

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102009901746622A1

Publication Date

20110102

Applicant

HEALTH'S DISTRIBUTION SRL

Title

FORMULAZIONE ASSOCIATIVA AD USO TOPICO A BASE DI OLII
ESSENZIALI PER IL TRATTAMENTO DELLA PEDICULOSI

DESCRIZIONE

FORMULAZIONE ASSOCIATIVA AD USO TOPICO A BASE DI OLII ESSENZIALI PER IL TRATTAMENTO DELLA PEDICULOSI

5 SETTORE DELL' INVENZIONE

La presente invenzione fa riferimento ad una formulazione associativa da implementare nell'ambito di un preparato ad uso topico da utilizzare per contrastare l'infestazione da Pediculus humanus capitis. I due (2) componenti monoterpenici associati sono costituiti dal Terpinen-4-ol monoterpene ossigenato presente nell' Olio essenziale (EO) di Malaleuca alternifolia (Tea tree oil) ad azione letale sui pidocchi adulti e il Nerolidolo monoterpene aciclico presente in piante della famiglia delle Asteraceae ad azione letale specifica sulle uova del parassita (lendini).

BACKGROUND DELL'INVENZIONE

Il Pediculus humanus capitis è un ectoparassita obbligatorio, di natura ematofaga che si nutre di sangue dell'ospite ed è esclusivo della specie umana. Risiede a stretto contatto con il cuoio capelluto mantenendo costante la propria temperatura corporea.

Il ciclo vitale del parassita consta di tre stadi: uovo, ninfa e adulto. I pidocchi adulti vivono normalmente da 1 a 2 giorni quando in stretto contatto con il cuoi capelluto (American Academy of Pediatrics, 2003), e possono sopravvivere massimo 4 giorni quando le condizioni sono ideali (Ko & Elson, 2004) mentre le uova sopravvivono per circa 10 giorni quando in stretto contatto con l'ospite (Angel et al.,2000).

Gli aspetti epidemiologici confermano che la pediculosi rappresenta attualmente un problema pubblico in tutto il mondo (Ko & Elson 2004; Rossigni C et al., 2008) sia per il disagio sociale causato, ma soprattutto dovuto all'aspetto eziologico del parassita, il quale può essere vettore di microrganismi patogeni all'uomo come Rickettsie o Spirochete che nelle zone endemiche sono responsabili per patologie importanti quali Tifo esantematico, Febbre ricorrente e Febbre delle trincee.

Negli ultimi anni in Italia è stato osservato un incremento del numero dei casi di pediculosi che colpisce piu' di 1 milione 800mila persone, di cui il 70% costituito da bambini tra i 3 e gli 11 anni. Si tratta di una vera emergenza sanitaria, che ha la sua massima incidenza tra settembre e dicembre di ogni anno e che colpisce prevalentemente i bambini in età scolare.

La trasmissione del parassita avviene per contatto diretto tra un soggetto sano ed uno infestato. L'infestazione da Pediculus capitis avviene soprattutto nei bambini di età compresa fra 3 e 14 anni con focolai epidemici principalmente nelle comunità scolastiche, per le loro peculiari modalità

comportamentali, dove i contatti diretti e prolungati tra soggetti sani e non sani è molto frequente. Ciò trasla il problema dai soggetti in età scolare a tutti i componenti del nucleo familiare.

Il sintomo principale della pediculosi è il prurito, causato da una reazione allergica sulla cute sana che si verifica in virtù della presenza di saliva ed escrementi dell' insetto sulla cute dell' soggetto infetto. Nei casi in cui l'infestazione è eccessiva, è possibile verificare la presenza di infezioni cutanee di natura batterica secondaria alle lesioni causate dalla azione meccanica del soggetto stesso che si auto infligge lesioni da grattamento nel cercare di ottenere sollievo al fastidio.

Il trattamento della pediculosi viene effettuato attraverso diversi metodi, tra quelli più tradizionali e comuni possiamo citare la "rimozione fisica dei parassiti", i "trattamenti domestici" di gran lunga inefficaci e l' uso di "insetticidi convenzionali" .

Dati bibliografici recenti confermano che la più parte di questi metodi non assicura una completa protezione contro *Pediculus capitis e la sua infestazione* .

Per combattere il contagio, si è fatto uso per molti anni di prodotti antipediculosi quali ANTIPARASSITARI formulati a base di composti chimici sintetici tra i quali enumeriamo : Il "Pyrethrines" e "Pyrethroids"(rispettivamente costituenti del Permethrin e del Phenothrin)

Gli "organophosphates" (principali componenti del Malathion),

I "carbamates" (presenti nel Carbaryl)

come risulta da dati recenti di letteratura (Vander & Weiner, 2002; Meiking et al., 2002; Nash, 2003). anche gli "organochlorides" (DDT) ed il "Lindane" sono stati molto utilizzati allo scopo di debellare l'infestazione causato dal pidocchio umano del capo (Orion et al.,2002; Jones & English, 2003).

E' di estrema importanza sottolineare che tali sostanze, presenti in questi preparati, classificati come insetticidi, hanno riportato una importante casistica associata alla tossicità per l'uomo (Mortensen, 1986).

Si può dunque ritenere che L'uso continuo degli insetticidi, ha condotto ad alcuni rilevanti effetti avversi, sia nell'ambito dello sviluppo di una notevole e multipla resistenza da parte dei parassiti stessi nei confronti dei composti chimici in oggetto che ne riduce considerevolmente l'efficacia sia per quanto attiene l'avvenuta conferma dell'esistenza di casi comprovanti la tossicità di questi prodotti sull'uomo.

Ciò è a determinare una "non-compliance" nei loro confronti causata altresì da ripetuti fallimenti dei trattamenti seguiti da nuove infestazioni derivanti dall' incompleta e/o inefficace eliminazione del parassita e soprattutto delle sue uova.

Tali esiti sono stati riscontrati in maniera globale per tutti i preparati (Permethrin, Phenothrin, Malathion e Carbaryl, Down et al, 2002; Witkowski & Parish, 2002)

Risulta fondamentale ricordare la *tossicità* associata all'uso di prodotti antipediculosi a base di composti ad azione insetticida (Mortensen, 1986). È necessario dunque, prima dell'uso, valutare la reale sicurezza degli stessi, soprattutto tenendo presente che il loro impiego è diretto principalmente nei confronti di soggetti di età compresa tra i 3 (tre) -11(undici) anni.

- 5 È possibile affermare, in conclusione, che le circostanze sopra citate hanno determinato, soprattutto per quanto attiene il manifestarsi di resistenze incrociate un aumento considerevole del numero di casi di infestazioni da *Pediculus capitis* in tutto il mondo.

Per porre rimedio alle problematiche riportate si è dato impulso alla ricerca di nuove sostanze provenienti da fonti naturali che fossero in grado di agire in maniera efficace e sicura azzerando i
10 possibili effetti collaterali.

Come valida alternativa alla risoluzione del problema della pediculosi, si è approdati ad un nuovo approccio al trattamento della pediculosi e delle infestazioni di tipo “persistente” causate da *Pediculus umanus capitis*. A tale proposito nuove forme alternative di terapia topica hanno proposto l'uso di preparati antipediculosi fitoderivati, efficaci a basse concentrazioni e sicuri per la salute
15 umana.

Alcuni dei prodotti antipediculosi a base di oli essenziali attualmente esistenti sul mercato sono:

- Paranix- trattamento completo antipediculosi a base di oli essenziali.

soluzione olio – a base di EO di noce di cocco, EO di *Pimpinella anisum* (olio essenziale di Anice)
20 e EO di *Cananga odorata* (olio essenziale di ylang ylang);

soluzione shampoo – a base di EO di *Azardichtha indica* (olio essenziale di Neem) e EO di *Malaleuca alternifolia* (Tea Tree oil).

- 25
- Bioscalin Pido k.o.- trattamento completo antipediculosi a base di oli essenziali.

soluzione olio – a base di EO di *Azardichtha indica* (olio essenziale di Neem) e EO di *Malaleuca alternifolia* (Tea Tree oil). (l'associazione di questi due oli “dermoaffini” viene denominata dal
fabbricante “Olioderma ®” il cui brevetto è depositato).

30

Soluzione shampoo- a base di EO di *Carapa guaianensis* (olio di Andiroba) e Aceto di mele (l'associazione di questi due componenti viene denominata dal fabbricante “Pidorep®”il cui brevetto è depositato).

- Lendix shampoo – shampoo antiparassitario con principi attivi 100% vegetali

Il prodotto viene utilizzato nel trattamento della pediculosi grazie all'azione coniugata di tre principi attivi di EO: olio di Andiroba, Quassia amara e olio di Neem.

5

La letteratura attualmente disponibile sull'argomento riporta una serie di articoli bibliografici che dimostrano attraverso metodiche di “screening” e “trials clinici” l'efficacia e la sicurezza di questi oli essenziali utilizzati come agenti naturali ad azione antipediculosi (bibliografia allegata).

10 SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Il trovato oggetto per presente brevetto per invenzione relativo al trattamento completo antipediculosi - è costituito da una soluzione oleosa a base di olio essenziale di “Anice” e presenta nella sua formulazione una associazione di due composti monoterpenici : il Terpinen-4-ol presente nel “Tea tree oil” ad azione letale sui pidocchi adulti ed il “Nerolidolo” un monoterpene totalmente
 15 innovativo a livello funzionale nel trattamento della pediculosi, poiché il suddetto componente non è mai stato utilizzato, fino al presente momento, né come agente pediculocida in generale né come agente ad attività ovicida specifica (ad azione letale unicamente sulle lendini) su nessun tipo di prodotto ad uso antipediculosi esistente in commercio.

l'innovazione formulativa dell'invenzione che combina l'azione del Tea tree oil e del Nerolidolo
 20 supporta l'idea del brevetto associativo, poiché tale associazione promuove una azione sinergica dei due componenti che agiscono specificatamente sul pidocchio adulto e sulle uova del parassita, potenziando l'azione letale finale e conducendo a risultati finali più sicuri ed efficaci.

Gli oli essenziali o eterici sono miscele complesse di sostanze chimiche, volatili, sicuri e basicamente costituiti da “Terpeni” o “isoprenoidi” una grande classe di composti presenti in natura
 25 come metaboliti secondari di piante e animali. I terpeni hanno la caratteristica di essere solubili in solventi poco polari e si dividono in varie sottoclassi.

I Monoterpeni rappresentano una di queste sottoclassi, e sono presenti negli oli essenziali in differenti percentuali (quantitativi) a seconda delle differenti famiglie e/o specie di piante. Molti dei monoterpeni sono responsabili per la “fragranza” o “odori” delle essenze. (Rosati O. “chimica delle
 30 sostanze organiche naturali”).

Dati tratti dalla letteratura recente confermano che alcuni composti “monoterpenoidi” hanno una attività tossica su *Pediculus capitis*, sia pidocchi adulti che sulle uova causando loro morte.

Studi clinici hanno dimostrato l' “attività pediculocida” degli oli essenziali di alcune piante quando in soluzione alcolica : *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Malaleuca alternifolia* (tea tree oil) e

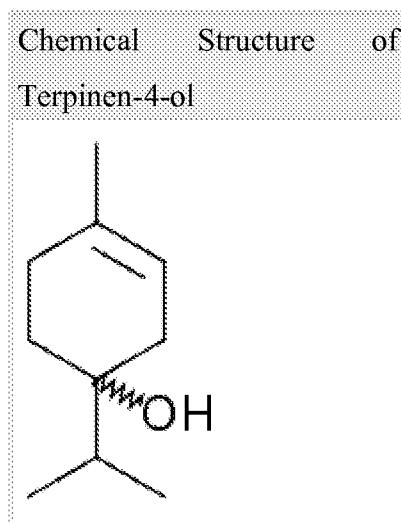
Pimpinella anisum notevolmente conosciute, per la presenza dei monoterpeni le cui strutture chimiche contengono alcoli, chetoni o eteri. Dove l'olio di Anice, seguito dal Tea Tree oil sono i più efficaci, sicuri e non tossici per l'uomo (Veal l., 1996).

La presente invenzione è basata sulla necessità di mettere a disposizione dei consumatori un prodotto naturale (non tossico) che agisca in maniera sinergica ed efficace sulle due forme viventi del parassita- l'adulto e le uova – potenziando in questa maniera l'efficacia del prodotto. Ai fini di un corretto trattamento è fondamentale che il prodotto agisca su entrambe le forme viventi del parassita e principalmente sulle uova le principali responsabili per i fallimenti dei trattamenti utilizzando prodotti naturali di questo tipo, soprattutto quando si considera che molti dei prodotti a base di oli essenziali ad azione pediculocida, presenti attualmente sul mercato, hanno una buona attività letale sui pidocchi adulti, ma una bassa efficacia sulle uova.

Considerando che la maggiore causa dell' inefficacia nel trattamento di *P.capitis* utilizzando prodotti naturali a base di oli essenziali, risiede proprio nel fatto che i parassiti adulti vengono eliminati, ma le sue uova, che sono dotate di una cuticola più resistente di quella del pidocchio adulto, vengono eliminate solo in minima parte e molte rimangono ancora in vita. In tale maniera, si possono verificare “falsi risultati” sostenuti dall'errata idea che non sono più presenti i pidocchi adulti, mentre persistono le uova, di dimensioni impercettibili ad “occhio nudo”, che provocano sicuramente nuove infestazioni.

20 DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

DESCRIZIONE DEI COMPONENTI DELLA FORMULAZIONE ASSOCIATIVA 1.TEA TREE OIL (TERPINEM-4-OL) ATTIVITA' PEDICULOCIDA SU P.CAPITIS



Il principale componente dell' olio essenziale di *Malaleuca alternifolia* o più comunemente conosciuto come Tea Tree oil (TTO) è il (+)-Terpinen-4-ol , tale composto moterpenico è presente ad un elevato quantitativo equivalente al 40,3% (Chelsea J. et al.;2008) inoltre nella sua

5 composizione dell' EO di TTO è presente anche l'alfa-terpineolo ad una percentuale del 3,1%. Entrambe i composti monoterpenici mono-ossigenati hanno una riscontrata e notevole l'attività letale sui pidocchi adulti. Il TTO viene utilizzato come componente attivo nella formulazione di una varietà di prodotti naturali a base di EO ad attività antipediculosi (es. : PARANIX, PIDO K.O). Uno studio pubblicato nel 2006 promosso da autorevoli enti accademici britannici quali il “Medical

10 entomology Centre, Insect Research”; “Cambridge House” e “The school of Pharmacy” Regno Unito (UK), ha confermano l'azione antipediculosi dei componenti monoterpenici degli EO identificando tra i più efficaci il Terpinen-4-ol del Tea tree oil, composto maggiormente attivo sui pidocchi adulti, ed il nerolidolo, risultato il migliore per quanto attiene l'attività letale specifica sulle uova.

15 Dagli studi sulla pediculosi e sull' impiego degli EO emerge la recente problematica del trattamento: i prodotti attualmente esistenti sul mercato agiscono bene sui pidocchi adulti ma hanno una BASSA EFFICACIA SULLE UOVA DEL PARASSITA (lendini); ciò evidenzia la necessità di mettere sul mercato nuovi prodotti naturali a base di oli essenziali con nuovi componenti terpenici ad attività letale non solo sui pidocchi adulti ma anche sulle loro uova, in manierada evitare gli

20 erronei risultati seguenti dalle usuali terapie impedendo così il ripresentarsi del problema.

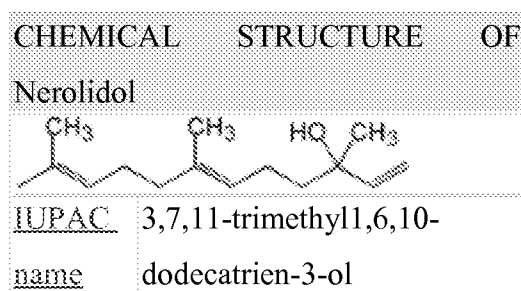
Le più recenti ricerche hanno inoltre rilevato che sussiste una rilevante relazione tra le “dimensioni” delle molecole, la presenza di gruppi ossigenati nella loro struttura molecolare, e le generiche caratteristiche fisico-chimiche dei terpenoidi e l'elevata attività che gli stessi esplicano nei confronti

25 del parassita: l'elevata attività letale sui pidocchi adulti dei monoterpeni mono-ossigenati è dovuta soprattutto alla natura chimica di tali molecole: compatte, planari, poco ingombranti e di basso peso molecolare (LMW). I risultati ottenuti hanno dimostrato che alcuni componenti monossigenati degli EO ed in particolare uno il “(+)-Terpinen-4-ol”, seguito da altri due “alfa-terpineolo” e “(+/-)-Linalolo” hanno una elevata efficacia sui pidocchi adulti, quando utilizzati a basse concentrazioni

30 (non oltre il 2% w/v) per un periodo massimo di esposizione di 15 min. In particolare, gli enantiomeri (+) e (-) del Terpinem-4-ol risultano essere il PRIMO ed il TERZO rispettivamente più efficaci contro i pidocchi adulti.

Tali monoterpeni mono-ossigenati sono alla base dell'attività pediculocida di alcuni EO utilizzati nella formulazione di prodotti naturali antipediculosi, essendo presenti nella ad elevate concentrazioni nella *Malaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil) il cui EO contiene quantitativi importanti di Terpinen-4-ol (40,3%) e dell' alfa-terpineol (3,1%).

5 2. NEROLIDOLO E ATTIVITA' OVICIDA SULLE UOVA DI *P. capitis*



Recentemente, si è approfondito lo studio sull'attività "ovicida" di alcuni componenti terpenoidi presenti negli EO, riscontrando che alcuni di questi composti una importante attività letale ad azione SPECIFICA sulle uova.

Un componente in particolare il "Nerolidolo" l'alcool di un monoterpene aciclico, noto in natura come elemento essenziale di molti dei profumi naturali (fragranze) di alcune specie di piante, possiede una eccellente attività letale sulle uova ei pidocchi.

15

Meccanismo d'azione tea tree oil (Terpinen-4-ol) e Nerolidolo

I componenti degli EO monoterpici (Terpinen-4-ol e nerolidolo) che favoriscono la morte del pidocchio adulto agiscono attraverso un meccanismo d'azione di tipo meccanico: per via transcuticolare tali molecole "attraversano" la "cuticola" del parassita che costituisce una barriera di natura idrofobica. Le molecole dei terpenoidi a basso peso molecolare (LMW) sono più lipofile nell'emolinfa (fluido organico del parassita) in confronto alle molecole di alto peso molecolare, in tale maniera attraversano più facilmente la cuticola del parassita, penetrando nella trachea (via respiratoria del parassita) e causando la morte per soffocamento attraverso un meccanismo di tipo meccanico.

25

Il meccanismo d'azione attraverso il quale, le molecole dei terpenoidi a basso peso molecolare come il Nerolidolo, presentano una nota attività verso le uova può essere delucidato tramite principi di Biodisponibilità. La cuticola dei pidocchi adulti, responsabile per lo scambio dei gas, è costituita da un piccolo numero di pori (areofili) ed è estremamente idrofobica. La cuticola delle uova è più

resistente, non permette gli scambi gassosi ed è ancor più idrofobica rispetto a quella del pidocchio adulto, essendo quasi impenetrabile alla maggior parte dei composti chimici da ciò si evince la difficoltà delle molecole attive di essere efficaci nei confronti delle lendini: la maggior parte dei prodotti a base di EO utilizzati attualmente contro la pediculosi agiscono efficacemente contro i parassiti adulti ma sono poco efficaci sulle uova dei parassiti.

L'idea di associare due componenti naturali ad azione letale e sinergica sui pidocchi adulti (tea tree oil) e sulle uova del parassita (Nerolidolo) nasce dall' esigenza di formulare un nuovo prodotto a base di oli essenziali capace di rendere la terapia contro *P.umanus Capitis* notevolmente più sicura e più efficace, nel promuovere la morte sia dei parassiti adulti che delle sue uova evitando falsi risultati nel trattamento e indesiderabili nuove infestazioni.

FORMULAZIONE

I dati di letteratura confermano che la minima concentrazione necessaria all'azione pediculocida del Tea tree oil è compresa tra lo 0.06-0.5% (C.M. Mc Cage et. al., 2002). Il 94% della mortalità dei pidocchi adulti è stato osservato utilizzando Tea tre oil alla concentrazione dell' 1%. (Veal, 1996). Nei prodotti antipediculosi a base di oli essenziali presenti in commercio, la concentrazione di Tea tree oil che viene utilizzata per ottenere risultati efficaci sui pidocchi adulti spazia tra lo 0,5-1% ottenendo una mortalità equivalente al 94 -100% dei parassiti adulti.

Il Nerolidolo è un monoterpene efficace a basse concentrazioni (sotto il 2% w/v). Risultati soddisfacenti dell'azione ovicida del nerolidolo sono riscontrati ad una concentrazione dell' 1% e del 2% durante un tempo di esposizione di soli 15 minuti con una mortalità pari al 89-100% delle uova del parassita (C.M. pristley et. al., 2006).

La bibliografia conferma l'attività pediculocida dei composti monoterpenici ed in particolare di quelli mono-ossigenati come quelli presenti nell' olio essenziale di Tea tree oil (Terpinen-4-ol) con marcata attività sui pidocchi adulti, e l'attività ovicida dei composti monoterpeni aciclici a basso peso molecolare come il Nerolidolo ad elevata attività letale specificatamente sulle uova dei parassiti.

La formulazione della soluzione oleosa del prodotto antipediculosi oggetto del presente brevetto presenta i seguenti componenti principali:

Composizione in Soluzione oleosa
(peso totale per 100 g di prodotto)

Ingredienti	Gramm	Funzione
	i (g)	
Ethylhexyl stearate	93,14	emolliente
Malaleuca alternifolia (Tea tree oil)	0,5	p.a.
Nerolidolo	1,0	p.a.
Pimpinella anisum oil	4,5	p.a.
Tocopheryl acetate	0,43	antiossidante
phenoxyetanol	0,43	conservante

- 5 Nel prodotto antipediculosi oggetto del presente brevetto, i quantitativi riguardanti i due componenti monoterpenici della formulazione associativa sono pari a 0,5 g di Tea tree oil (0,5%) e 1,0 g di Nerolidolo (1%) del peso totale.

POSOLOGIA

- 10 La soluzione oleosa del prodotto antipediculosi oggetto del presente brevetto contiene nella sua formulazione un' associazione sinergica e innovativa di due composti monoterpenici Tea tree oil + nerolidolo ad azione letale sui pidocchi adulti e sulle uova del parassita.
- La soluzione oleosa antipediculosi oggetto del presente brevetto è contenuta in n. 5 flaconcini monodose da 10 ml cada uno ad un volume finale di 50 ml.
- 15 Il dosaggio consigliato è di 1-2 flaconcini monodose da 10 ml per un tempo di esposizione di 15 minuti da utilizzare a giorni alterni. Per ottenere i risultati desiderati si consigliano due cicli di trattamento.

MODALITA' D'USO

- 20 Dopo aver effettuato un attento esame della cute e dei capelli attraverso l'ausilio di un pettine a denti stretti e metallici ed aver riscontrato l'infestazione, si procede al trattamento distribuendo in maniera omogenea su cuoio capelluto e capelli 1-2 flaconcini monodose da 10 ml (cada uno) di soluzione oleosa antipediculosi oggetto del presente brevetto (contenente nella sua formulazione l'associazione dei due composti monoterpenici -Tea tree oil e nerolidolo) lasciandola agire per 15
- 25 minuti. Si risciacqua con acqua tiepida e si rimuovono i parassiti e le loro uova utilizzando nuovamente il pettine metallico. Il trattamento viene completato con la soluzione shampoo-balsamo

a base di olio essenziale di andiroba ad azione lenitiva-repellente e dunque preventiva contenuta nel *KIT di vendita del prodotto*.

5 Si consiglia l'uso del prodotto a giorni alterni anche nel periodo tra il primo e il secondo trattamento antiparassitario specifico.

AVVERTENZE

10 Il prodotto deve essere conservato a temperatura ambiente. I flaconi monodose non vanno conservati né riutilizzati. Il prodotto non deve essere utilizzato dopo la data di scadenza indicata sulla confezione o se la confezione non si presenta integra. Occorre tenere il prodotto fuori dalla portata dei bambini e risciacquare abbondantemente con acqua in caso di contatto con gli occhi.

BIBLIOGRAFIA

La bibliografia scientifica utilizzata nel presente documento è riportata nell'Allegato I.

ALLEGATO 1

BIBLIOGRAFIA

1. Arch Dermatol Res. 2007 Oct;299(8):389-92. Epub 2007 Jul 24.

- 5 Effectiveness of lotions based on essential oils from aromatic plants against permethrin resistant *Pediculus humanus capitis*.

Gonzalez Audino P, Vassena C, Zerba E, Picollo M.

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN-CITEFA/CONICET), J. B. De Lasalle 4397 (B1603ALO) Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina. pgonzalezaudino@citefa.gov.ar

10

In Argentina, field populations of the head louse *Pediculus humanus capitis* De Geer (Phthiraptera: Pediculidae) have developed resistance to permethrin and other pyrethroids. Thus, the aim of this work was the development of a lotion containing essential oils from plants and an alcoholic coadjuvant to improve biological effect. Ethanol + isopropanol (1 + 1 in volume) 50% in water and ethanol 96% were taken as bases for preparation of experimental lotions containing essential oils from plants. We found that experimental lotions containing lavender, peppermint and eucalyptus oils in a 5% composition and the combination of eucalyptus and peppermint in a total concentration of 10%, dissolved in 50% ethanol + isopropanol (1 + 1) in water, showed the best knockdown effect. On the other side, lotion containing peppermint oil and eucalyptus oil (1 + 1) 10%, dissolved in ethanol 96%, showed to be as effective as the best commercial lotion now available in Argentina. Furthermore, addition of 1-dodecanol in all cases increased the effectiveness of all the experimental lotions. This difference is significantly important for 1-dodecanol concentration of 10%, reaching a toxic activity compared to the best commercial lotion available in the market.

- 25 2. Isr Med Assoc J. 2002 Oct;4(10):790-3.

The in vivo pediculicidal efficacy of a natural remedy.

Mumcuoglu KY, Miller J, Zamir C, Zentner G, Helbin V, Ingber A.

Department of Parasitology, Hebrew University Medical School, Jerusalem, Israel. kostam@cc.huji.ac.il

30

BACKGROUND: Head louse infestations are prevalent worldwide. Over the past 20-25 years, 15-20% of all children in Israel between 4 and 13 years of age have been infested with head lice. This is mainly due to the existence of ineffective pediculicides on the market. OBJECTIVE: To examine the pediculicidal efficacy and safety of a natural remedy ("Chick-Chack") and to compare it in an

open clinical study with a known pesticide spray. METHODS: The natural remedy, which contains coconut oil, anise oil and ylang ylang oil, was applied to the hair of infested children three times at 5 day intervals. Each treatment lasted for 15 minutes. The control pediculicide was a spray formulation containing permethrin, malathion, piperonyl butoxide, isododecane and propellant gas, which was applied twice for 10 minutes with a 10 day interval between applications. RESULTS: Of 940 children, aged 6-14 years, from six schools in Jerusalem who were examined for head louse infestation, 199 (21.2%) were infested with lice and eggs, while 164 (17.4%) were infested only with nits. Altogether, 119 children were randomly treated with either the natural remedy or the control product. Treatment was successful with the natural remedy in 60 children (92.3%) and with the control pediculicide in 59 children (92.2%). There were no significant side effects associated with either formulation. CONCLUSIONS: The natural remedy was very effective in controlling louse infestations under clinical conditions and caused no serious side effects.

3. Parasitol Res. 2006 Sep;99(4):353-6. Epub 2006 Mar 28.

15 A new shampoo based on neem (*Azadirachta indica*) is highly effective against head lice in vitro.

Heukelbach J, Oliveira EA, Speare R.

Department of Community Health, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil. heukelbach@web.de

20 Because topical compounds based on insecticidal chemicals are the mainstay of head lice treatment, but resistance is increasing, alternatives, such as herbs and oils are being sold to treat head lice. To test a commercial shampoo based on seed extract of *Azadirachta indica* (neem tree) for its in vitro effect, head lice (n=17) were collected from school children in Australia and immersed in Wash-Away Louse shampoo (Alpha-Biocare GmbH, Germany). Vitality was evaluated for more than 3 h by examination under a dissecting microscope. Positive and negative controls were a commercially available head lice treatment containing permethrin 1% (n=19) and no treatment (n=14). All lice treated with the neem shampoo did not show any vital signs from the initial examination after immersion at 5-30 min; after 3 h, only a single louse showed minor signs of life, indicated by gut movements, a mortality of 94%. In the permethrin group, mortality was 20% at 5 min, 50% at 15 min, and 74% after 3 h. All 14 head lice of the negative control group survived during the observation period. Our data show that Wash-Away Louse is highly effective in vitro against head lice. The neem shampoo was more effective than the permethrin-based product. We speculate that complex plant-based compounds will replace the well-defined chemical pediculicides if resistance to the commonly used products further increases.

4. Parasitol Res. 2007 Jan;100(2):329-32. Epub 2006 Aug 10.

Efficacy of neem seed extract shampoo on head lice of naturally infected humans in Egypt.

Abdel-Ghaffar F, Semmler M.

Zoology Department, Faculty of Science Cairo University, Giza, Egypt.

5

Sixty heavily lice-infested male and female children (4-15 years) were selected and subjected to the treatment with a neem seed extract shampoo. Twenty to thirty milliliter of the shampoo were thoroughly mixed with completely wet hair and rubbed in to reach the skin of the scalp. After 5, 10, 15 and 30 min, the shampoo was washed out and the hair basically combed. Head lice were collected and examined. The neem seed extract shampoo proved to be highly effective against all stages of head lice. No obvious differences regarding the efficacy of the shampoo were observed between an exposure time of 10, 15 or 30 min. No side effects, such as skin irritation, burning sensations, or red spots on the scalp, forehead or neck, respectively, were observed.

- 15 5. J Am Acad Dermatol. 2007 Feb;56(2):250-6. Epub 2006 Dec 4.

In vitro pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruits of *Melia azedarach* L.

Carpinella MC, Miranda M, Almirón WR, Ferrayoli CG, Almeida FL, Palacios SM.

Fine Chemical and Natural Products Laboratory, School of Chemistry, Catholic University of Córdoba, Argentina. ceciliacarpinella@campus1.uccor.edu.ar

20

BACKGROUND: Head louse infestation is difficult to control because of increasing lice resistance to synthetic pediculicidal drugs. OBJECTIVE: To test the activity of extract and oil obtained from fruits of *Melia azedarach* L. against the head louse *Pediculus humanus capitis*. METHODS: A filter paper diffusion bioassay was carried out in order to determine the pediculicidal and ovicidal activity of extract and oil from *M. azedarach* L. fruits. RESULTS: Both vegetable products, tested either individually or in combinations, showed high levels of mortality on adult lice, with values ranging between 62.9% and 96.5%. The highest mortality rate was obtained with a combination of 20% ripe fruit extract with 10% ripe fruit oil. A formulation made with both extract and oil at 10% plus the addition of emulsifier and preserving agents showed 92.3% pediculicidal activity. The products were also successful in delaying or inhibiting nymph emergence, with the formulation being the most effective, with a complete inhibition of emergence. LIMITATIONS: Because adult lice are sensitive to starvation and therefore control mortalities are often higher than 20% in tests with field specimens, the results may not reflect the direct effect of the extract. CONCLUSIONS: These

results demonstrate the possibility of using Melia products for controlling head lice, which are difficult to control because of their resistance to the currently used anti-lice agents.

6. Fitoterapia. 2006 Jun;77(4):303-9. Epub 2006 May 16

5 Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs.

Priestley CM, Burgess IF, Williamson EM.

GlaxoSmithKline Nutritional Healthcare, Royal Forest Factory, Coleford, Gloucestershire, GL16 8JB, UK.

10 Essential oils have been widely used in traditional medicine for the eradication of lice, including head lice, but due to the variability of their constitution the effects may not be reproducible. In an attempt to assess the contribution of their component monoterpenoids, a range of common individual compounds were tested in in vitro toxicity model against both human lice (*Pediculus humanus*, an accepted model of head lice lethality) and their eggs, at different concentrations. No
15 detailed study into the relative potencies of their constituent terpenoids has so far been published. Adult lice were observed for lack of response to stimuli over 3 h and the LT(50) calculated, and the percentage of eggs failing to hatch was used to generate ovicidal activity data. A ranking was compiled for adult lice and partially for eggs, enabling structure-activity relationships to be assessed for lethality to both, and showed that, for activity in both life-cycle stages, different structural
20 criteria were required. (+)-Terpinen-4-ol was the most effective compound against adult lice, followed by other mono-oxygenated monocyclic compounds, whereas nerolidol was particularly lethal to eggs, but ineffective against adult lice.

7. Fitoterapia. 2007 Dec;78(7-8):521-5. Epub 2007 Jul 3.

25 An investigation and comparison of the bioactivity of selected essential oils on human lice and house dust mites.

Williamson EM, Priestley CM, Burgess IF.

The School of Pharmacy, University of Reading, Whiteknights, Reading, Berkshire, RG6 6AP, UK.

e.m.williamson@reading.ac.uk

30

The insecticidal potency of some essential oils suggests that they may find an application in the control of house dust mites, but current in vitro assays for mites do not appear to give consistent results. A simple, novel, mite chamber assay was therefore developed to carry out testing. Different species of insects are susceptible to different essential oil components, so we compared the relative

acaricidal and pediculicidal activity of three essential oils: tea tree, lavender and lemon, because the activity of their constituents on lice ranges from highly active to virtually inactive. The most effective essential oil against both lice and mites was tea tree oil; lavender was the second most effective, and lemon oil the least, although it did show activity against mites, unlike lice. The assay
5 proved simple and effective and gave reproducible results.

8. J Med Entomol. 2006 Sep;43(5):889-95.

Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina.

10 Tolozza AC, Zygaadlo J, Cueto GM, Biurrun F, Zerba E, Picollo MI.

Centro de Investigaciones en Plagas e Insecticidas (CITEFA-CONICET), Juan Bautista De La Salle 4397 (B1603ALO) Villa Martelli, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

The repeated use of permethrin and other insecticides for the control of head lice, *Pediculus*
15 *humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae), during past decades has resulted in the development of marked levels of resistance. Thus, new alternative insecticides are needed for the control of head lice. We studied the fumigant and repellent properties of essential oils from 16 native and exotic plants in Argentina, and 21 chemical components against permethrin-resistant head lice from Argentina. With a direct vapor-exposure bioassay, the most effective oil was from
20 the native *Myrcianthes cisplatensis* Cambess (Myrtaceae) with a time to 50% knockdown (KT50) of 1.3 min, followed by exotic species, *Eucalyptus cinerea* F.V. Muell., *Eucalyptus viminalis* Labill., and *Eucalyptus saligna* Smith. with KT50 values of 12.0, 14.9, and 17.4 min, respectively. The most effective components were 1,8-cineole and anisole, with KT50 values of 11.1 and 12.7 min, respectively. Regression analysis of KT50 values and vapor pressures and water-partition
25 coefficients for the essential oil components revealed that the most effective fumigants were among the more volatile components. Repellency assays indicated that the essential oil from *Mentha pulegium* L. and its benzyl alcohol component were the most effective repellents, having repellency indices of 75.5 and 57.8%, respectively. Thus, some Argentinean plants contain essential oils and components that function as fumigants or as repellents and thereby show potential for development
30 of new control products for head lice.

9. J Med Entomol. 2008 Jul;45(4):693-7.

Evidence of pyrethroid resistance in eggs of *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) from Argentina.

Cueto GM, Zerba EN, Picollo MI.

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CITEFA-CONICET), Juan Bautista de La Salle 4397, B1603ALO Buenos Aires, Argentina. gmougabure@citefa.gov.ar

5 Insecticide resistance in *Pediculus humanus capitis* De Geer 1778 (Phthiraptera: Pediculidae) from different countries has been well documented in the last years. Otherwise, little research has been reported about insecticide resistance in insect embryos and none in human louse embryos. In this work, we studied insecticide resistance in eggs of three head lice populations whose pyrethroid resistance was shown in adults and nymphs compared with a susceptible laboratory body louse strain. All head louse populations showed high permethrin resistance in eggs. Levels of permethrin resistance (LCRs) assessed in eggs by immersion technique were higher than those previously reported for the corresponding populations of adults by topical application. Comparison of LCR values for different populations showed that there was a direct relationship between the resistance levels assessed in eggs and those in adults. All permethrin-resistant eggs showed high resistance to d-phenothrin and dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) and low resistance to carbaryl, which is in common with the resistance profile established for adults and nymphs. The results concerning the high resistance to pyrethroid (permethrin and d-phenothrin) and the cross-resistance to DDT and carbaryl detected in head louse eggs and adults suggested similar resistance mechanisms in eggs and adults of head louse populations from adults.

20

10. J Med Entomol. 2005 May;42(3):342-5.

Increased monooxygenase activity associated with resistance to permethrin in *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina.

González Audino P, Barrios S, Vassena C, Mougabure Cueto G, Zerba E, Picollo MI.

25 Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CITEFA- CONICET), Juan Bautista de La Salle 4397 (B1603ALO), Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina.

We studied the profile of permethrin resistance in populations of head lice infesting children 6-12 yr old in schools and their homes in and around Buenos Aires, Argentina. Five permethrin-resistant populations with different levels of resistance were collected: Hogar Loyola (HL), Republica de Turquia (RT), Hogar Mitre (HM), Guardia de Honor (GH), and Ricardo Güiraldes (RG). One susceptible population, Bandera Argentina (BA), also was collected. Their level of resistance was evaluated, and results showed resistance ratios of 13 for HL, 16 for RT, 22 for HM, 61 for GH, and 69 for RG. To elucidate the possible involvement of the cytochrome P450 monooxygenase system

30

in conferring permethrin resistance, ethoxycoumarin-O-deethylase (ECOD) activity was measured in abdomens of individual third instars and adults by using a fluorometric assay. The ECOD activity was lower in the susceptible BA population (4.7 ng per louse) than in the resistant ones (13.7 ng per louse for RG, 12.3 ng per louse for GH, 8.6 ng per louse for RT, and 8.2 ng per louse for HL).

5 ECOD activity was significantly correlated with the level of resistance in the field populations ($r = 0.97$, $P = 0.0009$), suggesting a role for cytochrome monooxygenase P450 system in permethrin resistance by head louse, *Pediculus humanus capitis* De Geer.

11. J Ethnopharmacol. 2008 Mar 28;116(3):495-500. Epub 2008 Jan 6.

10 Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil.

Costa-Silva JH, Lima CR, Silva EJ, Araújo AV, Fraga MC, Ribeiro E, Ribeiro A, Arnuda AC, Lafayette SS, Wanderley AG.

Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco 50740-521, Brazil.

15

Carapa guianensis (Meliaceae), known as Andiroba in Brazil, has been used by Amazon Rainforest indigenous communities for treatment of coughs, convulsions, skin diseases, arthritis, rheumatism, ear infections, to heal wounds and bruises and as an insect repellent. *Carapa guianensis* seed oil (SO) was evaluated for its acute and subacute toxicity (30 days) by the oral route in Wistar rats. In

20 the acute toxicity test, SO (0.625-5.0g/kg, n=5/sex) did not produce any hazardous symptoms or deaths. The subacute treatment with SO (0.375, 0.75 and 1.5g/kg, n=10/group) failed to change body weight gain, food and water consumption. Hematological analysis showed no significant differences in any of the parameters examined. However, in the biochemical parameters, there was an increase in the alanine aminotransferase (ALT) serum level (29%) in the group SO 1.5g/kg. In

25 addition, absolute and relative liver weights were increased at the doses of 0.75g/kg (23.4 and 19.1%) and 1.5g/kg (18.7 and 33.1%). In conclusion, acute and subacute administration of *Carapa guianensis* seed oil did not produce toxic effects in male Wistar rats. However, the increase in the ALT serum level and in both absolute and relative liver weights may indicate a possible hepatic toxicity.

30

12. J Pharm Pharmacol. 2004 Mar;56(3):375-9.

Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree oil.

Mills C, Cleary BJ, Gilmer JE, Walsh JJ.

Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Trinity College Dublin, College Street, Dublin 2, Ireland.

Pediculosis is a widespread condition reported in schoolchildren. Treatment most commonly involves the physical removal of nits using fine-toothcombs and the chemical treatment of adult lice and eggs with topical preparations. The active constituents of these preparations frequently exert their effects through inhibition of acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.7). Increasing resistance to many preparations has led to the search for more effective treatments. Tea Tree oil, otherwise known as Melaleuca oil, has been added to several preparations as an alternative treatment of head lice infestations. In this study two major constituents of Tea Tree oil, 1,8-cineole and terpinen-4-ol, were shown to inhibit acetylcholinesterase at IC₅₀ values (inhibitor concentrations required to give 50% inhibition) of 0.04 and 10.30 mM, respectively. Four samples of Tea Tree oil tested (Tisserand, Body Treats, Main Camp and Irish Health Culture Association Pure Undiluted) showed anticholinesterase activity at IC₅₀ values of 0.05, 0.10, 0.08 and 0.11 microL mL⁻¹, respectively. The results supported the hypothesis that the insecticidal activity of Tea Tree oil was attributable, in part, to the anticholinesterase activity of Tea Tree oil.

13. Pak J Biol Sci. 2008 Jan 15;11(2):260-4.

Epidemiological aspects of Pediculosis capitis and treatment evaluation in primary-school children in Iran.

Motovali-Emami M, Aflatoonian MR, Fekri A, Yazdi M.

Department of Vector Control, Sepahan Green-Thou Plant Pathology and Medical Entomology Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

This study was undertaken to assess the prevalence of and epidemiological factors associated with, head lice infections in Iranian primary schools in 2006 and evaluate data on the therapeutic efficacy of lindane shampoo. A total of 40586 children (19774 boys (48.72%) and 20812 girls (51.28%)] from 198 Governmentprimary schools in Kerman, were screened for head lice between March and June 2006. The diagnosis of head lice infestation was confirmed by clinical inspection of scalp and hair for the presence of adult lice nymphal stage, or eggs (nit) by line-toothed head lice comb. All children infested with lice were treated with lindane shampoo (1% gamma benzene hexachloride). The overall prevalence of head lice infestation was 1.8%. The prevalence of infestation was significantly higher in girls (2.9%) than in boys (0.6%) (p = 0.000). The infestation rate was greater among pupils who were living in rural areas (4.6%) than in urban areas (1.5%). Of the 721 children with a positive examination result, 424 pupils (58.8%) were reported as having been infested with

head lice in the previous 6 months. Mother's education level was a significant risk factor in this model ($p < 0.05$). At 2 weeks after the primary treatment, the success rates of treatment were 49%. Comprehensive survey in our work showed the better future of the disease and related factors. Education campaigns by health care officials, physicians and teachers are expected to be helpful for head lice control. It is essential that governments should be supported form cooperation between the school authorities and public health centers to successful control head lice infestation in primary school. Also there is an urgent need to identify safe, novel insecticides for proved efficacy.

14. Fitoterapia. 2006 Jun;77(4):303-9. Epub 2006 May 16.

10 Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs.

Priestley CM, Burgess IE, Williamson EM.

GlaxoSmithKline Nutritional Healthcare, Royal Forest Factory, Coleford, Gloucestershire, GL16 8JB, UK.

15 Essential oils have been widely used in traditional medicine for the eradication of lice, including head lice, but due to the variability of their constitution the effects may not be reproducible. In an attempt to assess the contribution of their component monoterpenoids, a range of common individual compounds were tested in in vitro toxicity model against both human lice (*Pediculus humanus*, an accepted model of head lice lethality) and their eggs, at different concentrations. No detailed study into the relative potencies of their constituent terpenoids has so far been published. Adult lice were observed for lack of response to stimuli over 3 h and the LT(50) calculated, and the percentage of eggs failing to hatch was used to generate ovicidal activity data. A ranking was compiled for adult lice and partially for eggs, enabling structure-activity relationships to be assessed for lethality to both, and showed that, for activity in both life-cycle stages, different structural criteria were required. (+)-Terpinen-4-ol was the most effective compound against adult lice, followed by other mono-oxygenated monocyclic compounds, whereas nerolidol was particularly lethal to eggs, but ineffective against adult lice.

15. Chem Biodivers. 2008 Jul;5(7):1327-34.

30 Leaf essential oil composition of three species of *Myrcianthes* from Monteverde, Costa Rica.

Cole RA, Haber WA, Lawton RO, Setzer WN.

Department of Chemistry, University of Alabama in Huntsville, Huntsville, AL 35899, USA.

To examine the chemical diversity of essential oils from *Myrcianthes* species (Myrtaceae) as well as potential chemotaxonomic relationships between them, the leaf essential oils of *M. fragrans* (Sw.) McVaugh, *M. rhopaloides* (Kunth) McVaugh, and an undescribed species, *Myrcianthes* 'black fruit', from Monteverde, Costa Rica, were isolated by hydrodistillation and analyzed by GC/MS. The most abundant components of the essential oil of *M. fragrans* were 1,3,5-trimethoxybenzene (15.7%), (Z)-hex-3-en-1-ol (10.0%), alpha-cadinol (10.4%), eudesma-4(15),7-dien-1beta-ol (9.0%), caryophyllene oxide (7.8%), and spathulenol (7.5%). The leaf oils of two different samples of *Myrcianthes rhopaloides* were quantitatively different with one sample composed mostly of linalool (17.7%), alpha-cadinol (14.4%), spathulenol (11.1%), tau-cadinol (9.6%), and 1-epicubenol (6.9%), and the other was made up largely of (E)-hex-2-enal (46.1%), 1,8-cineole (12.5%), linalool (9.1%), alpha-cadinol (6.7%), and alpha-terpineol (4.4%). The major components in the leaf essential oil of *Myrcianthes* 'black fruit' were 1,8-cineole (38.3%), alpha-terpineol (21.2%), heptan-2-ol (15.5%), terpinen-4-ol (4.2%), and beta-pinene (3.8%). The leaf oil compositions of *Myrcianthes* in this study are very different from leaf oils from other members of *Myrcianthes* reported in the literature. A cluster analysis reveals large chemical variation not only between members of the genus, but also between samples of the same species.

16. Complement Ther Nurs Midwifery. 1996 Aug;2(4):97-101.

The potential effectiveness of essential oils as a treatment for headlice, *Pediculus humanus capitis*.
 20 Veal L.
 British Embassy, Reykjavik, Iceland.

Essential oils of aniseed, cinnamon leaf, red thyme, tea tree, peppermint, nutmeg, rosemary, and pine were tested in vitro against lice, *Pediculus humanus*. All the oils except for rosemary and pine were found to be effective in the laboratory when applied in an alcoholic solution and followed by a
 25 rinse the following morning in an essential oil/vinegar/water mixture. Peppermint and nutmeg were only used as a blend rather than as individual oils. Problems of solubility and toxicity are discussed, as are possible mechanisms of action. Phenols, phenolic ethers, ketones, and oxides (1,8-cineole) appear to be the major toxic components of these essential oils when used on lice. Aldehydes and
 30 sesquiterpenes may also play a role.

17. Food Chem Toxicol. 2008 Jul 2. [Epub ahead of print]

Fragrance material review on nerolidol (isomer unspecified).

Lapczynski A, Bhatia SP, Letizia CS, Api AM.

Research Institute for Fragrance Materials Inc., 50 Tice Boulevard, Woodcliff Lake, NJ 07677, USA.

5 A toxicologic and dermatologic review of nerolidol when used as a fragrance ingredient is presented.

18. Food Chem Toxicol. 2008 Jul 1. [Epub ahead of print]

Fragrance material review on cis-nerolidol.

Lapczynski A, Letizia CS, Api AM.

10 Research Institute for Fragrance Materials Inc., 50 Tice Boulevard, Woodcliff Lake, NJ 07677, USA.

A toxicologic and dermatologic review cis-nerolidol when used as a fragrance ingredient is presented.

15 PMID: 18640201 [PubMed - as supplied by publisher]

19. Z Naturforsch [C]. 2007 Jul-Aug;62(7-8):537-42.

Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae).

20 Klopell EC, Lemos M, Sousa JP, Comunello E, Maistro EL, Bastos JK, de Andrade SF.

Núcleo de Ciência e Tecnologia, Area de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Oeste de Santa Catarina, Campus de Videira, Rua Paese, 198, Bairro Universitário, Videira, SC, CEP 89560-900, Brazil.

25 In this study, the antiulcerogenic effect of essential oil from *Baccharis dracunculifolia* was evaluated using the model of acute gastric lesions induced by ethanol. The ulcerative lesion index (ULI) was significantly reduced by oral administration of the essential oil of *B. dracunculifolia* at doses of 50, 250 and 500 mg/kg which reduced the lesions by 42.79, 45.70 and 61.61%, respectively. The analysis of the chemical composition of the essential oil from *B. dracunculifolia*
30 by GC showed that this was composed mainly of mono- and sesquiterpenes and the majority compound was nerolidol. Therefore, antiulcerogenic activity of nerolidol (50, 250 and 500 mg/kg) was investigated using ethanol-, indomethacin- and stress-induced ulcer models in rat. In the stress-induced ulcer model, a significant reduction of the ULI in animals treated with nerolidol (50, 250 and 500 mg/kg) and cimetidine (100 mg/kg) was observed, compared to the control group ($p <$

0.05). The percentage of inhibition of ulcer was 41.22, 51.31, 56.57 and 53.50% in groups treated with 50, 250, 500 mg/kg of nerolidol and 100 mg/kg of cimetidine (positive control), respectively. Regarding ethanol- and indomethacin-induced ulcer models, it was observed that the treatment with nerolidol (250 and 500 mg/kg) significantly reduced the ULI in comparison with the control group (p < 0.05). The dose of 50 mg/kg reduced the parameters analyzed but this was not statistically significant. In the ethanol-induced model percentage of inhibition of ulcer was 34.20, 52.63, 87.63 and 50.87% in groups treated with 50, 250, 500 mg/kg of nerolidol and 30 mg/kg of omeprazol (positive control), respectively. In indomethacin-ulcer the percentage of inhibition of ulcer was 34.69, 40.80, 51.02 and 46.93% in groups treated with 50, 250, 500 mg/kg of nerolidol and 100 mg/kg of cimetidine (positive control), respectively. The results of this study show that nerolidol displays antiulcer activity, as it significantly inhibited the formation of ulcers induced in different animal models. However, further pharmacological and toxicological investigations, to delineate the mechanism(s) of action and the toxic effects, are required to allow the use of nerolidol for the treatment of gastric ulcer.

15

20. J Pharm Pharmacol. 2004 Mar;56(3):375-9.

Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree oil.

Mills C, Cleary BJ, Gilmer JE, Walsh JJ.

Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Trinity College Dublin, College Street,
Dublin 2, Ireland.

Pediculosis is a widespread condition reported in schoolchildren. Treatment most commonly involves the physical removal of nits using fine-toothcombs and the chemical treatment of adult lice and eggs with topical preparations. The active constituents of these preparations frequently exert their effects through inhibition of acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.7). Increasing resistance to many preparations has led to the search for more effective treatments. Tea Tree oil, otherwise known as Melaleuca oil, has been added to several preparations as an alternative treatment of head lice infestations. In this study two major constituents of Tea Tree oil, 1,8-cineole and terpinen-4-ol, were shown to inhibit acetylcholinesterase at IC₅₀ values (inhibitor concentrations required to give 50% inhibition) of 0.04 and 10.30 mM, respectively. Four samples of Tea Tree oil tested (Tisserand, Body Treats, Main Camp and Irish Health Culture Association Pure Undiluted) showed anticholinesterase activity at IC₅₀ values of 0.05, 0.10, 0.08 and 0.11 microL mL⁻¹, respectively. The results supported the hypothesis that the insecticidal activity of Tea Tree oil was attributable, in part, to the anticholinesterase activity of Tea Tree oil.

RIVENDICAZIONI

FORMULAZIONE ASSOCIATIVA AD USO TOPICO A BASE DI OLII ESSENZIALI PER IL TRATTAMENTO DELLA PEDICULOSI

- 5 1) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi avente azione letale sia sui pidocchi adulti che sulle loro uova costituita da almeno un componente di *terpinem-4-ol* e da almeno un componenente di *nerolidolo* in soluzione oleosa, con uno o più agenti emollienti, antiossidanti e conservanti;
- 10 2) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui alla rivendicazione 1 dove le componenti *terpinem-4-ol* e *nerolidolo* sono contenuti in olii essenziali estratti da piante presenti in natura;
- 15 3) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui alla rivendicazione 2 dove il componente *terpinem-4-ol* è un monoterpene mono-ossigenato presente in elevate concentrazioni nell'olio essenziale della pianta di *Malaleuca Alternifolia*, avente notevole azione letale sui pidocchi adulti;
- 20 4) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui alla rivendicazione 2 dove il componente *nerolidolo* è un monoterpene aciclico presente in piante della famiglia delle *Asteraceae* *Baccaris* avente notevole e specifica azione letale sulle uova del parassita;
- 25 5) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui a una o più delle rivendicazioni precedenti dove l'efficacia letale del prodotto sia sui pidocchi adulti che sulle uova si ottiene grazie all'associaizone tra il *terpinem-4-ol* e il *nerolidolo*. Il *terpinem-4-ol* e il *nerolidolo* agiscono rispettivamente sul pidocchio adulto e sulle uova attraverso un meccanismo d'azione di tipo meccanico. Infatti, tali molecole essendo a basso peso molecolare attraversano la membrana del parassita di natura idrofobica, penetrando nella trachea (via respiratoria del parassita) causandone la morte per soffocamento;
- 30 6) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui a una o più delle rivendicaizoni precedenti, composta da una soluzione oleosa che per 100 gr di prodotto contiene: a) *Ethylhexyl stearate* 93.14 gr.; b) *Malaleuca Alternifolia* (*tea tree oil*) 0.5 gr.; c) *Nerolidol* 1.0 gr; d) *Pimpinella Asinum oil* 4.5 gr; e) *Tocopheryl Acetate* 0.43 gr.; f) *Phenoxy Ethanol* 0.43 gr.

- 5 7) Formulazione associativa ad uso topico a base di olii essenziali per il trattamento della pediculosi di cui alla rivendicazione 6 dove la somministrazione all'uomo avviene attraverso la distribuzione in maniera omogenea sul cuoio capelluto e sui capelli di circa 1-2 flaconcini monodose da 10 ml cadauno contenenti la formulazione e lasciandola agire per circa 15 minuti. All'esito, si procede prima al risciacquo con acqua tiepida e poi passando un pettinino tra i capelli al fine della rimozione delle uova e dei parassiti morti. Si consiglia l'esecuzione del trattamento a giorni alterni per una durata complessiva di circa 5-10 gg.

CLAIMS

ESSENTIAL-OIL BASED ASSOCIATIVE FORMULATION FOR TOPICAL USE FOR TREATMENT OF PEDICULOSIS

- 5 1) Essential-oil based associative formulation for treatment of pediculosis with lethal effect both on adult lice and nits consisting of at least one component of *terpinem-4-ol* and at least one component of *nerolidol* in oily solution, containing one or more emollient agents, antioxidants and preservatives;
- 10 2) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of claim 1, whereas the components *terpinem-4-ol* and *nerolidol* are contained within essential oils extracted from plants;
- 15 3) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of claim 2, whereas the *terpinem-4-ol* component consists of a mono-oxygenated monoterpene which is highly concentrated in the essential oil extracted from *Malaleuca Aternifolia* , featuring remarkable lethal action on adult lice;
- 20 4) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of claim 2, whereas the *nerolidol* component consists of an acyclic monoterpene contained in plants belonging to the *Asteraceae Baccaris* family featuring remarkable and specific lethal action on the parasite eggs (nits);
- 25 5) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of one or more previous claims, where the lethal action carried out by the product on both adult lice and nits is due to association of *terpinem-4-ol* and *nerolidol*. *Terpinem-4-ol* and *nerolidol* carry out their effect on adult lice and on nits, respectively, through a mechanical MOA (Mechanism Of Action). In fact, the latter molecules are of low-molecular-weight nature and, therefore, permeate the parasite hydrophobic membrane and penetrate the trachea (parasite airway), leading to parasite death by suffocation.
- 30 6) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of one or more of the previous claims, consisting of an oily solution, 100 gram of which contain: a) *Ethylhexyl stearate* 93.14 gram; b) *Malaleuca Alternifolia (tea tree oil)* 0.5 gram; c) *Nerolidol* 1.0 gram d) *Pimpinella Asinum oil* 4.5 gram e) *Tocopheryl Acetate* 0.43 gram; f) *Phenoxy Ethanol* 0.43 gram;
- 7) Essential-oil based associative formulation for topical use for treatment of pediculosis as of claim 6, administered by homogeneous application to the scalp and hair of 1 or 2

10ml single dose phials containing the formulation and letting it rest for approximately 15 minutes. Eventually, scalp is rinsed with warm water and hair is combed in order to remove nits and dead parasites. Treatment is recommended every 2 days for a total of 5-10 days.