

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 860**

51 Int. Cl.:

A23K 20/163 (2006.01)
A23K 10/30 (2006.01)
A23K 20/10 (2006.01)
A23K 20/111 (2006.01)
A23K 50/30 (2006.01)
A23K 50/75 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
C11C 1/00 (2006.01)
C11B 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.01.2017 PCT/EP2017/051744**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.08.2017 WO17129732**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2017 E 17701706 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3407732**

54 Título: **Aditivo de alimento para animales que contiene diurnosida y/o cestrumosida**

30 Prioridad:

29.01.2016 AT 500492016

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.04.2021

73 Titular/es:

**NEUFELD GMBH (100.0%)
Sattelbach 13
2532 Heiligenkreuz, AT**

72 Inventor/es:

**NEUFELD, NINA y
NEUFELD, KLAUS**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 819 860 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

Aditivo de alimento para animales que contiene diurnosida y/o cestrumosida

La invención se refiere a un aditivo de alimento para animales para su uso en un proceso de inhibición de la proteína quinasa C.

- 5 La osteocondrosis/ discondroplasia y la debilidad de las patas son enfermedades comunes de las articulaciones que causan grandes pérdidas económicas en pollos de engorde, gallinas ponedoras, pavos, cerdos de engorde, cerdas de cría, rumiantes, pero también altos costos de terapia en caballos y perros. La causa exacta de la osteocondrosis/discondroplasia y de la debilidad de las patas no se ha podido definir claramente hasta ahora, pero la consecuencia es, en la mayoría de los casos en todas las especies animales, una deformación ósea con la
- 10 consiguiente cojera. Estos problemas se producen sobre todo en los animales que tienen un crecimiento corporal muy rápido.

- En la práctica, el tratamiento de la osteocondrosis/discondroplasia y la debilidad de las patas con los denominados antiinflamatorios no esteroideos tiene un éxito moderado. Sería, por ejemplo, el ácido acetilsalicílico, que es usado en grandes cantidades, especialmente en aves de corral y cerdos. Pero este ingrediente activo no debe ser usado para
- 15 las gallinas ponedoras y el ganado lactante. En otras especies de ganado agrícola, existen los denominados períodos de retiro para los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, es decir, el ingrediente activo no debe aplicarse durante algún tiempo antes de que los animales sean sacrificados. Aunque la experiencia ha demostrado que los problemas de osteocondrosis/discondroplasia y debilidad de las patas se producen sobre todo al final del período de engorde, cuando los animales ya han alcanzado un elevado peso corporal. Este período a menudo se superpone con
- 20 el período de retiro. En principio, en la agricultura y también los legisladores se esfuerzan por reducir el uso de medicamentos en los animales de producción. Por consiguiente, desde el punto de vista económico, es necesario contar con sustancias activas que puedan prevenir el desarrollo de la osteocondrosis/discondroplasia y la debilidad de las piernas, ya que cuando se presenta los síntomas ya se producen considerables pérdidas económicas.

- La urolitiasis es un acontecimiento patológico que se produce con frecuencia, especialmente en las aves de corral, en el que son depositados complejos minerales en la zona del tracto urogenital. La urolitiasis conduce a una obstrucción del tracto urinario y, en la mayoría de los casos, a un trastorno funcional de los riñones. La importancia económica de la urolitiasis es particularmente significativa en las gallinas ponedoras, ya que, por una parte, puede dar lugar a una reducción del rendimiento de la puesta, y por la otra, a un aumento de la tasa de mortalidad.

- Inesperadamente, ha sido demostrado que la administración de un aditivo de alimento para animales / alimento para animales que contiene un inhibidor de la proteína vegetal quinasa C (inhibidor de la PKC) seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas, produce una incidencia significativamente menor de osteocondrosis / discondroplasia y debilidad de las patas (leg weakness). Inesperadamente, también ha sido demostrado que la administración de tal aditivo/alimento para animales conduce a una reducción significativa de la prevalencia de la urolitiasis, en particular en las aves de corral de producción.

- 35 La invención, por lo tanto, se refiere en un aspecto a un aditivo de alimento para animales para su uso en la profilaxis de la discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o en la profilaxis de la urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición, siendo que el aditivo de alimento para animales contiene un inhibidor de la proteína quinasa C seleccionado a partir de diurnosida, cestrumosida y sus interferencias.

- Los sacáridos de *Cestrum diurnum* son conocidos, por ejemplo, a partir del artículo "A Titogenin Pentasaccharide from *Cestrum Diurnum*" de V.U. Ahmad et al., publicado en *Phytochemistry*, Vol. 34, Nr. 2, págs. 511-515, 1993. En este artículo es descrito el aislamiento de diurnosida de material vegetal. En el documento WO 2007/066355 A1 es descrita la producción de extractos enriquecidos de hojas y flores de *Cestrum diurnum* y su uso como aditivo de alimento para animales.

- Debido a que las sustancias activas diurnosida y cestrumosida son costosas, han sido buscadas sustancias que permitieran un uso económico de la diurnosida y la cestrumosida. Han sido probadas diferentes sustancias en varias series de ensayos.

- Inesperadamente, ha sido comprobado que la cantidad de diurnosida y/o cestrumosida puede reducirse con el mismo efecto, por ejemplo, respecto de la biodisponibilidad, si estos ingredientes activos son usados en combinación con uno o más ingredientes opcionales seleccionados de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger*, micelio fúngico de *Aspergillus oryzae* y queleritrina. Por medio de los ingredientes opcionales mencionados anteriormente, ha sido posible reducir la dosis efectiva de cestrumosida y diurnosida a más de la mitad. Este enfoque permite un uso más económico en la práctica.

- El documento WO 2011/127496 A1 describe un aditivo de alimento para animales, que contiene un extracto vegetal que comprende alcaloides y un extracto o material del género *magnolia*. El documento EP 2 070 523 A1 describe una composición con magnolol y honokiol en una cantidad sinérgica y el uso de esta mezcla como medicamento. En ninguna de las publicaciones mencionadas se describe la combinación con la cestrumosida y/o diurnosida para la aplicación de acuerdo con la invención.

La invención por lo tanto se refiere, en una realización a un aditivo de alimento para animales para aplicación en un proceso para la inhibición de la proteína quinasa C, que comprende el ingrediente activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas, en combinación con uno o más ingredientes adicionales seleccionados de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger*, micelio fúngico de *Aspergillus oryzae* y queleritrina.

- 5 En una realización de la invención, el aditivo de alimento para animales contiene el ingrediente activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas en combinación con magnolol y/o honokiol.

En otra realización el aditivo de alimento para animales contiene el ingrediente activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas en combinación con micelio fúngico de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus oryzae*.

- 10 En otra realización el aditivo de alimento para animales contiene el ingrediente activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas en combinación con queleritrina.

El inhibidor de la PKc contenido en el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención, así como los ingredientes opcionales contenidos pueden ser de origen natural o sintético.

- 15 Un inhibidor de la PKc o ingrediente opcionalmente contenido de origen natural puede estar presente, por ejemplo, en forma de materiales vegetales y/o extractos de plantas. La producción de los extractos de plantas se puede llevar a cabo mediante procedimientos conocidos, como la extracción sólido-líquido con agua, agua caliente o vapor o con disolventes orgánicos como el etanol o el metanol o con mezclas de disolventes o mezclas de tales disolventes con agua o mediante la extracción con CO₂ supercrítico como agente de extracción. Preferentemente, la extracción se lleva a cabo a temperaturas en el intervalo de 20 °C a 160 °C. Los extractos son ajustados al contenido de ingredientes activos deseado mezclando lotes individuales o mediante la mezcla con sustancias portadoras inertes. El análisis de los contenidos de ingrediente activo es realizado mediante HPLC.

De acuerdo con una realización, el aditivo de alimento para animales contiene el inhibidor de PKc seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas, en combinación con un metabolito de vitamina D3, preferentemente seleccionado de calcifediol y calcitriol. Preferentemente la relación del inhibidor de la PKc y el metabolito de la vitamina D3 está en el intervalo de 1:1000 a 1000:1, preferentemente en el intervalo de 1:100 a 100:1.

- 25 El aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención comprende el inhibidor de la PKc seleccionado de diurnosida y/o cestrumosida, opcionalmente combinado con uno o más ingredientes adicionales, seleccionado de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger*, micelio fúngico de *Aspergillus oryzae* y queleritrina, junto con una sustancia portadora para facilitar la dosificación del ingrediente activo. Esta sustancia portadora puede seleccionarse, por ejemplo, de excipientes vegetales o minerales, tal como harina de pienso, afrecho, harinas verdes vegetales, salvados, minerales de arcilla, zeolitas, silicatos, etc.

El inhibidor de la PKc seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas, preferentemente está presente en el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención en una dosificación de 0,1 mg a 20 000 mg, más preferentemente de 1 mg a 1000 mg, por kg de aditivo de alimento para animales.

- 35 La dosificación de magnolol y/o honokiol en el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención preferentemente está en el intervalo de 0,5 g a 50 g por kg de aditivo de alimento para animales.

La dosificación de micelio fúngico de *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae* en el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención preferentemente está en el intervalo de 500.000 mg a 999.999,9 mg/kg de aditivo de alimento para animales.

- 40 La dosificación de queleritrina en el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención preferentemente está en el intervalo de 0,1 g a 10 g por kg de aditivo de alimento para animales.

La invención también se refiere a un alimento para animales que comprende un aditivo de alimento para animales, tal como se ha descrito antes, para su uso para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de la urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición junto con al menos un componente de piensos, seleccionado del grupo compuesta por portadores de proteínas, portadores de carbohidratos, forraje, ensilaje, grasas, vitaminas, minerales y oligoelementos.

- 45 El alimento para animales de acuerdo con la invención contiene el inhibidor de PKc seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas, preferentemente en una dosificación de 0,0001 mg a 3 mg por kilogramo de alimento, respecto de alimento con 88 % de sustancia seca. Es posible usar dosificaciones más elevadas que son efectivas, pero encarecen el uso en el alimento para animales.

- 50 En otras realizaciones, el alimento para animales de acuerdo con la invención contiene el inhibidor de PKc seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas en combinación con una o varias sustancias de contenido opcionales, seleccionadas de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger*, micelio fúngico de *Aspergillus oryzae* y queleritrina.

La dosificación de magnolol y/o honokiol en el alimento para animales preferentemente está en el intervalo de 0,1 mg

a 10 mg por kg de pienso, más preferentemente en el intervalo de 0,3 mg a 3 mg por kg de pienso (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

5 La dosificación de micelio fúngico de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus oryzae* en el alimento para animales preferentemente está en el intervalo de 50 mg a 5000 mg por kg de pienso, más preferentemente en el intervalo de 200 a 2.000 mg por kg de pienso (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

La dosificación de quelerritrina en el alimento para animales preferentemente está en el intervalo de 0,05 mg a 5 mg por kg de pienso (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

10 La invención también se refiere a una premezcla para la preparación de un alimento para animales. La premezcla contiene un aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención junto con al menos un componente de pienso, seleccionado del grupo compuesta por portadores de proteínas, portadores de carbohidratos, forraje, ensilaje, grasas, vitaminas, minerales y oligoelementos.

15 De acuerdo con otra característica, la invención se refiere al uso de un inhibidor de la proteínquinasa C seleccionado de diurnosida y/o cestrumosida en un aditivo de alimento para animales o en el aditivo para el agua potable para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición. El inhibidor de la proteínquinasa C es administrado al animal preferentemente en una cantidad de 0,00001 mg a 0,3 mg por kilogramo de masa corporal por día.

20 La invención también se refiere al uso de un inhibidor de la proteínquinasa C seleccionado de diurnosida y/o cestrumosida en combinación con una o varias sustancias de contenido opcionales, seleccionadas de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae* y quelerritrina, en un aditivo de alimento para animales o un aditivo para el agua potable para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición.

El magnolol y/o honokiol se le administra al animal preferentemente en una cantidad de 0,004 mg a 1 mg por kilogramo de masa corporal por día.

25 El micelio fúngico de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus oryzae* se le administra al animal preferentemente en una cantidad de 2 mg a 500 mg por kilogramo de masa corporal por día.

La quelerritrina es administrada al animal preferentemente en una cantidad de 0,002 mg a 0,5 mg por kilogramo de masa corporal por día.

30 El aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención también puede ser un aditivo para el agua potable. Las cantidades apropiadas de las sustancias activas y los ingredientes facultativos pueden ser equivalentes a las cantidades antes indicadas kg de masa corporal por día.

35 La invención también se refiere al uso de un inhibidor de la proteínquinasa C seleccionado de diurnosida y/o cestrumosida, dado el caso en combinación con una o varias sustancias de contenido opcionales, seleccionadas de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae* y quelerritrina, para la preparación de un aditivo de alimento para animales o un pienso o una premezcla de alimento para animales o de un aditivo para el agua potable para uso para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición.

A continuación, la invención es explicada con mayor detalle en base a los ejemplos con referencia a las figuras, en las que se muestra:

40 Fig. 1 la incidencia de la osteocondrosis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control cero, un grupo de control con calcitriol y un grupo de control con calcifediol;

Fig. 2 la incidencia de la osteocondrosis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

45 Fig. 3 la incidencia de urolitiasis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 4 la incidencia de osteocondrosis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 5 la incidencia de urolitiasis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

50 Fig. 6 la incidencia de osteocondrosis en ensayos de alimentación con pollos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 7 la incidencia de urolitiasis en ensayos de alimentación con gallinas ponedoras que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 8 la incidencia de bultos en la pechuga como indicador de debilidad de piernas en ensayos de alimentación con gallinas ponedoras que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 9 la incidencia de osteocondrosis en ensayos de alimentación con cerdos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control;

Fig. 10 la incidencia de osteocondrosis en ensayos de alimentación con cerdos de engorde que usan aditivos de piensos adecuados de la invención en comparación con el grupo de control.

10 Ejemplos

Ejemplo 1

En una granja comercial de engorde de pollos de engorde, fueron comparados cinco corrales con aproximadamente 43.000 animales cada uno con respecto a la aparición de osteocondrosis/discondroplasia en ensayos de campo. Todos los corrales fueron alimentados con pienso habitual en el mercado para el engorde de pollos comercializado bajo el nombre de Poultry Fattening Grain® (empresa Garant Tiernahrung), sin que fueran usados otros aditivos en el corral K1 (control).

Para el corral K2 (grupo de control calcitriol), fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos un aditivo alimenticio con un contenido de 20 ppm de calcitriol y una cantidad de 150 ppm (respecto del alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral K2 (grupo de control calcifediol) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos un aditivo alimenticio con un contenido de 200 ppm de calcifediol en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V1 (grupo de ensayo diurnosida + calcitriol) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida y 10 ppm de calcitriol en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V2 (grupo de ensayo cestrumosida + calcifediol) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida y 100 ppm de calcifediol en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

El ensayo comenzó con el alojamiento de los animales en corrales en el primer día de vida y terminó con el sacrificio de los animales en el trigésimo día de vida. Después del sacrificio, fueron tomados 100 cadáveres al azar de cada corral. Fueron realizados exámenes patológicos de osteocondrosis en estos 500 cadáveres. Los resultados son mostrados en la Fig. 1. En la Figura 1 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de osteocondrosis/discondroplasia en un emprendimiento de engorde de pollos en condiciones de producción normales. Además, es evidente que las dosis efectivas de Calcitriol y Calcifediol podrían reducirse a la mitad. Fue comprobado que la movilidad de los animales que usaban las sustancias de prueba era significativamente mejor que en el grupo de control cero.

Ejemplo 2

En una granja comercial de engorde de pollos de engorde, fueron comparados cinco corrales con aproximadamente 43.000 animales cada uno con respecto a la aparición de osteocondrosis/discondroplasia en ensayos de campo. Todos los corrales fueron alimentados con pienso habitual en el mercado para el engorde de pollos comercializado bajo el nombre de GeflügelmastKorn® (empresa Garant Tiernahrung), sin que fueran usados otros aditivos en el corral K1 (control).

Para el corral V1 (grupo de ensayo diurnosida) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V2 (grupo de ensayo cestrumosida) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V3 (grupo de ensayo diurnosida + magnolol/honokiol) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida y 2 % de una mezcla compuesta por magnolol/honokiol (magnolol/honokiol en una relación de 2:1) en una cantidad de 50 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V4 (grupo de ensayo cestrumosida + magnolol/honokiol) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida y 2 % de una mezcla compuesta por magnolol/honokiol (magnolol/honokiol en una relación de 2:1) en una cantidad de 50 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

El ensayo comenzó con el alojamiento de los animales en el corral en el primer día de vida y terminó con el sacrificio de los animales en el trigésimo día de vida. Después del sacrificio, fueron tomados 100 cadáveres al azar de cada corral. En estos 500 cadáveres fueron realizados exámenes patológicos para detectar osteocondrosis y urolitiasis (formación de cálculos urinarios reconocibles macroscópicamente). Los resultados son mostrados en las Figuras 2 y 3. En la Figura 2 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de osteocondrosis/discondroplasia en un emprendimiento de engorde de pollos en condiciones de producción normales. Fue comprobado que la movilidad de los animales en cuestión era significativamente mejor que en el grupo de control. En la figura 3 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de la urolitiasis en una unidad de engorde de pollos en condiciones de producción normales.

Ejemplo 3

En una granja comercial de engorde de pollos de engorde, fueron comparados cinco corrales con aproximadamente 43.000 animales cada uno con respecto a la aparición de osteocondrosis/discondroplasia y urolitiasis en ensayos de campo. Todos los corrales fueron alimentados con pienso habitual en el mercado para el engorde de pollos comercializado bajo el nombre de GeflügelmastKorn® (empresa Garant Tiernahrung), sin que fueran usados otros aditivos en el corral K (control).

Para el corral V1 (grupo de ensayo diurnosida + *Aspergillus niger*) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 10 ppm de diurnosida y un contenido de 90 % de micelio de *Aspergillus niger* en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V2 (grupo de ensayo cestrumosida + *Aspergillus oryzae*) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 2 ppm de cestrumosida y un contenido de 90 % de micelio de *Aspergillus oryzae* en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V3 (grupo de ensayo diurnosida + queleritrina) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida y 1 % de queleritrina en una cantidad de 50 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V4 (grupo de ensayo cestrumosida + queleritrina) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida y 1 % ppm de queleritrina en una cantidad de 50 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

El ensayo comenzó con el alojamiento de los animales en el corral en el primer día de vida y terminó con el sacrificio de los animales en el trigésimo día de vida. Después del sacrificio, fueron tomados 100 cadáveres al azar de cada corral. En estos 500 cadáveres fueron realizados exámenes patológicos para detectar osteocondrosis y urolitiasis. Los resultados son mostrados en las Figuras 4 y 5. En la figura 4 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de osteocondrosis/discondroplasia en un emprendimiento de engorde de pollos en condiciones de producción normales. Fue comprobado que la movilidad de los animales en dicho emprendimiento era significativamente mejor que en el grupo de control. En la Figura 5 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de la urolitiasis en una unidad de engorde de pollos en condiciones de producción normales.

Ejemplo 4

En una granja comercial de engorde de pollos de engorde, fueron comparados tres corrales con aproximadamente 43.000 animales cada uno con respecto a la aparición de osteocondrosis/discondroplasia y urolitiasis en ensayos de campo. Todos los corrales fueron alimentados con pienso habitual en el mercado para el engorde de pollos comercializado bajo el nombre de GeflügelmastKorn® (empresa Garant Tiernahrung), sin que fueran usados otros aditivos en el corral K (control).

Para el corral V1 (grupo de ensayo diurnosida + cestrumosida + magnolol/honokiol + *Aspergillus niger*) fue mezclado en el alimento para el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 10 ppm de diurnosida, 2 ppm de cestrumosida, 1.000 ppm de una mezcla compuesta por magnolol/honokiol (magnolol/honokiol en una relación de 2:1) y un contenido de 90 % de micelio de *Aspergillus niger* en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el corral V2 (grupo de ensayo diurnosida + cestrumosida + *Aspergillus oryzae*) fue mezclado en el alimento para

el engorde de pollos el aditivo para alimentos para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 10 ppm de diurnosida, 2 ppm de estrumosida y un contenido de 90 % de micelio de *Aspergillus oryzae* en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 5 El ensayo comenzó con el alojamiento de los animales en el corral en el primer día de vida y terminó con el sacrificio de los animales en el trigésimo día de vida. Después del sacrificio, fueron tomados 100 cadáveres al azar de cada corral. En estos 300 cadáveres fueron realizados exámenes patológicos para detectar osteocondrosis y urolitiasis. Los resultados son mostrados en las Figuras 6 y 7. En la figura 6 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de osteocondrosis/discondroplasia en un emprendimiento de engorde de pollos en condiciones de producción normales. Fue comprobado que la
- 10 movilidad de los animales en dicho emprendimiento era significativamente mejor que en el grupo de control. En la figura 7 puede observarse que el aditivo de alimento para animales de acuerdo con la invención fue capaz de reducir significativamente la incidencia de la urolitiasis en una unidad de engorde de pollos en condiciones de producción normales.

Ejemplo 5

- 15 En un corral de ensayo fueron comparados cuatro grupos de gallinas ponedoras con 50 animales por grupo en relación con la aparición de debilidad en las patas. Todos los grupos de ensayo fueron alimentados con pienso habitual en el mercado para gallinas ponedoras comercializado bajo el nombre de LegeKorn® (empresa Garant Tiernahrung), sin que se usara ningún otro aditivo en el pienso del grupo de control.

- 20 Para el grupo de ensayo 1 fue mezclado en el alimento de ponedoras un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el grupo de ensayo 2 fue mezclado en el alimento de ponedoras un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 25 Para el grupo de ensayo 3 fue mezclado en el alimento de ponedoras un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 50 ppm de diurnosida y 10 ppm de cestrumosida en una cantidad de 150 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 30 El ensayo comenzó en la semana de vida 19ª de los animales. Los animales se mantenían sobre paja como cama en cuatro compartimentos y pisos. Los nidos para poner huevos fueron separados y también equipados con paja como material de cama. El ensayo terminó después de 15 meses con el sacrificio de los animales. Después del sacrificio, todos los cadáveres fueron sometidos a un examen patológico macroscópico para detectar bultos en la pechuga (breast blisters). Un bulto de la pechuga es un quiste entre el esternón y la piel superpuesta, causado por el mayor tiempo de estar recostada sobre la pechuga. Dado que este tipo de descanso se produce con mayor frecuencia en aves de corral con debilidad en las patas que en animales sanos, la frecuencia de bultos en las pechugas fue usado
- 35 como indicador de movilidad restringida y, por lo tanto, de debilidad en las patas. Los resultados del ensayo se muestran en la Fig. 8. En la figura 8 se puede observarse que, usando las sustancias de ensayo correspondientes, la incidencia de bultos en las pechugas como indicador de debilidad en las piernas se redujo significativamente en comparación con el grupo de control.

Ejemplo 6

- 40 En un establo de ensayo fueron comparados cinco grupos de cerdos de engorde machos con 20 animales por grupo respecto de la aparición de osteocondrosis. Los animales fueron alojados en el establo con un peso promedio por grupo de 30 kg. Todos los grupos de ensayo fueron alimentados con piensos de engorde de cerdos habituales en el mercado, comercializados bajo el nombre de SchweinemastKorn® OGT (empresa Garant Tiernahrung), por lo que no fueron usados aditivos adicionales en los piensos de grupo de control.

- 45 Para el grupo de ensayo 1 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida en una cantidad de 100 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 50 Para el grupo de ensayo 2 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida en una cantidad de 100 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

Para el grupo de ensayo 3 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 10 ppm de diurnosida y un contenido de 90 % de micelio de *Aspergillus oryzae* en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 55 Para el grupo de ensayo 4 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 2 ppm de cestrumosida y un contenido de 90 % de micelio de

Aspergillus niger en una cantidad de 500 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).

- 5 Los animales fueron engordados hasta un peso promedio de 100 kg por grupo. El ensayo finalizó con el sacrificio de los animales. Después del sacrificio, la articulación de la rodilla derecha (género Articulatio) de cada cadáver fue sometida a un examen patológico macroscópico para detectar osteocondrosis. Los resultados del ensayo se muestran en la Fig. 9. En la figura 9 puede observarse que la incidencia de la osteocondrosis en la articulación de la rodilla derecha fue significativamente menor que en el grupo de control que usa las sustancias de acuerdo con la invención. También se pudo observar una tendencia a la disminución de los animales con trastornos de movilidad (sentados) en los grupos de ensayo.

Ejemplo 7

- 10 En un establo de ensayo fueron comparados tres grupos de cerdos de engorde machos con 20 animales por grupo respecto de la aparición de osteocondrosis. Los animales fueron alojados en el establo con un peso promedio por grupo de 30 kg. Todos los grupos de ensayo fueron alimentados con piensos de engorde de cerdos habituales en el mercado, comercializados bajo el nombre de SchweinemastKorn® OGT (empresa Garant Tiernahrung), por lo que no fueron usados aditivos adicionales en los piensos de grupo de control.
- 15 Para el grupo de ensayo 1 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 100 ppm de diurnosida y 10 ppm de calcifediol en una cantidad de 100 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).
- 20 Para el grupo de ensayo 2 fue mezclado en el alimento de engorde para cerdos un aditivo para alimento para animales de acuerdo con la invención con un contenido de 20 ppm de cestrumosida y 10 ppm de calcitriol en una cantidad de 100 ppm (respecto de alimento con 88 % de sustancia seca).
- 25 Los animales fueron engordados hasta un peso promedio de 100 kg por grupo. El ensayo finalizó con el sacrificio de los animales. Después del sacrificio, la articulación de la rodilla derecha (género Articulatio) de cada cadáver fue sometida a un examen patológico macroscópico para detectar osteocondrosis. Los resultados del ensayo se muestran en la Fig. 10. En la figura 10 puede observarse que la incidencia de la osteocondrosis en la articulación de la rodilla derecha fue significativamente menor que en el grupo de control que usa las sustancias de acuerdo con la invención.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Aditivo de alimento para animales para aplicar en un procedimiento para la inhibición de la proteínquinasa C para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición, **caracterizado porque** el aditivo de alimento para animales comprende diurnosida, cestrumosida o una de sus mezclas en combinación con una o varias otras sustancias contenidas, seleccionadas de magnolol, honokiol y sus mezclas, micelio fúngico de *Aspergillus niger*, micelio fúngico de *Aspergillus oryzae* y queleritrina.
- 10 3. Aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** contiene diurnosida, cestrumosida o una de sus mezclas en combinación con micelio fúngico de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus oryzae*.
- 15 5. Aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición.
- 20 6. Aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** el principio activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas está presente en combinación con un metabolito de vitamina D3, preferentemente seleccionado de calcifediol y calcitriol.
- 25 7. Aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado porque** la relación entre el principio activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas y el metabolito de vitamina D3, preferentemente seleccionado de calcifediol y calcitriol, está en el intervalo de 1:1.000 a 1.000:1, preferentemente en el intervalo de 1:100 a 100:1.
- 30 9. Alimento para animales para uso para la profilaxis de discondroplasia, osteocondrosis y/o debilidad de las patas o para la profilaxis de urolitiasis en animales de producción, mascotas y animales de afición, **caracterizado porque** contiene un aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8 junto con al menos un componente de pienso, seleccionado del grupo compuesta por portadores de proteínas, portadores de carbohidratos, forraje, ensilaje, grasas, vitaminas, minerales y oligoelementos.
- 35 10. Alimento para animales para uso de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado porque** contiene el principio activo seleccionado de diurnosida, cestrumosida y sus mezclas en una dosificación de 0,0001 mg a 3 mg por kilogramo de alimento, con respecto a un alimento con el 88 % de sustancia seca.
- 40 11. Premezcla para la preparación de un alimento para animales para uso de acuerdo con las reivindicaciones 9 o 10 **caracterizado porque** contiene un aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8 junto con al menos un componente de pienso, seleccionado del grupo compuesta por portadores de proteínas, portadores de carbohidratos, forraje, ensilaje, grasas, vitaminas, minerales y oligoelementos.
12. Aditivo de alimento para animales para uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8 **caracterizado porque** el principio activo se le administra al animal en una cantidad de 0,00001 mg a 0,3 mg por kilogramo de peso corporal por día.

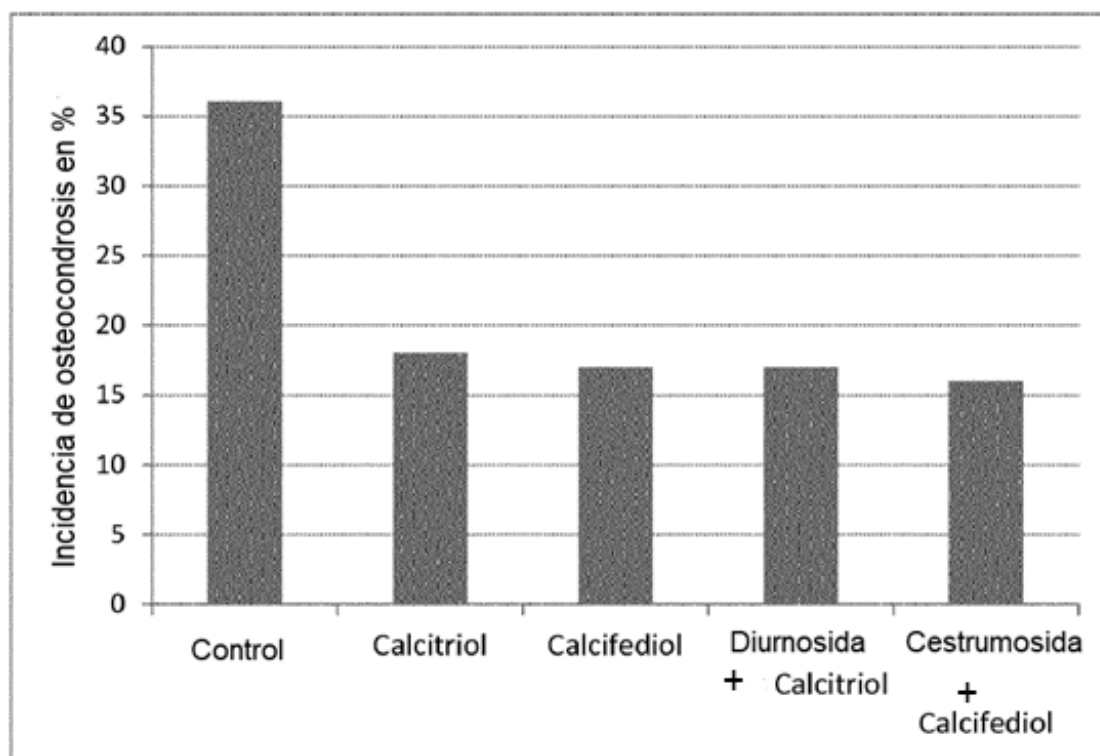


FIG. 1

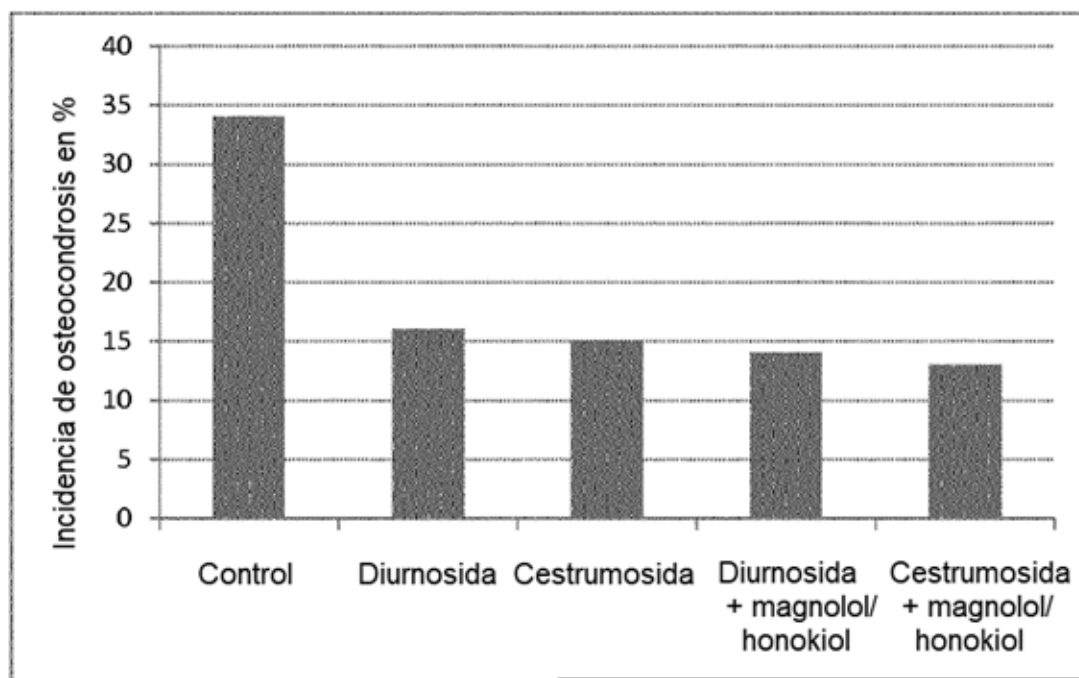


FIG. 2

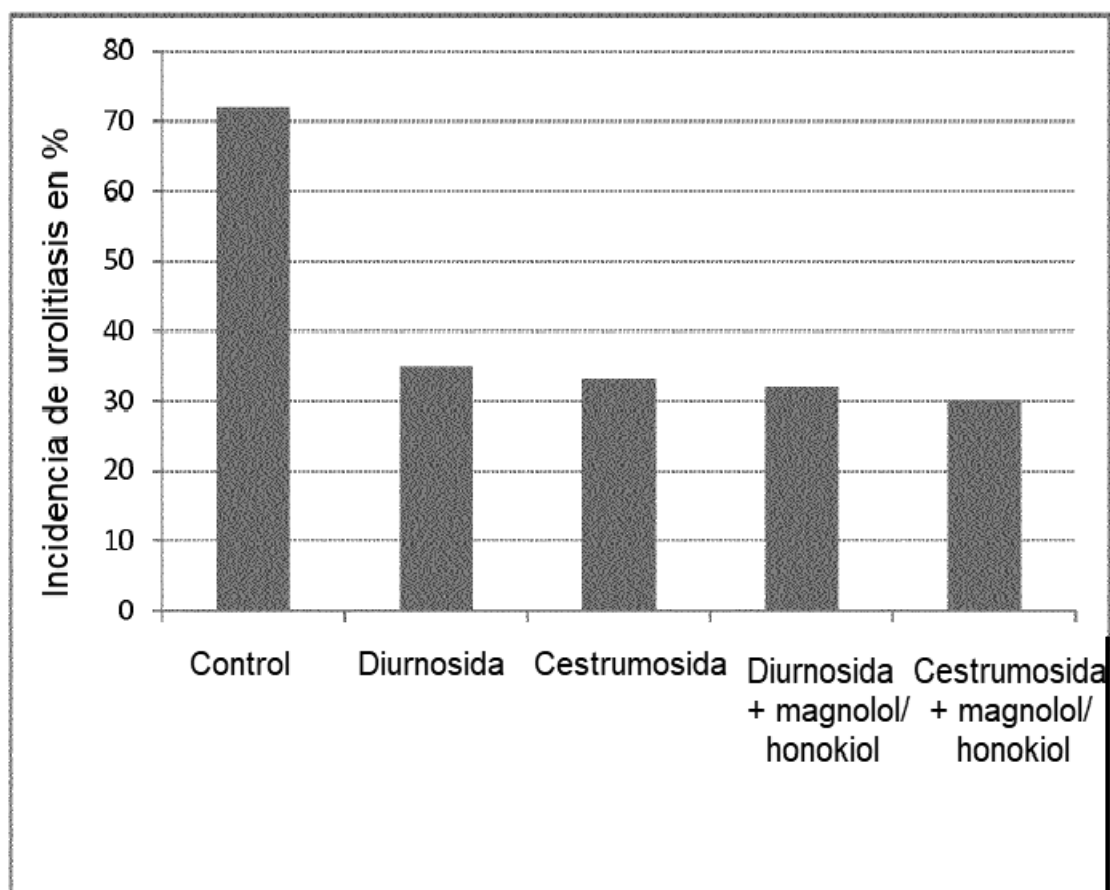


FIG. 3

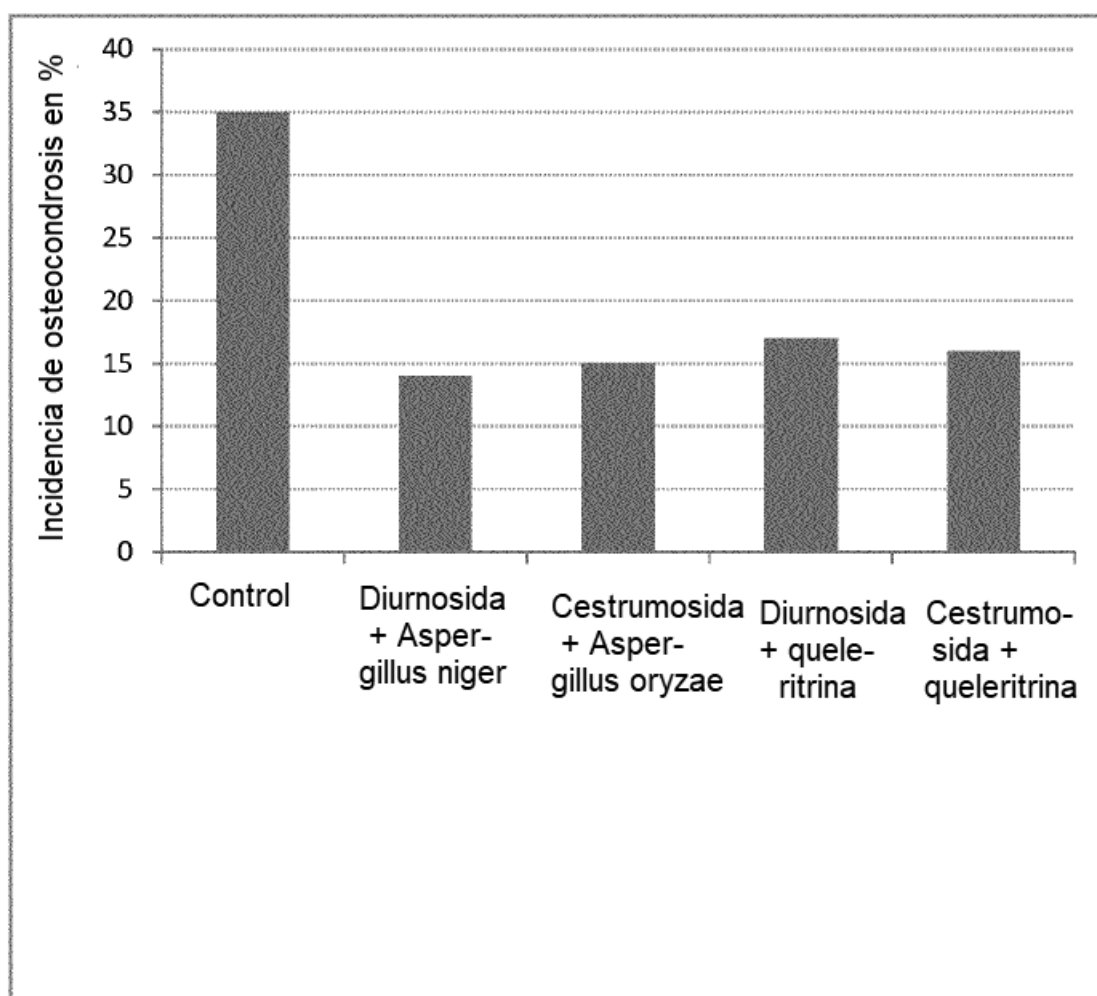


FIG. 4

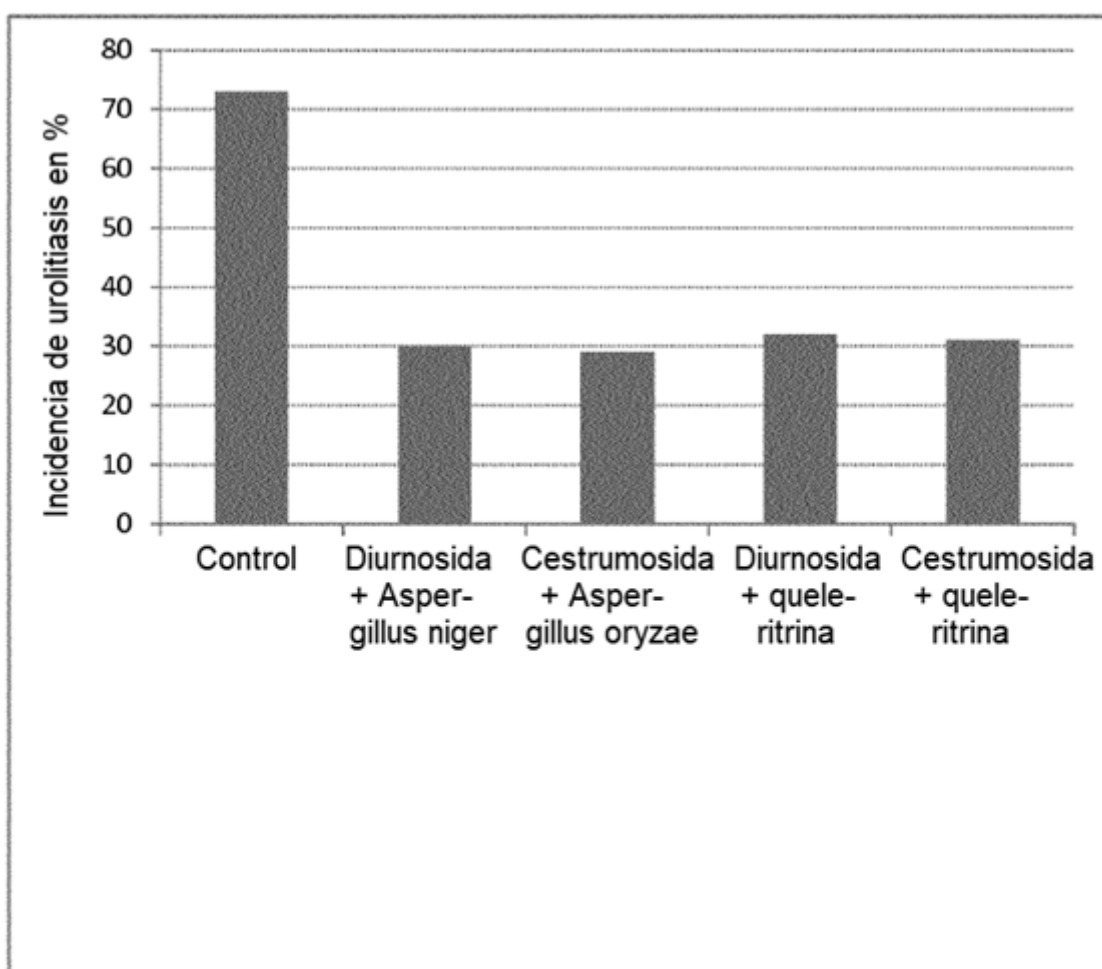


FIG. 5

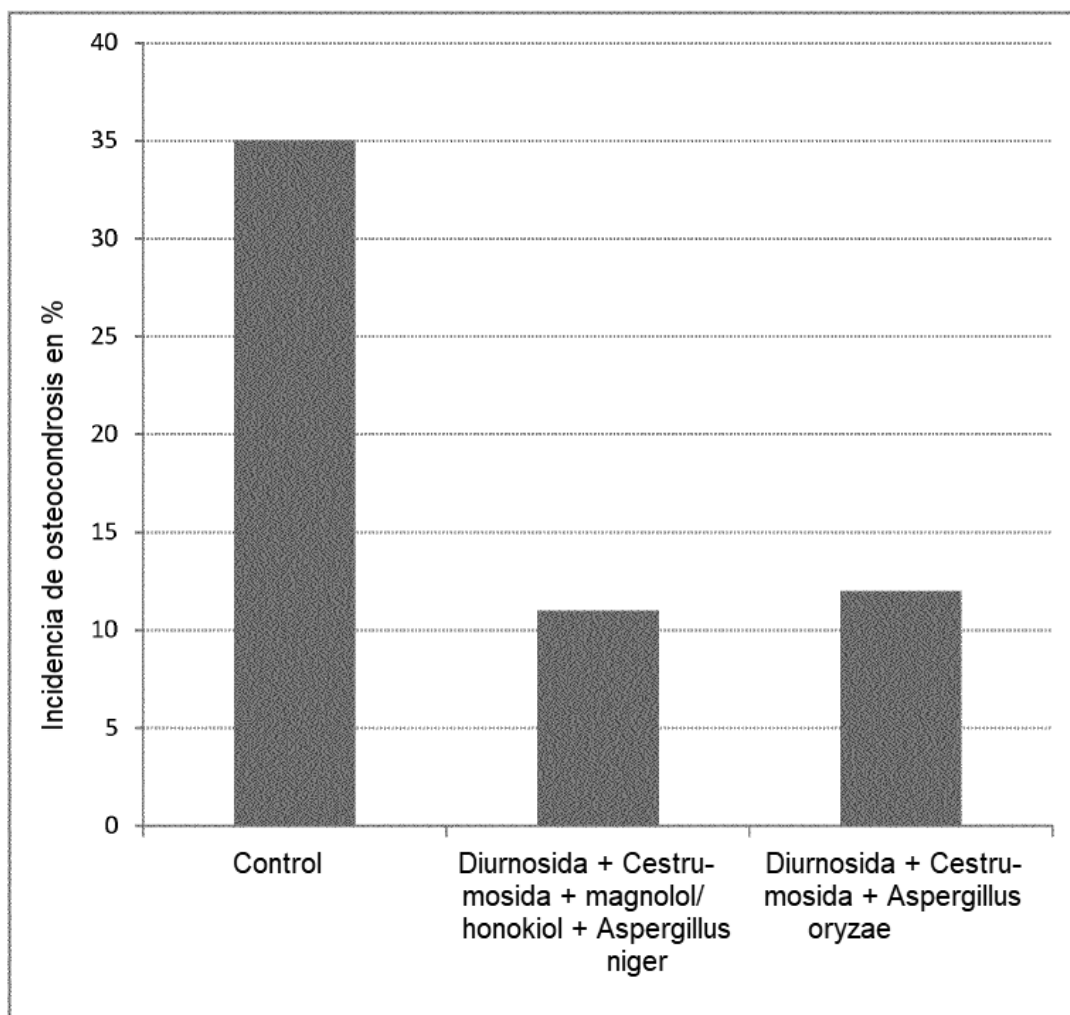


FIG. 6

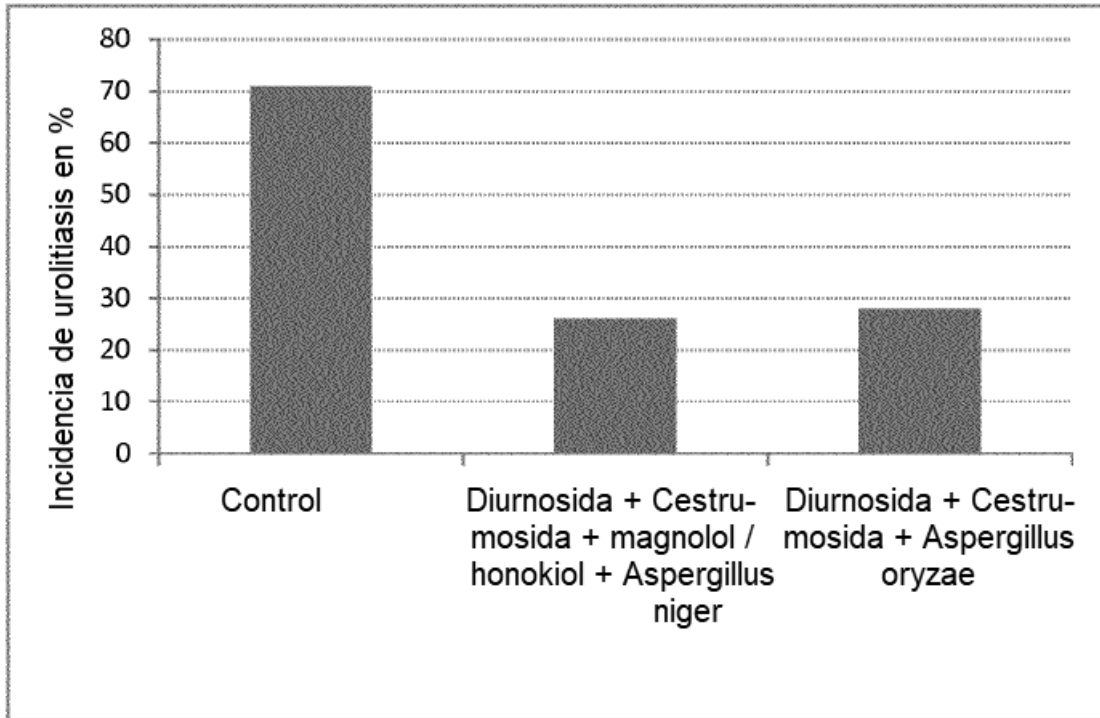


FIG. 7

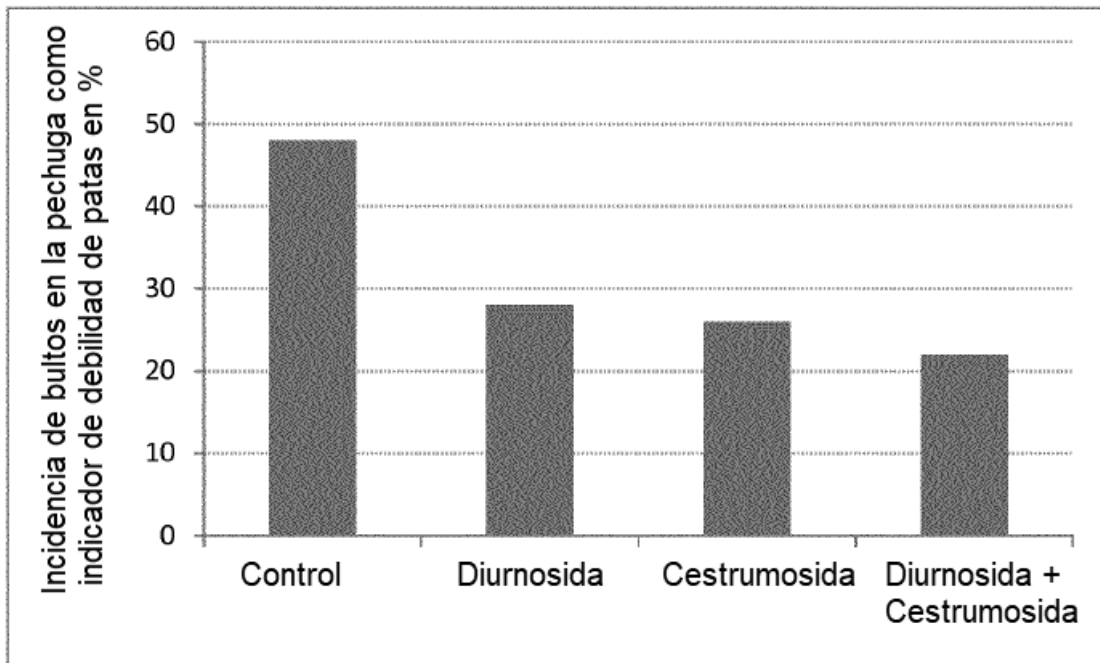


FIG. 8

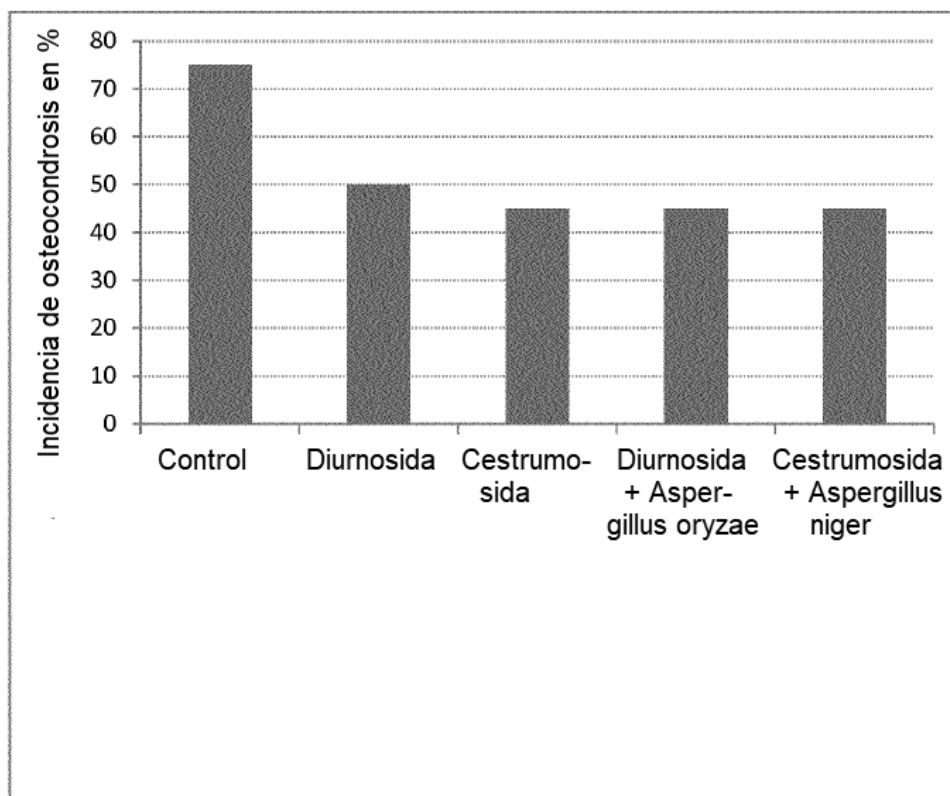


FIG. 9

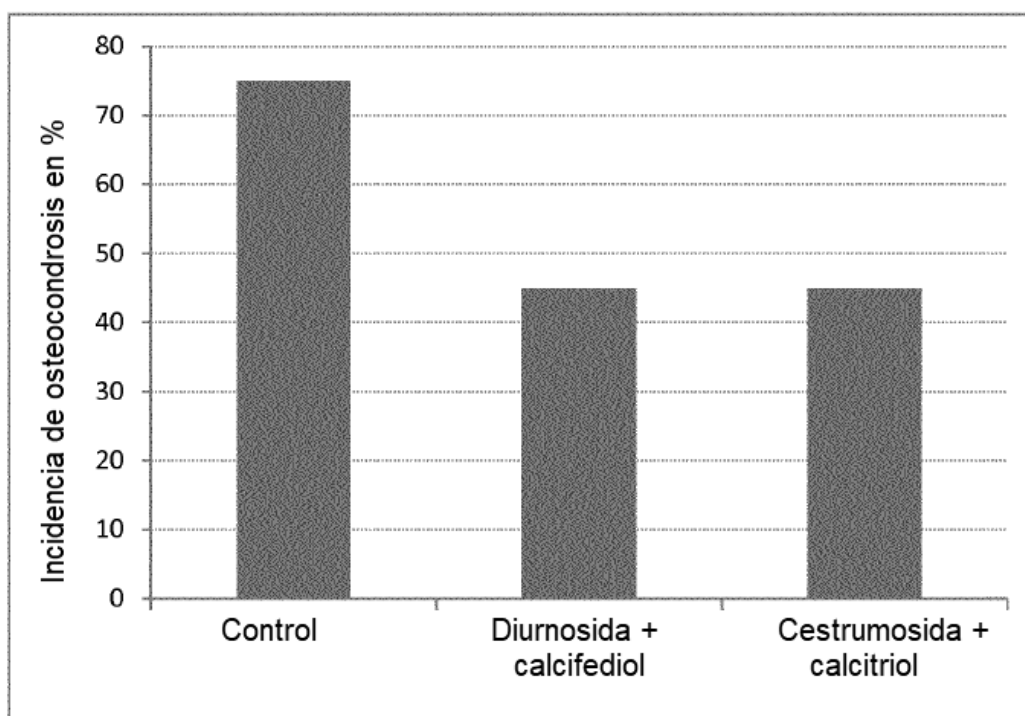


FIG. 10