



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105682669 B

(45)授权公告日 2020.08.18

(21)申请号 201480060279.0

(22)申请日 2014.09.05

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105682669 A

(43)申请公布日 2016.06.15

(30)优先权数据

13306227.3 2013.09.06 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.05.03

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2014/068992 2014.09.05

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/032922 EN 2015.03.12

(73)专利权人 马斯公司

地址 美国弗吉尼亚州

(72)发明人 A·弗吉耶 N·勒鲁克塞尔

(74)专利代理机构 北京市路盛律师事务所

11326

代理人 冯云 李宓

(51)Int.Cl.

A61K 36/23(2006.01)

A61K 36/53(2006.01)

A61K 36/54(2006.01)

A61K 36/61(2006.01)

A61K 31/7048(2006.01)

A61K 31/045(2006.01)

A61K 31/05(2006.01)

A61P 33/02(2006.01)

A23L 33/10(2016.01)

(56)对比文件

刘猛等.“植物精油的研究进展”.《中国畜牧兽医》.2011,第38卷(第6期),第252-254页.

审查员 马永涛

权利要求书2页 说明书8页 附图6页

(54)发明名称

口服抗寄生虫组合物

(57)摘要

本发明涉及一种用作口服抗寄生虫药的组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。本发明还涉及一种预防或治疗动物中的寄生虫感染的方法,该方法包括对该动物口服给药一种组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。

1. 一种口服抗寄生虫药的组合物,其中所述组合物选自:

-包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物,其中所述包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物具有浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/4的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀的来自牛至叶子的精油,和

-包含来自丁香叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物;其中所述口服抗寄生虫药的组合物是食料的形式。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述组合物包括皂角苷原,其中该皂角苷源包含甾体皂苷元。

3. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述组合物是食料,并且其中所述食料包括5%至15%的水分。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述组合物是食料,并且其中所述食料包括70%至90%的水分。

5. 根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,其中所述组合物对抗关于来自顶复门或来自锥状体纲的寄生虫。

6. 根据权利要求5所述的组合物,其特征在于,其中所述组合物对抗关于犬新孢子虫或刚地弓形虫。

7. 根据权利要求3所述的组合物,其中所述食料包含10-40%的蛋白质或5-40%的脂肪。

8. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述食料是饼干的形式。

9. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述食料是液体的形式。

10. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述食料是小块的形式。

11. 一种组合物在制备预防或治疗动物中的寄生虫感染的药物中的用途,该用途包括对该动物口服给药该种组合物,其中所述组合物选自:

-包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物,其中所述包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物具有浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/4的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀的来自牛至叶子的精油,和

-包含来自丁香叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物。

12. 一种口服抗寄生虫药的组合物,其中所述组合物选自:

-包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物,其中所述包含来自肉桂叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合物具有浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC₅₀/4的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC₅₀/4的来自肉桂叶子的精油

油和浓度为IC50/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC50/4的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC50的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC50/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC50/2的来自牛至叶子的精油、或浓度为IC50/2的来自肉桂叶子的精油和浓度为IC50的来自牛至叶子的精油,和

-包含来自丁香叶子的精油和来自牛至叶子的精油的组合的组合物。

口服抗寄生虫组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用作口服抗寄生虫药的组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯 (gamma-terpinene)、和/或香芹酚 (carvacrol)、和/或百里酚 (thymol)、和/或萜品醇 (terpinenol)、和/或桉叶油素 (eucalyptol)、和/或丁子香酚 (eugenol) 的精油,樟属 (Cinnamomum)、番樱桃属 (Eugenia)、桉属 (Eucalyptus) 的精油或皂角苷源 (source of saponin)。本发明还涉及一种预防或治疗动物中的寄生虫感染的方法,该方法包括对该动物口服给药一种组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。

背景技术

[0002] 寄生虫感染能够感染所有动物。特别地,狗和猫是寄生虫的主要宿主,至少80%的狗和猫感染有一种体内寄生虫 (endoparasite)。在饲养环境中,20%-30%的狗和猫特别容易感染一些体内寄生虫 (例如球虫 (coccidians))。寄生虫感染能够造成以下症状,例如蠕虫侵染、腹痛、肠梗阻、腹泻和呕吐,最终导致脱水、睡眠问题、贫血、肌肉或关节疼痛、过敏和/或疲乏。特别地,猫和狗是很多寄生虫的宿主,因此密切接触能够导致人类寄生虫感染 (动物传染病 (zoonosis)) 风险的增加。

[0003] 植物提取物已经与化学药物结合使用,特别用于作为点涂抗寄生虫药物施涂到动物皮肤上,例如EP0116401。这些点涂方法的问题是动物的皮肤会受到刺激,而且能够造成皮肤损伤。

[0004] 因此需要开发其他可替代的用于动物的药物和/或食料以减少寄生虫感染,特别是减少狗和/或猫中的体内寄生虫感染以进一步降低动物传染病的风险增加。

发明内容

[0005] 本发明提供了一种应对这一需求的组合物。

[0006] 本发明提供了一种组合物,包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源,用于作为抗寄生虫药口服到动物中。本发明的组合物显示出能有效降低动物中的寄生虫感染。

[0007] 进一步地,当包括以下中的两种或更多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源时,本发明的组合物显示出有益的效果。该效果可能是协同的。

[0008] 对于所有方面,本发明涉及任何动物,包括人类。特别地,本发明涉及伴侣动物,例如狗或猫。

[0009] 本发明的第一方面涉及一种用作口服抗寄生虫药的组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、

和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。

[0010] 作为抗寄生虫药的用途包括治疗和/或预防寄生虫感染的症状。治疗包括改善寄生虫感染的症状。

[0011] 本发明的组合物能够用于对抗寄生虫,特别是对抗属于顶复门(phylum Apicomplexa)的寄生虫。顶复门是一大类单细胞原生生物(protists)。该类原生生物包括归类为球虫、簇虫(gregarines)、梨浆虫(piropasms)、血簇虫(haemogregarines)和疟原虫(plasmodia)的生物体。优选地,该寄生虫来自锥状体纲(class conoidasida)。

[0012] 本发明的组合物能够用于对抗来自锥状体纲的寄生虫。锥状体纲包括球虫或簇虫两个亚纲。优选地,该寄生虫来自球虫亚纲(subclass coccidia)。

[0013] 本发明的组合物能够用于治疗球虫病(coccidiosis)。优选地,该组合物治疗寄生虫感染对抗来自等孢球虫属(Isospora)、新孢子虫属(Neospora)或弓形虫属(Toxoplasma)的寄生虫。最优选地,本发明的组合物能够治疗球虫病对抗犬新孢子虫(Neospora caninum)或刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)种的寄生虫。

[0014] 本发明的组合物包括一种或多种包含 γ -萜品烯的精油。

[0015] 萜品烯是一组归类为萜烯(terpene)的异构烃(isomeric hydrocarbon),其天然存在于植物和花朵中。萜品烯具有分子式 $C_{10}H_{16}$ 且碳双键的位置各不相同。萜品烯包括 α -萜品烯、 β -萜品烯、 γ -萜品烯或 δ -萜品烯,特别是 γ -萜品烯。

[0016] 精油是酯、醛、醇、酮、萜烯、单萜、倍半萜烯、酚和氧化物的挥发性混合物,其能够由植物的任何部分制备。现有技术中容易知道从植物中提取精油的方法,例如蒸馏或溶剂萃取。

[0017] 精油能够从植物的任何部分(例如从叶子、花朵、茎、皮、种子或根)中提取。优选地,该精油是从叶子中提取的。

[0018] 包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油包括香薄荷属(Satureja)、百里香属(Thymus)、糙果芹属(Trachyspermum)、牛至属(Origanum)或白千层属(Melaleuca)。化合物也能够是合成的或从天然来源中分离出来的。能够使用来自天然或合成来源的化合物的混合物。

[0019] 特别地,冬香薄荷油(winter savory oil)能够从冬香薄荷(Satureja Montana)的叶子得到,百里香油(thyme oil)能够从银斑百里香(Thymus vulgaris)或西班牙百里香(Thymus zygis)的叶子得到,牛至油(oregano oil)能够从牛至(Origanum vulgare)的叶子得到。

[0020] 包含 γ -萜品烯的精油能够是香薄荷属、百里香属、糙果芹属、牛至属或白千层属的任意种。

[0021] 本发明的组合物包括一种或多种樟属(Cinnamomum)、番樱桃属、桉属的精油。

[0022] 樟属的精油能够是肉桂(cinnamon)。番樱桃属的精油能够是丁香(clove)。桉属的精油能够是桉树(eucalyptus)。优选地,该精油是肉桂。

[0023] 肉桂是从樟树的内皮(inner bark)得到的香料。肉桂包括锡兰肉桂(cinnamomum verum)、巴达维亚肉桂(cinnamomum burmanii)、洛雷罗肉桂(cinnamomum loureiros)或玉桂(cinnamomum cassia)。优选地,该肉桂油是从玉桂(也称为中国肉桂(Chinese cassia))提取的。最优选地,该肉桂油是从玉桂的叶子提取的。

[0024] 丁香是从桃金娘科 (Myrtaceae) 树的花蕾得到的香料。特别地, 丁香油是从丁子香 (Syzygium aromaticum) 的花蕾提取的。优选地, 该丁香 (clove) 是丁香 (Eugenia caryophyllus)。

[0025] 桉属植物是具有超过700种的桃金娘科开花树木 (flowering tree) 和灌木 (shrub) 的属。特别地, 桉树油是从蓝桉树 (Eucalyptus globulus) 提取的。优选地, 桉树油是从蓝桉树的叶子提取的。

[0026] 皂角苷是多种植物中天然存在的化合物, 也可以存在于海洋生物中。皂角苷能够存在于皂皮树科 (Quillajaceae)、石竹科 (Caryophyllaceae)、无患子科 (Sapindaceae)、槭树科 (Aceraceae)、七叶树科 (Hippocastanaceae)、葫芦科 (Cucurbitaceae)、五加科 (Araliaceae) 或天门冬科 (Asparagaceae) 的植物科中。

[0027] 优选地, 皂角苷源来自天门冬科。特别地, 皂角苷源来自丝兰属 (Yucca)。更优选地, 皂角苷源来自西地格丝兰种 (Yucca schidigera)。

[0028] 皂角苷源能够存在于植物的多个部分 (例如叶子、茎、根、球茎、花和果实) 中。从植物中提取皂角苷源的方法是已知的。

[0029] 皂角苷是由一种或多种亲水糖苷部分与三萜衍生物组合构成的两亲性糖苷。附接的糖链的数量长度能够在1至11 (优选2至5) 变化。该糖链能够是线性的和/或支化的。

[0030] 皂角苷源能够是甾族的 (steroidal)。

[0031] 优选地, 皂角苷是甾体皂苷元, 例如地奥甾元 (diosgenine)、菝葜皂苷元 (sarsapogenine)、异菝葜皂甙元 (smilagenine)、提果皂苷元 (tigonenine)、海可皂苷元 (hecogenine)、9-脱氢海可皂苷元 (9-dehydrohecogenine)、吉托皂苷元 (gitogenine)、绿元碱 (chlorogenine)、丝兰皂苷元 (yuccagenine)、沙漠皂甙元 (samogenine)、曼诺皂甙元 (manogenine)、9-脱氢曼诺皂甙元 (9-dehydromanogenine) 或卡莫皂苷元 (kammogenine)。

[0032] 优选的组合物包括一种或多种包含 γ -萜品烯的精油和一种或多种肉桂、丁香或桉树的精油。优选地, 组合物包含牛至作为包含 γ -萜品烯的精油。最优选地, 组合物包括牛至和肉桂或牛至和丁香的精油。

[0033] 本发明的组合物是动物可以食用或可以作为其饮食的一部分食用的任何组合物。

[0034] 组合物能够是液体、小块 (tablet) 或食料。优选地, 组合物能够是食料。其能够是任何食料, 例如干产品、半潮湿产品、湿食品或液体, 且包括食物增补剂、点心 (snack) 或零食 (treat)。因此, 本发明涵盖了标准食品, 包括液体, 以及宠物食物点心 (例如点心棒、宠物咀嚼物、酥脆零食 (crunchy treat)、谷物棒、点心、饼干和甜味产品) 和增补剂。

[0035] 组合物可以加入到胶凝淀粉基质中, 或者加入到任何干或湿食料或增补剂中。加入的方法是本领域已知的。

[0036] 食料优选是商品宠物产品。这种产品优选是作为喂食/施用给宠物动物 (特别是宠物猫或宠物狗) 的产品销售的。

[0037] 典型的干宠物食料包括约10%-40%粗蛋白质和约5%-40%脂肪, 其余为碳水化合物, 包括膳食纤维和灰分。典型的湿或潮湿产品包含 (以干物质计) 约40%脂肪、50%蛋白质, 其余为纤维和灰分。本发明的食料可以是干产品 (具有约5%至约15%水分)、半潮湿产品 (具有约15%至约70%水分) 或湿产品 (具有约70%至约90%水分)。本发明的食料优选制成包含约5%至约15%水分的干产品。优选的干食物更优选呈现为小饼干-如粗粒物

(kibble)。

[0038] 食料的其余组分对本发明并不是必不可少的,能够包括典型的标准产品。依照本发明的食料的成分组合能够为相关特定动物提供所有所推荐的维生素和矿物质(全面且均衡的食物)。

[0039] 食料能够提供为食物增补剂。该食物增补剂能够是粉末、调味汁、顶料(topping)、饼干、粗粒物(kibble)、囊(pocket)或小块,其能够与或不与其他食料一起施用。在食物增补剂与其他食料一起施用的情况下,食物增补剂能够按顺序同时或单独施用。食物增补剂可以与该食料混合、撒在食料上或单独提供。可替代地,食物增补剂能够添加到供饮用的液体(例如水或奶)中。

[0040] 食料优选是熟食(cooked food)。其可以包括肉或动物来源的材料(例如牛肉、鸡肉、火鸡肉、羔羊肉、鱼肉、血浆、髓性骨(marrow bone)等,或它们的一种或多种)。产品可替代地可以是不含肉的(优选包括肉替代品,例如大豆、玉米麸质或大豆制品)以提供蛋白质源。食料可以包含其他蛋白质源,例如大豆蛋白浓缩物、乳蛋白、麸质等。食料还可以包含淀粉源,例如一种或多种谷物(例如小麦、玉米、大米、燕麦、大麦等)或可以是不含淀粉的。

[0041] 本发明的食料可以是全面且均衡的食物或者可以与全面且均衡的食物结合使用,全面且均衡的食物为相关狗提供所有所推荐的维生素或矿物质,例如,如国家研究委员会,1985年,狗的营养需要,国家科学院出版社,华盛顿(National Research Council,1985, Nutritional Requirements for Dogs, National Academy Press, Washington DC) (ISBN: 0-309-03496-5) 或美国饲料控制官员协会,官方出版物1996 (Association of American Feed Control Officials, Official Publication 1996) 中所述的那样。

[0042] 这些数值适用于一种用于喂食给动物(特别是伴侣动物,例如狗或猫)的组合物。

[0043] 精油/皂角苷的总量为0.01mg/kg至1000mg/kg (ppm) 食料(固体或液体)。

[0044] 精油/皂角苷的量能够具有食料(固体或液体)的0.01mg/kg至500mg/kg (ppm)、0.01mg/kg至100mg/kg (ppm)、0.01mg/kg至50mg/kg (ppm)、0.01mg/kg至1mg/kg (ppm)、100mg/kg至1000mg/kg (ppm)、100mg/kg至500mg/kg (ppm)、50mg/kg至100mg/kg (ppm)、或至50mg/kg (ppm) 或它们的任意组合。

[0045] 本发明的第二方面涉及一种预防或治疗动物中的寄生虫感染的方法。

[0046] 本发明的组合物被证实尤其能提供寄生虫感染和体外增殖的减少。本发明的组合物预防和/或治疗动物中的寄生虫感染,包括动物传染病的预防和在饲养犬舍环境中的预防和/或治疗。

[0047] 特别地,在宠物食料和伴侣动物健康领域中需要提供包括适于支持伴侣动物健康的增补剂的食料。特别地,需要提供适于促进或维持已经健康的伴侣动物的健康的饮食作为预防性饮食。

[0048] 特别地,本发明的第二方面提供了一种预防和/或治疗动物中的寄生虫感染的方法,包括改善寄生虫感染的症状。该方法包括对动物给药一种组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。该动物可能会需要。

[0049] 对于所有方面,本发明涉及任何动物,包括人类。特别地,本发明涉及伴侣动物,例如狗、猫或任何其他患有或容易患有寄生虫感染的动物。因为显著量的狗和/或猫是寄生虫

的宿主,因此其容易被寄生虫感染。

[0050] 在特定的实施方案中,该方法包括对该动物给药一种组合物,该组合物包括以下中的一种或多种:包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,樟属、番樱桃属、桉属的精油或皂角苷源。该组合物能够包括一种或多种包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油,包括香薄荷属、百里香属、糙果芹属、牛至属或白千层属和一种或多种肉桂、丁香或桉树的精油。优选地,该组合物包含牛至作为包含 γ -萜品烯和香芹酚的精油。最优选地,该组合物包括牛至和肉桂或牛至和丁香的精油。

[0051] 进一步地,该方法优选给药给动物,特别是伴侣动物,例如狗和/或猫,其患有寄生虫感染且需要改善寄生虫感染的症状或需要预防寄生虫感染的更多症状。这可以给药给例如幼年的宠物动物(例如幼犬)或老年伴侣动物。当该组合物是食料时,该食料可以以依照伴侣动物的日常饮食规则的饮食规则施用。根据所需的预防和治疗水平,该食料可以包括该伴侣动物饮食的100%或更少比例。该食料可使该组合物容易施用,由此避免增补伴侣动物的食物的需要。此外,该食料能够由动物的主人施用,由此避免持续的兽医指导。该食料可以在任何销售宠物食品的专营店得到或者可以从兽医处或饲养员得到。

[0052] 本文所用的术语“给药”还包括喂食或任何其他口服给药方法。其他给药方式可以包括片剂、胶囊、注射剂、栓剂或任何其他适合的方式。

[0053] 加以必要的修正,本发明的第一方面的优选特征也适用于本发明的第二方面。

[0054] 在本发明的第三方面中,提供了一种组合物,其包括源自以下属的精油中的两种或更多种:樟属、番樱桃属、香薄荷属、百里香属、糙果芹属、牛至属、桉属或白千层属。

[0055] 优选地,该组合物包括选自冬香薄荷(winter savory)、百里香、牛至或茶树油(tea tree oil)的精油和选自肉桂、丁香或桉树的精油。优选地,该组合物包含牛至。更优选地,该组合物包括牛至和肉桂或牛至和丁香的精油。

[0056] 加以必要的修正,本发明的第一和第二方面的优选特征也适用于本发明的第三方面。

[0057] 在本发明的第四方面中,提供了一种组合物,其包括皂角苷源和一种或多种包含 γ -萜品烯、和/或香芹酚、和/或百里酚、和/或萜品醇、和/或桉叶油素、和/或丁子香酚的精油或者樟属、番樱桃属或桉属的精油。

[0058] 优选地,该组合物能够包括一种或多种包含 γ -萜品烯的精油和一种或多种肉桂、丁香、桉树的精油。优选地,该组合物包含牛至作为包含 γ -萜品烯的精油。最优选地,该组合物包括牛至和肉桂或牛至和丁香的精油。

[0059] 加以必要的修正,本发明的第一、第二和第三方面的优选特征也适用于本发明的第四方面。

[0060] 本说明书包括一种制备本发明的组合物的方法。

[0061] 组合物能够包括本领域已知的适合的载体,例如二氧化硅、麦芽糊精、阿拉伯胶或铝硅酸盐矿物。组合物能够加入到胶凝淀粉基质中。

[0062] 组合物能够喷涂到食料上、混合到食料中或加入到胶凝淀粉基质中的食料中。组合物的加入方法是本领域已知的。

[0063] 本说明书包括一种制备本发明的食材的方法。

[0064] 食材能够根据本领域已知的任何方法(例如在狗和猫的营养的威豪书籍,ATB埃德尼编辑,A·瑞恩博德分章节的,标题为“均衡饮食”,第57-74页,培格曼出版社(Waltham Book of Dog and Cat Nutrition,Ed.ATB Edney,Chapter by A.Rainbird,entitled“A Balanced Diet”in pages 57to 74Pergamon Press Oxford)中)制备。

[0065] 例如,如本文定义的食料的制备方法包括将成分与组合物混合在一起并形成食料(特别是宠物食料),该组合物包括一种或多种包含 γ -萜品烯的精油,肉桂、丁香或桉树的精油或皂角苷源。在该混合之前、期间或之后可以对任何一种或多种成分进行加热/烹制。

[0066] 本发明的重要性是一种或多种精油和/或皂角苷源的有益性质。特别地,可以见到的效果超过了累加效应。

[0067] 在本发明的组合物中精油和/或皂角苷源的组合在降低寄生虫感染和/或增殖、预防寄生虫感染和/或增殖、降低动物传染病风险和治疗寄生虫感染(特别是球虫病)中的一个或多个方面能够提供协同效果。

[0068] 当该组合物中组合了包含 γ -萜品烯的精油和肉桂、丁香或桉树的精油时,观察到进一步的益处。特别是,当包含 γ -萜品烯的精油是冬香薄荷、百里香、牛至或茶树油且第二精油是肉桂、丁香或桉树时。优选地,该组合物包含牛至。最优选地,该组合物包括牛至和肉桂或牛至和丁香的精油。

附图说明

[0069] 现在将通过参考以下实施例和附图的方式进一步描述本发明,其提供仅用于示例的目的,而不应当被解释为对发明的限制。

[0070] 图1:显示了所用的精油和皂角苷源的7种溶液。各溶液标记为A-H。

[0071] 图2A:显示了随后的增殖方案的示意图。图2B显示了被刚地弓形虫的不同寄生接种物感染的HFF细胞的荧光显微照片。

[0072] 图3:显示了在不同浓度的不同精油存在下,犬新孢子虫寄生虫的增殖抑制试验结果。结果和IC50的概要描述在表1中。

[0073] 图4:显示了7种精油(牛至(E)是在50ppm和100ppm测定的)的IC50和细胞存活能力的对比结果。

[0074] 图5:显示了用精油EB(牛至和丁香)的混合物抑制刚地弓形虫增殖的试验结果。

具体实施方式

[0075] 实施例

[0076] 研究的目的是测定七种精油对胞内微生物犬新孢子虫的抗寄生虫活性以及这些药物的组合对刚地弓形虫的抗寄生虫活性。工作聚焦在寄生虫在这些包含精油的溶液存在下的增殖能力以及在预处理之后的侵袭能力。

[0077] 测试了七种精油溶液和一种具有皂角苷源的溶液(参见图1:A至H)。

[0078] 为了使精油溶解,将油在二甲亚砜(DMSO)中稀释,然后散布在补充有10%胎牛血清(D10)的细胞培养介质(DMEM)中。DMSO也以最终浓度不超过0.1%使用。

[0079] 在人细胞型HFF(人包皮成纤维细胞)中离体制备两种寄生虫刚地弓形虫和犬新孢子虫的单独培养液,在37℃、5%CO₂下,在D10培养基中生长。两种培养液是类似的,各试验

所用的接种物也是相同的,每孔105个寄生虫。观察到犬新孢子虫的生长比刚地弓形虫更慢。

[0080] 实施例1:在精油存在下犬新孢子虫寄生虫的增殖试验

[0081] 通过计算加入的氘标记的尿嘧啶的比放射性测定寄生虫在细胞中的增殖,并与不含精油的对照(100%增殖)进行比较。该试验是在24孔板中进行的,整个试验持续约24小时。使用乙胺嘧啶(IC₅₀:0.1μg/mL)获得阳性对照。图3显示了在犬新孢子虫存在下在不同浓度时试验的各精油溶液的IC₅₀。

[0082] 表1(如下)概述了图3中实施例1的结果。数值表示对增殖的抑制。带点的结果显示了试验的各精油的IC₅₀。

[0083]

精油	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm	800 ppm
A(肉桂)	43.7%	84.3%	95.3%	94.5%			
B(丁香)			21.0%	58.7%	78.0%		
C(冬香薄荷)		4.6%	-3.1%	42.2%	85.2%		
D(百里香)		6.0%	43.8%	41.1%			
E(牛至)		26.7%	53.9%	75.9%			
F(桉树)			-1.6%	23.9%	15.0%	20.7%	69.5%
G(茶树)			7.9%	18.7%	11.6%	24.5%	

IC₅₀

[0084] 实施例2

[0085] 通过在刚地弓形虫(□)和犬新孢子虫(▨)中加入氘标记的尿嘧啶而测定对增殖的抑制,使用MTT试验(▤)评价HFF细胞的生存能力。结果显示在图4中。

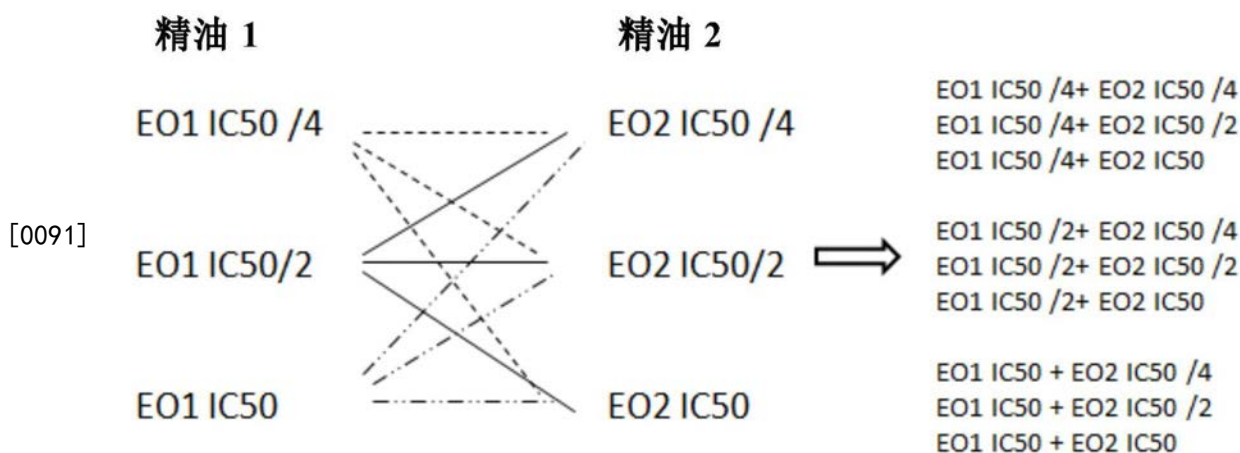
[0086] 图4显示了各种精油在具有对各种寄生虫都具有增殖抑制性质的浓度时保持细胞生存能力HFF接近80%。

[0087] 能够观察到具有杀虫活性的油,由刚地弓形虫得到的IC₅₀浓度与犬新孢子虫相同。然而,F油和G油对犬新孢子虫的增殖抑制具有很小的作用或没有作用。

[0088] 实施例3:在一组精油的组合的存在下刚地弓形虫的增殖试验

[0089] 精油组合的组为:AB、AE、AD和BE。

[0090] 对各组合采取了3×3因子设计。将理论IC₅₀调节到测定的抑制增殖率,然后将其用作进行稀释的基础并将随后9种不同比例的2种精油组合在混合物中。



[0092] 对于各种联合,进行9次刚地弓形虫增殖抑制试验(未显示所有数据)。再次,通过加入氘标记的尿嘧啶测定增殖抑制。

[0093] 混合物BE(参见图5):显示混合物BE对刚地弓形虫增殖具有协同效果。

[0094] 仅100ppm的精油B对应IC58(58%的增殖抑制)。

[0095] 仅75ppm的精油E对应IC88(88%的增殖抑制)。

[0096] 假设两种油对增殖抑制之间的关系是独立的, $IC_{58}/2 = IC_{29}$ 的精油B与 $IC_{88}/4 = IC_{22}$ 的精油E的混合物导致预期的加和效果 $IC_{22} + IC_{29} = IC_{51}$ (51%的增殖抑制)。这种混合物(IC22的B与IC29的E组合)的增殖抑制测量值显示了令人惊奇地可检测到87%的增殖抑制(IC87)。这一非常显著的差异清楚地强调了混合物BE对刚地弓形虫增殖具有协同效果。

[0097] 比兰混合物(Bilan Cocktail)

[0098] 表2(如下)包括在36组精油存在下所有对刚地弓形虫的增殖抑制结果。

[0099]

	IC 50/4 IC 50/4	IC 50/4 IC 50/2	IC 50/4 IC 50	IC 50/2 IC 50/4	IC 50/2 IC 50/2	IC 50/2 IC 50	IC 50 IC 50/4	IC 50 IC 50/2	IC 50 IC 50
AB	16,4%	34,3%	63,5%	16,7%	39,3%	63,2%	47,6%	75,2%	82,4%
AE	45,5%	53,3%	85,7%	23,1%	53,5%	86,0%	57,0%	67,0%	91,9%
BE	27,7%	52,1%	79,6%	87,2%	93,4%	81,5%	73,8%	85,2%	96,4%
AD	19,4%	0,3%	31,9%	16,0%	20,2%	53,5%	54,1%	60,0%	69,6%



[0100] 数值表示增殖抑制。带点的区域显示了抑制了50%–90%寄生虫增殖的组合。带条纹的区域显示了抑制了超过90%的增殖的那些。

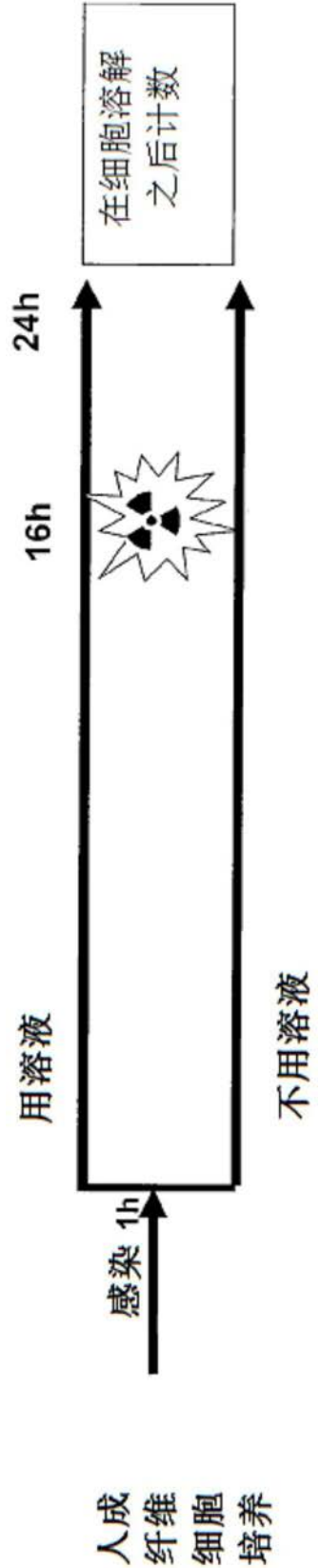
[0101] 结论

[0102] 对两种寄生虫的多个试验得到了非常类似的结果。精油的组合在一些情况下提高了该化合物的增殖抑制能力。这表明精油能够产生协同作用。对于组合AE(数据未显示)和BE尤其如此,其中混合物测得的效果显著高于所预期的两种精油单独作用时的效果加和。同样重要的是要注意所有试验物质都对HFF细胞(单层完整性)没有细胞毒性影响。

A 精油 (EO) 中国肉桂 (叶子)		B 精油马达加斯加丁香 (叶子)		C 精油巴尔干冬香薄荷 (叶子)		D 精油西班牙红百里香 (叶子)	
玉桂	%	丁香	%	冬香薄荷	%	西班牙百里香	%
肉桂醛	70-90	丁子香酚	75-85	香芹酚	40-60	百里酚	40-60
O-甲基肉桂醛	<10	β-石竹烯	<15	对异丙基苯甲酯	<20	对异丙基苯甲酯	<20
乙酸肉桂酯	<5	乙酸丁基香酚酯	<5	γ-萜品烯	<10	γ-萜品烯	<15
香豆素	<5	甲基丁子香酚	<5	百里酚	<10	沉香醇	<5
苯乙醇	<5			月桂醇	<5	香芹酚	<5
苯甲醚	<5			β-石竹烯	<5	β-石竹烯	<5
肉桂酸	<5			α-萜品烯	<5	月桂醇	<5
水杨醛	<5			萜品烯 1 ol 4 (terpinene 1 ol 4)	<5	萜品烯 1 ol 4	<5
肉桂醇	<5			α-侧柏烯 (α-thuyene)	<5	α-萜品烯	<5
苯乙醇	<5			β-萜品烯	<5	α-萜品烯	<5
苯乙醇	<5					α-侧柏烯	<5
丁子香酚	<5					香芹酚甲醚 (Methyl carvacrol ether)	<5
						柠檬油精	<5
						反式水合香桉烯	<5
						(trans-sabinene hydrate)	<5

E 精油牛至 (叶子)		F 精油中国桉树 (叶子)		G 精油澳大利亚茶树 (叶子)		H 皂角苷源	
牛至	%	蓝桉	%	互叶白千层	%	西地格兰	%
香芹酚	65-85	桉叶油素	70-90	4-萜品烯	30-50	地奥武元	<10-30
γ-萜品烯	<5	柠檬油精	<10	γ-萜品烯	<15	蒎烯	<15
对异丙基苯甲酯	<5	γ-萜品烯	<10	α-萜品烯	<5	异蒎烯	<15
β-石竹烯	<5	对异丙基苯甲酯	<5	α-萜品烯	<5	蒎烯	<15
沉香醇	<5	α-萜品烯	<5	萜品烯	<5	海可萜元	<5
百里酚	<5			α-萜品烯	<5	9-蒎烯	<5
β-萜品烯	<5			桉叶油素	<5	吉托萜元	<5
萜醇	<5			对异丙基苯甲酯	<5	萜元	<5
萜醇	<5			柠檬油精	<5	蒎烯	<5
萜品烯 1 ol 4	<5			δ-杜松烯	<5	蒎烯	<5
α-萜品烯	<5			桉花白千层醇 (γ-桉花白千层醇)	<5	沙蒎烯	<5
α-萜品烯	<5			香桉烯	<5	蒎烯	<5
α-萜品烯	<5			β-萜品烯	<5	9-蒎烯	<5
						卡莫萜元	<5

图1



人成纤维细胞培养

图2A

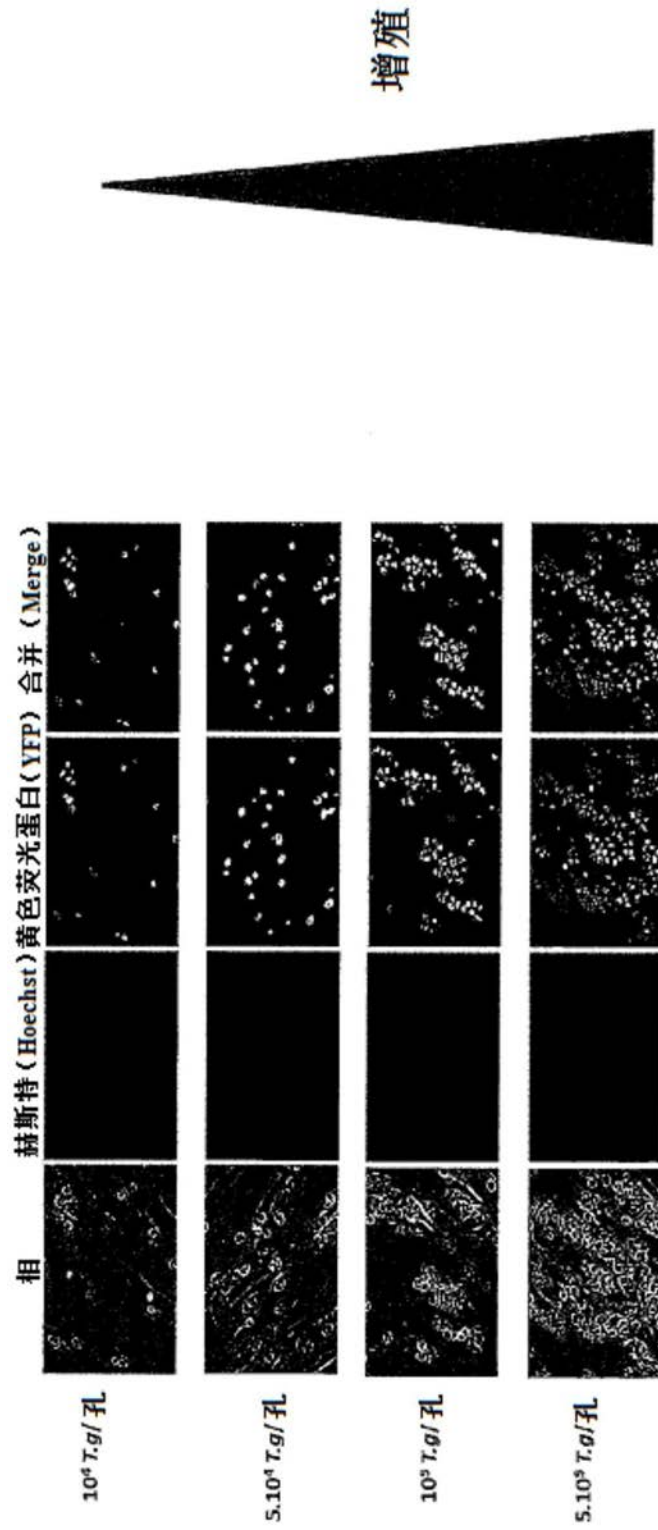


图2B

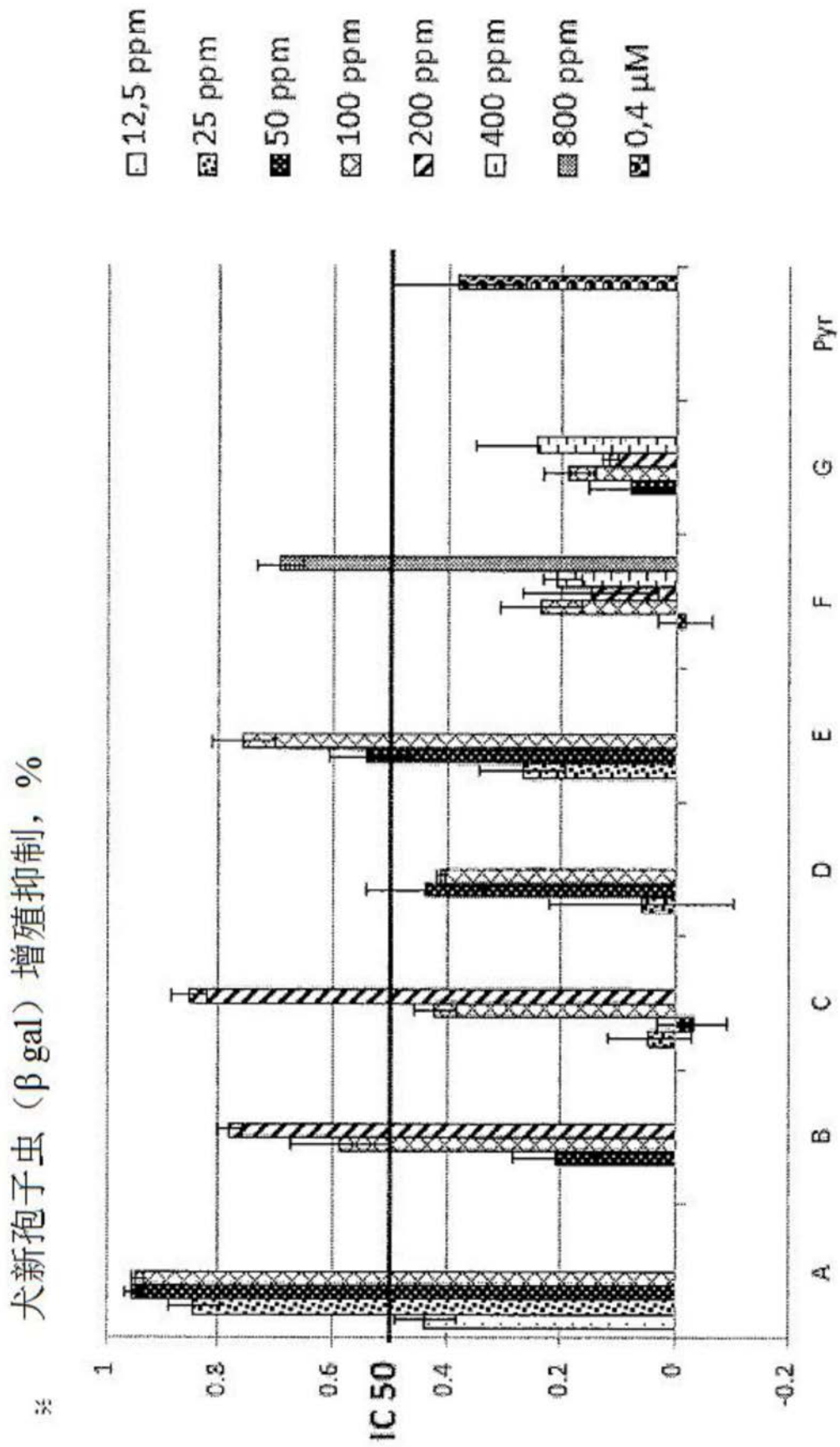


图3

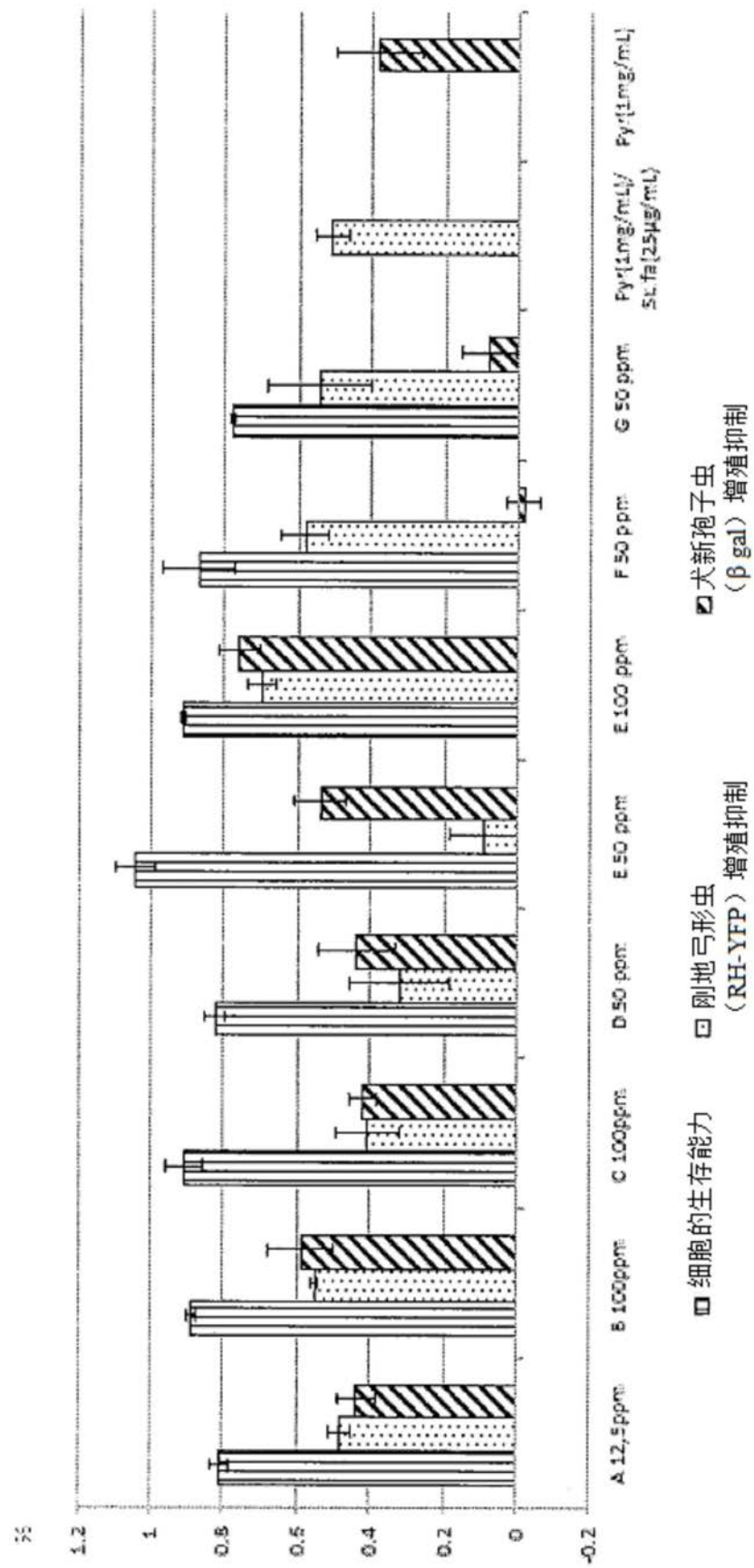


图4

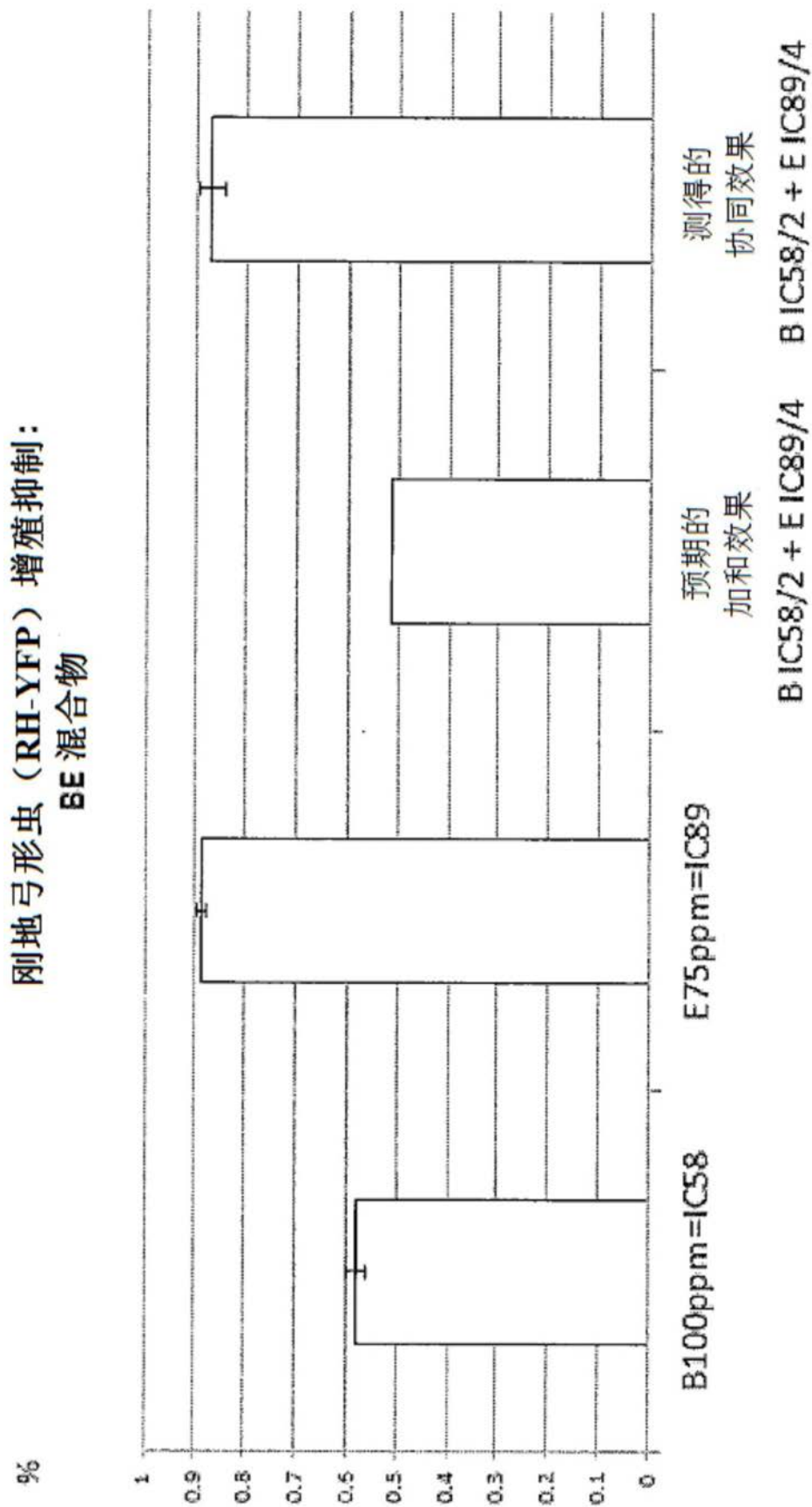


图5