

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 935**

21 Número de solicitud: 201631536

51 Int. Cl.:

**A61K 38/11** (2006.01)

**A61K 38/24** (2006.01)

**A61P 15/08** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**30.11.2016**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**17.04.2017**

Fecha de la concesión:

**25.04.2018**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**04.05.2018**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE LEÓN (100.0%)**

**Avda. De La Facultad, Nº 25**

**24071 LEON (León) ES**

72 Inventor/es:

**DOMÍNGUEZ FERNÁNDEZ DE TEJERINA, Juan Carlos;**

**ALEGRE GUTIÉRREZ, Beatriz;**

**GONZÁLEZ MONTAÑA, José Ramiro;**

**ALONSO DE LA VARGA, Marta Elena y**

**MARTÍNEZ PASTOR, Felipe**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

54 Título: **COMPOSICIÓN VETERINARIA PARA LA FABRICACIÓN DE UN ADITIVO SEMINAL ÚTIL PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES**

57 Resumen:

Composición veterinaria para la fabricación de un estimulante seminal útil para inseminación artificial en animales. La presente invención se refiere a una composición para la fabricación de un aditivo seminal caracterizado porque contiene oxitocina, lecirelina y cafeína. El aditivo seminal es útil para aumentar la fertilidad y prolificidad en inseminación artificial en animales, concretamente en mamíferos, en casos de baja concentración seminal, astenospermia o en dosis seminales almacenadas durante un periodo prolongado de tiempo en refrigeración.

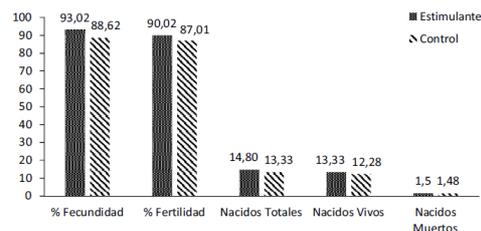


Figura 1

ES 2 608 935 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

**DESCRIPCIÓN**

**COMPOSICIÓN VETERINARIA PARA LA FABRICACIÓN DE UN ADITIVO SEMINAL ÚTIL PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES**

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención pertenece al campo técnico de la veterinaria, y más concretamente a la inseminación artificial aplicada al sector porcino. La invención se refiere en particular a una composición para la fabricación de un aditivo seminal útil en inseminación artificial de animales, en concreto de hembras porcinas con el fin de  
10 aumentar la fertilidad y prolificidad.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 El objetivo de la inseminación artificial porcina es lograr con un menor coste operativo y mayor ahorro de tiempo y organización laboral, lograr altos índices de preñez y un porcentaje menor al 15% de repeticiones, ya que cada celo que se pierde, o preñez que no se logra repercute negativamente en la efectividad productiva que se requiere, toda vez que se incrementa en otros 21 días el periodo parto-nueva concepción.

20

Una de las desventajas de la inseminación artificial es que puede requerir un nivel de manejo más alto que en monta natural. Por ejemplo, en la inseminación artificial existe mayor oportunidad de que ocurran errores humanos que con la monta natural. Cuando un cerdo semental o verraco monta a la hembra, el semen no está expuesto a grandes  
25 cambios ambientales, y generalmente es depositado en la hembra más de una vez, durante un período que comprende el momento óptimo para la fecundación.

Sin embargo, en la inseminación artificial, es posible que, mientras se colecta el semen, se diluye, se transporta y luego se le deposita artificialmente, ocurran muchos  
30 cambios ambientales. La inseminación debe hacerse correctamente y en el momento óptimo. Para obtener un alto porcentaje de gestaciones y camadas numerosas, la detección del estro debe ser hecha cuidadosamente y sin fallos.

La eficiencia de la inseminación artificial porcina depende tanto de la predicción del  
35 momento de ovulación como del protocolo de inseminación. Los protocolos actuales

de inseminación artificial están basados en la aplicación de los espermatozoides en las 24 horas anteriores a la ovulación, con el inconveniente añadido que la ovulación en la cerda es seriada y no simultánea para todos los ovocitos disponibles en cada ciclo.

5 La inseminación artificial porcina implica casi exclusivamente el uso de semen refrigerado recogido entre 1 y 7 días previo a su uso, aunque numerosos estudios indican que la fertilidad óptima requiere la inseminación dentro de las 48 horas siguientes a la recolección seminal, tanto si se utilizan diluyentes de corta como de larga conservación.

10

La congelación seminal permitiría eliminar las restricciones del tiempo y espacio para el uso de las dosis seminales. Sin embargo, la inseminación con semen criopreservado tiene un rendimiento reproductivo inferior al obtenido con semen refrigerado, tanto en el porcentaje de partos como en el tamaño de la camada. De hecho, solo se observan porcentajes aceptables de fertilidad cuando la inseminación se realiza en el intervalo de 4 horas antes de cada eclosión ovocitaria.

15

Se cree que el daño sufrido por el proceso de criopreservación podría inducir un efecto en los espermatozoides similar a la capacitación o al envejecimiento prematuro, asociado a un incremento de la fragmentación del ADN. Por tanto, el control de la capacitación y el envejecimiento prematuro del espermatozoides representa un punto de interés para la mejora de la fertilidad asociada al uso de semen criopreservado de porcino.

20

25 Los estimulantes seminales, también conocidos como potenciadores o aditivos seminales, son aquellas sustancias que no siendo necesarias para la conservación seminal, mejoran la fertilidad y/o la prolificidad del semen cuando son aplicadas a las dosis seminales en el momento inmediatamente anterior a la inseminación de la hembra, bien actuando sobre las características intrínsecas del semen (incrementando la motilidad, favoreciendo la capacitación espermática, etc.), o bien implicando en el organismo de la hembra inseminada reacciones favorables para el éxito fecundante de la inseminación.

30

Se ha descrito en el estado de la técnica el uso de estimulantes seminales. Los medios de dilución seminal se pueden clasificar en tres categorías: extensores

35

(incrementan el volumen seminal), protectores (conservan y protegen el semen) e implementadores (mejoran las condiciones de la fecundación y viabilidad embrionaria). Específicamente, en relación a los medios de dilución seminal de este último grupo, se hace referencia expresa a dos sustancias concretas como la hialuronidasa  
5 (favorecedora de la conjugación gamética) y la oxitocina (estimulante de las contracciones uterotubáricas que intervienen en el transporte espermático).

En el estado de la técnica se ha descrito el incremento de la fertilidad en la vaca y la cerda con estos estimulantes seminales. En los años 70, con el desarrollo de la  
10 fecundación "in vitro" (FIV), se comienzan a utilizar sustancias como las metilxantinas o los ionóforos de calcio, para favorecer la hipercinesis y la capacitación espermática necesarias para el éxito fecundante, especialmente de semen oligospermico e hipocinético. Un ejemplo de metilxantina es la cafeína, la cual resulta de utilidad  
15 práctica para mejorar la capacidad fecundante del semen refrigerado o congelado de cerdo, mejorando su vigor motriz, al actuar como activador de las células espermáticas.

Las sustancias oxióticas son sumamente importantes en la formulación de estimulantes seminales, concretamente en la cerda se ha descrito el efecto  
20 beneficioso en la mejora de la fertilidad tras su adición al semen de porcino , ya que existe una *"falta de estímulos coitales"* en el momento de la inseminación de las hembras, lo que se traduce en una disminución de las descargas oxióticas que el acto mecánico del coito conlleva y por lo tanto una disminución en la contractilidad del aparato genital disminuyendo su capacidad de absorción del semen hacia la zona de  
25 su encuentro con los ovocitos (oviducto).

Por otra parte, otro de los grupos de compuestos importantes en la inseminación artificial son las hormonas. Las hormonas reproductivas más frecuentemente utilizadas se incluyen en los siguientes grupos: gonadotropinas, progestágenos, análogos del  
30 factor liberador de las gonadotropinas (GnRH) y prostaglandinas. De forma general, se pueden decir que las gonadotropinas estarían indicadas para la estimulación del celo, los progestágenos para la sincronización del mismo, los análogos de la GnRH para el control de la ovulación y las prostaglandinas para la sincronización del parto o para la mejora de los procesos de involución uterina.

35

Específicamente, las GnRH sintéticas son unas 50 veces más potentes que las naturales, siendo un ejemplo la Lecirelina, la cual se une con más persistencia a los receptores Hipofisarios de la GnRH y se caracteriza por una potencia muy elevada.

5 Sin embargo, no existe en el estado de la técnica una composición que aúne la capacidad de aumentar la fertilidad y prolificidad en la inseminación artificial porcina. Era por tanto deseable una composición de estimulantes seminales que proporcionen una mayor eficiencia del proceso de inseminación artificial porcina frente a la monta natural, evitando los inconvenientes existentes en el estado de la técnica.

10

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención resuelve los problemas existentes en el estado de la técnica mediante una composición para la fabricación de un aditivo seminal que comprende  
15 una combinación de estimulantes seminales, que aplicados conjuntamente, permite unas dosificaciones más bajas en comparación a cuando se utilizan de forma individual, asegurando unos resultados homogéneos y constantes, con una alta repetitividad, a la vez que inducen la desestacionalización del efecto “verano” sobre la caída de la fertilidad, típica del ganado porcino (síndrome de infertilidad de verano).

20

La presente invención es una composición veterinaria para la fabricación de un aditivo seminal que comprende oxitocina, lecirelina y cafeína.

Dicha composición veterinaria para la fabricación de un aditivo seminal comprende  
25 (por mililitro) una concentración de oxitocina entre 1 y 3 UI/ml, concentración de lecirelina entre 0,2 y 0,8 µg/ml y cafeína en una concentración entre 1 y 3 mM.

Preferentemente, en la composición de la invención, la lecirelina seleccionada es acetato de lecirelina.

30

La composición veterinaria de la invención contiene un excipiente, que confieren a la composición de unas características de “autoesterilidad”. En una realización preferible, el excipiente es cloretona al 10%.

35 La composición veterinaria se presenta en forma líquida acuosa.

La composición veterinaria puede estar envasada en envases multidosis, de fácil aplicación en la práctica diaria de la inseminación artificial de animales.

5 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición como aditivo seminal útil para inseminación artificial en animales. Las tres sustancias activas citadas tienen, cada una en particular, distintas propiedades que, sumadas, actúan de una forma eficaz como aditivo seminal en la inseminación artificial de animales.

10 Una realización es la composición de la invención, donde dicha composición veterinaria se administra directamente en las dosis seminales en el momento previo a la inseminación artificial de animales.

Una realización es la composición de la invención, donde dichos animales son mamíferos.

15

Una realización más es la composición de la invención, donde dichos animales se seleccionan del grupo compuesto por cerdas, vacas, cabras y ovejas.

20 La composición de la invención puede emplearse en los casos de baja concentración seminal, determinados casos de astenospermia, y en dosis seminales almacenadas durante un periodo prolongado de tiempo en refrigeración (superior a dos días) en las que siempre se produce un descenso de la fertilidad.

## 25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 es el efecto del estimulante seminal sobre la fecundidad/fertilidad y prolificidad, en el año 2014, de un grupo de hembras que recibe el estimulante seminal frente a las que no reciben estimulante (Grupo control).

30

35

MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

Ejemplo 1. Preparación de la composición farmacéutica

5 Se prepararon lotes de 2.000 dosis, donde cada dosis va vehiculada en 1 ml, obteniéndose volúmenes totales de 2.000 ml. En un matraz Erlenmeyer aforado de 2.000 ml, perfectamente limpio y seco se añadieron los siguientes productos:

- 4000 UI de Oxitocina (Facilpart®. Laboratorios Syva SAU, presentación 10 U.I/ml).
- 10 - 1000 µg de Lecirelina acetato (Dalmarelin®. Fatro Ibérica S.L., presentación 25 µg/ml).
- 38,8 g de Cafeína (Caffeine -1,3,7-Trimethylxanthine- Sigma-Química, ref. C0750).
- Excipiente (Cloretona a una concentración final del 10%)

y se añade suero fisiológico hasta llegar a un volumen de 2000 ml.

15 Ejemplo 2. Eficacia de la composición en los estudios de campo

Para examinar el efecto de la composición farmacéutica preparada en el Ejemplo 1 anterior para su uso en inseminación artificial porcina, se llevaron a cabo estudios de campo de los efectos sobre la fecundidad, fertilidad al parto y prolificidad (media de los lechones nacidos totales (vivos o muertos) por parto). En las Tablas 1 y 2 se presentan los resultados de los estudios llevados a cabo, observándose como existen diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos experimentales con respecto a los grupos de control.

25 Los caracteres estadísticos de fecundidad (%fecundidad), la prolificidad (N.T.), número de nacidos vivos (N.V.) y la mortalidad (% de N.M. frente a N.T.) se realizó una ANOVA factorial, LSD Fisher y el paquete SAS (*Statistical Analysis System*).

30

35

**Tabla 1. Efectos sobre la fecundidad y fertilidad al parto**

Exp.	Composición	Grupos experimentales		Grupos controles	
		Fecundidad (%)	Fertilidad del Parto (%)	Fecundidad (%)	Fertilidad del Parto (%)
1	Oxitocina (2 UI)	90.26	88.89	83.23	82.22
2	GnRH sintética (0,5 µg)	91.67	89.98	92.07	87.95
3	Composición farmacéutica: Oxitocina (2 UI) + Lecirelina acetato (0,5 µg) + Cafeína (2 mM) + Excipiente(Cloretona 10%)	93.02	90.02	88.62	87.01

**Tabla 2. Efectos sobre la prolificidad**

Exp.	Composición	Grupos experimentales	Grupos controles
		(Media ± e.s. (n))	
1	Oxitocina (2 UI)	14.30 ± 0.29 (154)	12.75 ± 0.30 (161)
2	GnRH sintética (0,5 µg)	14.80 ± 0.31 (79)	13.28 ± 0.26 (124)
3	Composición farmacéutica: Oxitocina (2 UI) + Lecirelina acetato (0,5 µg) + Cafeína (2 mM) + Excipiente (Cloretona 10%)	14.80 ± 0.12 (860)	13.73 ± 0.09 (1824)

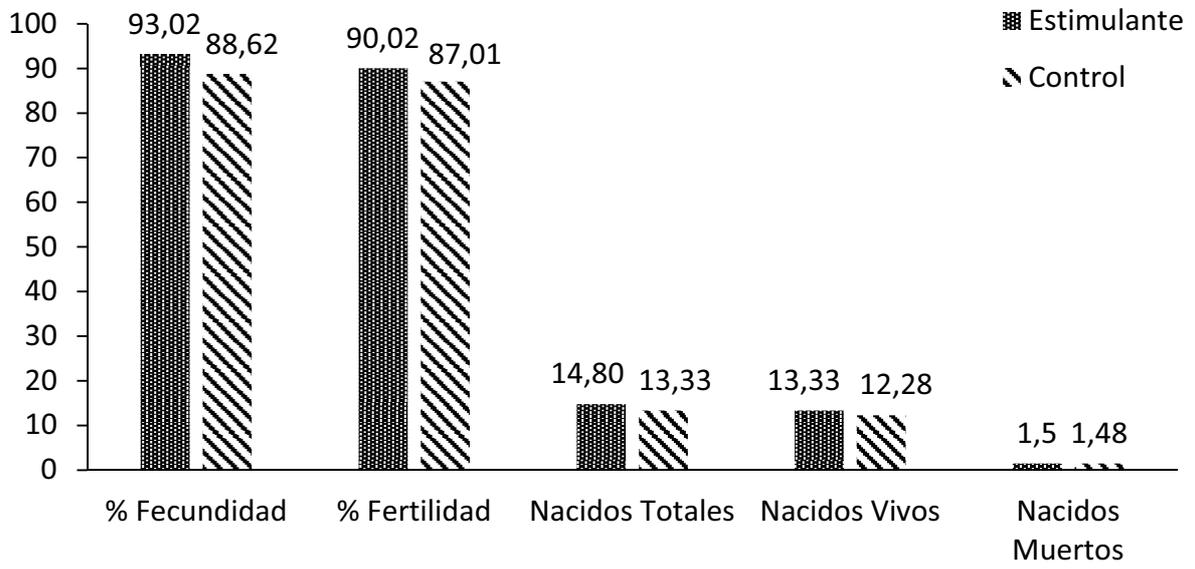
**REIVINDICACIONES**

1. Composición veterinaria, caracterizada por que comprende oxitocina, lecirelina y cafeína.
- 5
2. Composición veterinaria según la reivindicación 1, caracterizada por que la concentración de oxitocina es entre 1 y 3 UI/ml, la concentración de lecirelina es entre 0,2 y 0,8 µg/ml y la concentración de cafeína es entre 1 y 3 mM.
- 10
3. Composición veterinaria según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada por que comprende acetato de lecirelina.
4. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que comprende un excipiente.
- 15
5. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que dicho excipiente es cloretona al 10%.
6. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que la composición es en forma líquida acuosa.
- 20
7. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que está envasada en envases multidosis.
- 25
8. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que se administra directamente en las dosis seminales en el momento previo a la inseminación.
9. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 como aditivo seminal útil para inseminación artificial en animales.
- 30
10. Uso según la reivindicación 9, caracterizado por que dichos animales son mamíferos.
- 35
11. Uso según la reivindicación 10, caracterizado por que dichos mamíferos se

seleccionan del grupo compuesto por cerdas, vacas, cabras y ovejas.

12. Composición veterinaria según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en inseminación artificial en animales con baja concentración seminal o con astenospermia o para su uso como aditivo en dosis seminales almacenadas durante un periodo prolongado de tiempo en refrigeración.

5



**Figura 1**



- ②① N.º solicitud: 201631536  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.11.2016  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	<p>NGULA, José. DESARROLLO DE NUEVAS ESTRATEGIAS DE MANEJO DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL PARA EL CONTROL DE LA INFERTILIDAD ESTACIONAL EN EL GANADO PORCINO.. 11/02/2016 Recuperado de Internet &lt;URL: <a href="http://hdl.handle.net/10612/5431">http://hdl.handle.net/10612/5431</a>&gt;. Tesis Doctoral. Universidad de León. Páginas 81, 89-95. 109, 133, 161-167.</p>	1-12
A	<p>FRIES, H. C. C., et al.. INDUCTION AND SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN SOWS USING A GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ANALOG (LECIRELIN). . 2010, Vol. 7, Páginas 362-366. Todo el documento. Todo el documento.</p>	1-12
A	<p>EVANS, John J.; TULLOCH, Stephanie. EFFECTS OF ADMINISTRATION OF OXYTOCIN IN ASSOCIATION WITH GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ON LUTEINIZING HORMONE LEVELS IN RATS IN VIVO. 1995, Vol. 16, Páginas 145-150. Todo el documento. Todo el documento.</p>	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
31.03.2017

Examinador  
M. J. García Bueno

Página  
1/4

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61K38/11** (2006.01)

**A61K38/24** (2006.01)

**A61P15/08** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, USPTO PATENT DATABASE, JPO PATENT DATABASE, NPL, XPESP, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, GOOGLE PATENT, GOOGLE SCHOLAR.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.03.2017

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-12	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-12	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	NGULA, José. DESARROLLO DE NUEVAS ESTRATEGIAS DE MANEJO DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL PARA EL CONTROL DE LA INFERTILIDAD ESTACIONAL EN EL GANADO PORCINO.. Recuperado de Internet <URL: <a href="http://hdl.handle.net/10612/5431">http://hdl.handle.net/10612/5431</a> >	11.02.2016
D02	FRIES, H. C. C., et al. INDUCTION AND SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN SOWS USING A GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ANALOG (LECIRELIN). . Anim Reprod, Vol. 7, Páginas 362-366	2010
D03	EVANS, John J.; TULLOCH, Stephanie. EFFECTS OF ADMINISTRATION OF OXYTOCIN IN ASSOCIATION WITH GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE ON LUTEINIZING HORMONE LEVELS IN RATS IN VIVO. Peptides, Vol. 16, Nº 1, Páginas 145-150	1995

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud de invención consiste en una composición veterinaria para la fabricación de un estimulante seminal que contienen oxitocina, lecirelina y cafeína (reivindicaciones 1-12).

El documento D01 divulga un estudio de comparación de distintos aditivos seminales, entre ellos un compuesto formado por oxitocina y busarelina, y otro compuesto, de nombre Suinfort®, que consiste en un complejo hormonal y químico inductor de la ovulación de la cerda en celo, y que puede contener también estimulantes de la motilidad espermática como las metilxantinas (ver páginas 81, 89-95, 109, 133, 161-167).

El documento D02 divulga un estudio sobre la capacidad de inducción y sincronización de la ovulación en cerdas (ver todo el documento).

El documento D03 consiste en un estudio que demuestra la interacción de la oxitocina con GnRH en el control de la hormona luteinizante (ver todo el documento).

**1.- NOVEDAD (Art. 6.1 LP) Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 8.1 LP).**

Ninguno de los documentos D01-D03, o cualquier combinación relevante de ellos revela una composición con las hormonas reivindicadas en la presente solicitud de invención. Tampoco sería obvio para un experto en la materia utilizar la hormona sintética lecirelina en lugar de busarelina, divulgada en el documento D01, ya que los resultados obtenidos con la administración conjunta de oxitocina y busarelina no son satisfactorios.

Por lo tanto, los documentos D01-D03 son solo documentos que reflejan el estado de la técnica. En consecuencia, las reivindicaciones 1-12 son nuevas e implican actividad inventiva en el sentido de los artículos 6.1 y 8.1 LP.

**2.- PATENTABILIDAD (Art. 4.1 LP).**

Las reivindicaciones 1-12 cumplen con el requisito de patentabilidad en virtud del artículo 4.1 LP.