Zn 40,0 Cu 15,5 Se 5,0 G Formal* | 6,0 | CNCBL 2,31 | CNCBL 1,31 | CNCBL 1,09 | |

ES 3 026 513 T3

| | | | | | | |
|--|-----|-----------------------|--|--|--|--|
| | ECT | 100,0 80** 10,0 | | | | |
|--|-----|-----------------------|--|--|--|--|

GFormal* - Glicerol Formal; ECT80 ** - Monooleato de polioxietilen sorbitán (Tween 80); PG – propilenglicol.

Se concluyó que estos intentos para estabilizar la vitamina B₁₂ en una formulación de micela no fueron exitosos.

5

Ejemplo 1

En el proceso de combinar solventes orgánicos en las formulaciones acuosas de vitamina B₁₂ y concentraciones altas de oligominerales (durante los intentos de producir micelas que contengan la vitamina B₁₂), se descubrió sorpresivamente que agregar propilenglicol solo aumentó la estabilidad de vitamina B₁₂ en una solución que contenía cantidades altas de oligominerales.

10

Las formulaciones y los resultados de estabilidad se muestran en la Tabla 7.

15

Tabla 7

| Formulación | Componentes (g/l) | 40 °C Mes 0 | 40 °C Mes 1 | 40 °C Mes 2 | 40 °C Mes 3 | 40 °C Mes 4 | 40 °C Mes 5 |
|-----------------------------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 11 (Contenido de mineral bajo) | CNCBL 3,0 Zn 30,0 Cu 12 Se 5,0 PG 100 T80 2,0 | CNCBL 3,12 | | CNCBL 2,36 | CNCBL 2,36 | | |
| 12 | CNCBL 3,0 Zn 40,0 Cu 15 Se 5,0 PG 100 T80 2,0 | CNCBL 2,42 | | CNCBL 2,38 | CNCBL 2,33 | | |
| 26 (23.4.18) | CNCBL 2,50 Zn 40,0 Cu 20,0 Se 5,0 PG 150 | CNCBL 2,45 | | CNCBL 2,4 | | CNCBL 2,35 | CNCBL 2,40 |
| 26 (23.6.18) | CNCBL 2,50 Zn 40,0 Cu 20,0 Se 5,0 PG 150 | CNCBL 2,58 | CNCBL 2,3 | CNCBL 2,22 | CNCBL 2,15 | CNCBL 2,14 | |

Inicialmente, se estudiaron las siguientes formulaciones de prueba.

T80 - Monooleato de polioxietilen sorbitán (Tween 80)

20 Ejemplo 2

Se implementó un estudio adicional que imitaba la producción y el envasado comercial y se informa a continuación:
Método de fabricación:

25 Parte A

1. Cargar agua tibia (40 °C) al tanque de mezcla.
2. Cargar polvo de dihidrato de EDTA disódico al agua y agitar.
3. Cargar polvo de óxido de zinc a la suspensión y agitar.
- 30 4. Cargar hidróxido de cobre a la suspensión y agitar.
5. Continuar la agitación hasta que todos los sólidos se hayan disuelto; serán necesarias alrededor de 2 horas.
6. La reacción se puede acelerar mediante el calentamiento de la suspensión a 40 °C; se obtendrá una solución azul transparente.
7. El pH de la solución en esta etapa debería ser 6,5 - 7,0.
- 35 8. Cargar selenato de sodio al lote y agitar hasta disolver.

ES 3 026 513 T3

Parte B

9. Cargar propilenglicol en un reactor pequeño.
 10. Cargar polvo de cianocobalamina al propilenglicol y agitar hasta que se disuelva; calentar suavemente hasta 40 grados ayudará a la disolución.
 11. Cargar toda la parte B a la parte A en el tanque principal y agitar la solución hasta que esté uniforme.
 12. Medir la absorbancia visible de la solución; 2 % de solución debería tener una absorbancia a 550 nm > 0,31.
 13. Filtrar la solución a través de una gasa de 10 micrómetros para eliminar cualquier sólido insoluble al transferirla al tanque de retención.
 14. Filtrar el producto a través de un filtro de 0,25 micrómetros en recipientes "flow-pack" HDPE/LDPE estériles en condiciones asépticas.

Una vez elaborada, la formulación se colocó en evaluación de estabilidad a 40 °C. La formulación se muestra en la Tabla 8 y los resultados de la evaluación de estabilidad se muestran en la Tabla 9 a continuación.

Tabla 8

| Formulación | Componentes (g/l) |
|--------------|--|
| 26 (21.9.18) | CNCBL 2,50 Zn 40,0 Cu 20,0 Se 5,0 PG 150 |

Tabla 9

| 40 °C Mes 0 | 40 °C Mes 1 | 40 °C Mes 2 | 40 °C Mes 3 | 40 °C Mes 4 | 40 °C Mes 5 | 40 °C Mes 6 | 40 °C Mes 7 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| CNCBL 2,19 | CNCBL 2,12 | CNCBL 2,32 | CNCBL 2,31 | CNCBL 2,28 | CNCBL 2,32 | CNCBL 2,31 | CNCBL 2,25 |

20 Ejemplo 3: Composición que contiene éter de dipropilenglicol monometilo

Se preparó una composición de acuerdo con la invención al combinar composiciones premezcladas identificadas como parte A y parte B a continuación:

Parte A

| | | |
|--|-------------------------------------|---------------------|
| | Agua | 65,0 gramos |
| | Na ₂ H ₂ EDTA | 32,5 gramos |
| | ZnO | 5,0 gramos |
| | Cu(OH) ₂ | 2,6 gramos |
| | Selenato de Na | 1,2 gramos |
| | Total | 106,3 gramos |

Parte B

| | | |
|--|----------------|--------------------|
| | DOWINOL™ DPM | 14,0 gramos |
| | Propilenglicol | 3,0 gramos |
| | CN-Cbl | 0,28 gramos |
| | Total | 17,3 gramos |

40 Nota: DOWINOL DPM es éter de dipropilenglicol monometilo (DOWINOL es una marca registrada de Dow Chemical Company).

La parte B se agregó a la parte A para proporcionar un peso de lote combinado total de 123,6 gramos.

45 La composición se sometió a evaluación de estabilidad a 40 °C durante 100 días y los resultados analíticos se muestran a continuación en la Tabla 10.

Tabla 10

| | 0 días | 30 días | 80 días | 100 días |
|--------------|--------|---------|---------|----------|
| SG (g/l) | 1200 | 1200 | 1200 | |
| pH | 6,16 | 6,36 | 6,47 | |
| Cu (g/l) | 14,8 | 15,3 | 15,4 | 15,6 |
| CN-Cbl (g/l) | 2,33 | 2,41 | 2,4 | 2,45 |

ES 3 026 513 T3

| | | | | |
|----------|----|-------------|--|--|
| Zn (g/l) | 40 | (calculado) | | |
| Se (g/l) | 5 | (calculado) | | |

Los resultados no muestran pérdida de vitamina B₁₂ después de 100 días a 40 °C.

Ejemplo 4: Composición que contiene trietilenglicol (PEG 150)

Se preparó una composición de acuerdo con la invención al combinar composiciones premezcladas identificadas como parte A y parte B a continuación:

Parte A

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Agua | 52,26 g |
| Na ₂ H ₂ EDTA | 27,4 g |
| ZnO | 5,1 g |
| Cu(OH) ₂ | 1,0 g |
| Total | 87,06 g |

Parte B

| | |
|-----------------|--------|
| Trietilenglicol | 12,7 g |
| Cn-Cbl | 0,2 g |

La parte B se agregó a la parte A para proporcionar un peso de lote combinado total de 100 g.

La composición se sometió a evaluación de estabilidad a 40 °C y los resultados analíticos se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

| | 0 días | 30 días | 60 días |
|--------------|--------|-------------|---------|
| SG (g/l) | 1235 | | |
| pH | 6,72 | 6,46 | |
| Cu (g/l) | 17,2 | 17,4 | 17,4 |
| CN-Cbl (g/l) | 2,61 | 2,56 | 2,55 |
| Zn (g/l) | 40 | (calculado) | |
| Se (g/l) | 5 | (calculado) | |

Los resultados muestran que prácticamente no hay pérdida de vitamina B₁₂ después de 60 días a 40 °C.

Ejemplo 5: Composición que contiene polietilenglicol MW 200

Se preparó una composición de acuerdo con la invención al combinar composiciones premezcladas identificadas como parte A y parte B a continuación:

Parte A

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Agua | 523,6 g |
| Na ₂ H ₂ EDTA | 274,0 g |
| ZnO | 41,0 g |
| Cu(OH) ₂ | 22,0 g |
| Total | 870,6 g |

Parte B

| | |
|---------|---------|
| PEG 200 | 127 g |
| Cn-Cbl | 2,4 g |
| Total | 129,4 g |

La parte B se agregó a la parte A para proporcionar un peso de lote combinado total de 1000 g.

La composición se sometió a evaluación de estabilidad a 40 °C y los resultados analíticos se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12

| | 0 días | 30 días | 60 días |
|----------|--------|---------|---------|
| SG (g/l) | | | |
| pH | 6,21 | | |

ES 3 026 513 T3

| | | | |
|--------------|------|-------------|------|
| Cu (g/l) | 16,8 | 16,7 | 16,8 |
| CN-Cbl (g/l) | 2,71 | 2,65 | 2,65 |
| Zn (g/l) | 40 | (calculado) | |
| Se (g/l) | 5 | (calculado) | |

Los resultados muestran vitamina B₁₂ estable después de 60 días a 40 °C.

Ejemplo 6: Composición fabricada en condiciones comerciales en una instalación de fabricación comercial

Algunas formulaciones a escala de laboratorio pueden tener un rendimiento y estabilidad diferentes a las formulaciones a gran escala fabricadas en condiciones comerciales en una planta de fabricación comercial.

Se fabricó una composición de acuerdo con la invención en una instalación de fabricación comercial al combinar composiciones premezcladas identificadas como parte A y parte B a continuación. Luego, se filtró la composición a través de un filtro de 0,2 μ y se llenó asépticamente en recipientes *flow-pack* HDPE/LDPE de 500 ml.

Parte A

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| Agua | 7,7895 l |
| Na ₂ H ₂ EDTA | 4,1670 Kg |
| ZnO | 0,6150 Kg |
| Cu(OH) ₂ | 0,3375 Kg |

Parte B

| | |
|----------------------|-----------|
| Polietilenglicol 200 | 1,7250 |
| Alcohol bencílico | 0,18 Kg |
| Cn-Cbl | 0,0360 Kg |
| Total | 14,85 Kg |

Después de 3 meses a temperatura ambiente, la composición se sometió a almacenamiento a 40 °C.

Los resultados analíticos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13

| | Ambiente | | 40 °C | | | |
|--------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Mes 0 | Mes 3 | Mes 4 | Mes 5 | Mes 6 | Mes 7 |
| pH | 7,07 | 7,11 | 7,29 | 7,41 | 6,93 | |
| Cn-Cbl | 2,06 | 1,99 | 1,97 | 1,95 | 2,03 | 2,02 |
| Cobre | 16,3 | 16,2 | 16,5 | 16,2 | 16,5 | 16,3 |

Los resultados muestran que una composición de acuerdo con la invención fabricada en una instalación a escala comercial en condiciones comerciales que incluyen esterilización mediante filtración y envasado permaneció estable con respecto a la vitamina B₁₂ durante 7 meses a 40 °C.

Ejemplo 7: Composición con la adición de un amortiguador de pH

Podría ser ventajoso garantizar que el pH de una composición de acuerdo con la invención se mantenga entre un rango estrecho específico. En consecuencia, se agregó un amortiguador de fosfato/potasio a la composición anterior entre el mes 5 y el mes 6 en una cantidad calculada para mantener el pH entre pH 6,5 y pH 7,0.

La cantidad agregada fue la siguiente:

| | |
|----------------------|--------|
| Fosfato disódico | 10,6 g |
| Fosfato monopotásico | 11,1 g |

Los resultados analíticos se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14

| | Mes 0 | Mes 3 | Mes 4 | Mes 5 | Mes 6 | Mes 7 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| pH | 7,07 | 7,11 | 7,29 | 7,41 | 6,93 | 6,85 |

Los resultados mostraron que una cantidad muy pequeña de amortiguador puede estabilizar el pH en un rango estrecho deseado.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de complemento nutricional inyectable acuoso para ganado, caracterizada porque comprende:

5 un complejo de EDTA de uno o más oligoelementos;
 vitamina B₁₂; y
 un líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos, y
 en donde los oligoelementos están en una cantidad de 1 g a 100 g por litro de composición inyectable acuosa, en
 10 donde el uno o más oligoelementos están en una cantidad de 1 g a 100 g por litro de composición acuosa
 inyectable, en donde el uno o más oligoelementos comprenden al menos uno de zinc, cobre, manganeso, selenio
 y cromo, en donde la cantidad de oligoelemento se basa en el elemento en sí mismo y no en todo el complejo de
 oligoelementos o mezcla de complejos,
 en donde el líquido hidrosoluble se selecciona del grupo que consiste en propilenglicol, éteres de glicol de peso
 15 molecular no superior a 300, polietilenglicol de peso molecular no superior a 300, éter de dipropilenglicol
 monometilo y mezclas de estos,
 en donde el líquido hidrosoluble está presente en la composición acuosa inyectable en una cantidad de 20 g a 300
 g por litro.

20 2. El complemento nutricional inyectable acuoso de la reivindicación 1, caracterizado porque los uno o más
 oligoelementos comprenden al menos uno de zinc y cobre.

3. El complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
 caracterizado porque los oligoelementos están presentes en una cantidad de 20 g a 100 g por litro, preferentemente
 25 de 20 g a 100 g por litro de zinc, cobre o una mezcla de los mismos, preferentemente de 10 g a 60 g de zinc por
 litro, de 5 g a 30 g de cobre por litro o de 10 g a 30 g de cobre por litro.

4. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
 anteriores, caracterizada porque los oligoelementos comprenden al menos un oligoelemento adicional
 30 seleccionado entre manganeso, selenio y cromo.

5. La composición nutricional inyectable acuosa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
 caracterizada porque los oligoelementos comprenden zinc, cobre y selenio, preferentemente de 1 g a 10 g de
 selenio por litro de composición inyectable acuosa.

35 6. La composición nutricional inyectable acuosa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
 caracterizada porque la vitamina B₁₂ comprende al menos uno de cianocobalamina, hidroxocobalamina, acetato
 de hidroxocobalamina, metilcobalamina y aquacobalamina y mezclas de estos en una cantidad de 0,5 g a 8 g por
 litro de composición inyectable acuosa, preferentemente la cantidad de vitamina B₁₂ es una cantidad de 1 g a 8 g.

40 7. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
 anteriores, caracterizada porque comprende:

de 1 g a 5 g de cianocobalamina, hidroxocobalamina o mezclas de estas por litro;
 de 10 a 60 g de zinc por litro;
 45 de 10 g a 30 g de cobre por litro; y
 de 50 g a 200 g de líquido hidrosoluble seleccionado de glicoles, éteres de glicol y mezclas de estos por litro de
 composición inyectable acuosa.

50 8. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
 anteriores, caracterizada porque el complejo de EDTA está formado por EDTA disódico, EDTA dipotásico, EDTA
 de dialquilamonio, EDTA diamónico o mezclas de estos.

9. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
 anteriores, caracterizada porque comprende:

55 de 2 g a 4 g de cianocobalamina o acetato de hidroxocobalamina por litro
 de 20 g a 45 g de zinc por litro;
 de 10 g a 20 g de cobre por litro;
 de 3 g a 10 g de selenio por litro; y
 60 de 80 g a 180 g de propilenglicol por litro.

10. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las
 reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el pH de la composición inyectable acuosa está en el rango de 5
 a 8.

65 11. La composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las

reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende un contenido de agua de 40 % a 80 % v/v.

5 **12.** Un método para complementar el estado nutricional de ganado caracterizado porque comprende administrar mediante inyección subcutánea al ganado una composición de complemento nutricional inyectable acuoso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preferentemente, el ganado son animales rumiantes.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado porque se administra al ganado una dosis de la composición inyectable acuosa de entre 2 ml y 20 ml.