(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103476457 A
(43)申请公布日 2013.12.25

(21)申请号 201280009037.X
(22)申请日 2012.02.15
(30)优先权数据
1151243 2011.02.15 FR
(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.08.15
(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2012/052553 2012.02.15
(87)PCT申请的公布数据
WO2012/110537 FR 2012.08.23
(71)申请人 法国诗华大药厂
地址 法国利布尔讷
(72)发明人 内奥米·埃萨卡 蒂埃里·贝尔泰姆
(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司 11219
代理人 张颖 谢丽娜
(51)Int.Cl.
A61P 15/14(2006.01)
A61K 31/48(2006.01)
A61K 31/381(2006.01)
A61K 31/4045(2006.01)
A61K 31/428(2006.01)

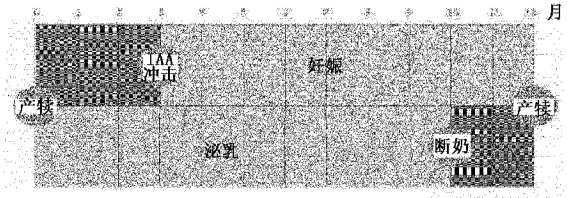
权利要求书1页 说明书9页 附图3页

(54)发明名称

用于反刍动物的兽医用抗催乳素组合物

(57)摘要

本发明涉及一种施用于反刍动物的兽医用抗催乳素组合物。所述组合物包括至少一种抗催乳素化合物，其是多巴胺受体激动剂，并且对于防止和/或减轻在反刍动物中与缩短的干乳期有关的有害效应来说特别有用。所述组合物对于在泌乳恢复时防止和/或减轻代谢疾病和/或生殖障碍来说特别有用。本发明的兽医用抗催乳素组合物的使用对所治疗的反刍动物的产乳能力和/或乳质量没有不利影响。



奶牛的年度周期

CN 103476457 A

1. 一种兽医用组合物，其特征在于它包含至少一种具有抗催乳素多巴胺受体激动剂活性的化合物，所述组合物用于防止和/或减轻在反刍动物中与缩短的干乳期的实施相关的有害效应。

2. 权利要求 1 的兽医用组合物，其用于在泌乳恢复时防止和/或减轻代谢疾病和/或生殖障碍。

3. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其用于改善反刍动物在泌乳恢复时的免疫力状态和/或肝功能。

4. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其特征在于在所述干乳期的实施时和/或所述干乳期期间将所述兽医用组合物施用于所述反刍动物。

5. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其特征在于以单次治疗和/或反复治疗的方式施用所述组合物。

6. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其特征在于所述 8 周的干乳期被减少到 4 至 7 周之间，或 4 至 6 周之间，或 4 至 5 周之间，以及优选为 4 至 6 周之间的缩短的干乳期。

7. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其特征在于所述兽医用组合物不影响所述反刍动物的产乳能力和/或乳质量。

8. 前述权利要求任一项的兽医用组合物，其特征在于所述多巴胺受体激动剂化合物选自得自于黑麦麦角的激动剂和/或其衍生物。

9. 权利要求 8 的兽医用组合物，其特征在于所述得自于黑麦麦角的激动剂化合物尤其选自卡麦角林、甲麦角林、麦角乙脲、溴隐亭、麦角新碱和/或它们的衍生物。

10. 权利要求 1 至 7 任一项的兽医用组合物，其特征在于所述多巴胺受体激动剂化合物选自不得自于黑麦麦角的激动剂和/或其衍生物。

11. 权利要求 10 的兽医用组合物，其特征在于所述不得自于黑麦麦角的激动剂化合物尤其选自罗匹尼罗、普拉克索、罗替戈汀、喹高利特和/或它们的衍生物。

12. 前述权利要求任一项的组合物，其特征在于所述组合物通过肠胃外、乳腺内、皮肤或口服途径施用。

13. 前述权利要求任一项的组合物，其特征在于所述组合物通过注射的方式施用。

14. 权利要求 13 的组合物，其特征在于所述组合物通过肌肉内或皮下注射的方式施用。

15. 前述权利要求任一项的组合物，其特征在于所述反刍动物是选自牛、绵羊、山羊、骆驼科动物或牛科动物的草食性哺乳动物。

16. 一种试剂盒，其包含有效治疗剂量的例如权利要求 1 至 15 任一项中定义的兽医用组合物，用于防止和/或减轻与在反刍动物中缩短的干乳期的实施相关的有害效应。

17. 权利要求 16 的试剂盒，其用于在泌乳恢复时防止和/或减轻代谢疾病和/或生殖障碍。

18. 权利要求 16 或 17 的试剂盒，其特征在于所述组合物在所述干乳期的实施时和/或所述干乳期期间施用于所述反刍动物。

19. 权利要求 16 至 18 任一项的试剂盒，其特征在于所述试剂盒还包括描述了所述兽医用组合物的施用程序和方式的说明书。

用于反刍动物的兽医用抗催乳素组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及兽医用组合物以及用于防止和/或减轻在反刍动物中在缩短的干乳期实施期间通常观察到的有害效应的方法。这些有害效应尤其是包括泌乳恢复时的代谢疾病和生殖障碍。本发明的兽医用组合物和预防方法不影响所述反刍动物在随后的泌乳期间的产乳能力和/或乳质量。

背景技术

[0002] 在反刍动物中，泌乳一般持续 5 至 20 个月。在奶牛中，最通常为 10 个月。在该泌乳期后，泌乳通常突然停止，并且反刍动物将不再产乳直至产犊，此时开始随后的泌乳。在出乳停止与随后的产犊之间的这一时间段被称为干乳期，在奶牛中一般固定在约 2 个月。

[0003] 尽管为了确保随后的泌乳期间最佳的乳生产，干乳期是必需的，但这种干乳期需要几种饮食变化和过渡以适应于不再产乳的动物的生理需求。这些饮食变化在反刍动物中引起大量生理破坏和应激，例如消化菌群平衡的破坏、胃容量和吸收的降低以及瘤胃尺寸和瘤胃粘膜绒毛的变化。最后，该干乳期导致反刍动物中的代谢与在泌乳期间观察到的代谢极为不同。因此，在产犊后泌乳的恢复期间，反刍动物处于引起能量缺乏的代谢失调状态，而对产乳的需求再次处于最大。

[0004] 此外，由长的干乳期强加的饮食变化和过渡使向畜群提供这样的饮食程序更加复杂。通过缩短干乳期简化这些程序，将便于畜产业者的畜群管理。

[0005] 为了减少上述负面结果，在过去已进行了减少干乳期持续时间的尝试。例如，在奶牛中，已经试验了 1 个月而不是通常的 2 个月的干乳期。然而，已证明，缩短干乳期的实践事实上使反刍动物中的代谢不平衡恶化，并在后续泌乳的第一个月中引起代谢疾病和生殖障碍出现的风险增加。除了这种对反刍动物的显著危害之外，这些实践做法一般引起泌乳期间较低的乳产量。

[0006] 在兽医学中，可以施用基于催乳素抑制剂的组合物例如Galastop®（卡麦角林，Ceva Santé Animale）作为用于母牛假孕期间泌乳的治疗方法。它们也在早期断奶后、流产或分娩后立即与幼畜隔离以便停止产乳和哺乳期间使用。2011 年 1 月 7 日授权的本申请人名下的法国专利号 FR2936710 描述了在妊娠期间向反刍动物施用抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物以便诱导泌乳停止并促进乳腺退缩。

[0007] 本申请人现在令人吃惊地发现，在干乳期实施时和/或在干乳期期间向反刍动物施用包含至少一种抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物的兽医用组合物，能够防止和/或减轻与缩短的干乳期的实施有关的有害效应，例如代谢疾病和/或生殖障碍，并且还能够改善反刍动物在后续泌乳期间的免疫力状态和/或肝功能。然而，令人吃惊的是，本发明的兽医用组合物的施用不影响所治疗反刍动物的产乳能力和/或乳质量。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明涉及包含至少一种抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物的兽医用组合物，其在干乳期实施时和/或在干乳期期间施用于反刍动物。本发明的兽医用组合物的抗催乳素

化合物选自得自于黑麦麦角的多巴胺受体激动剂化合物或不得自于黑麦麦角衍生物的激动剂化合物。

[0010] 根据本发明，所述组合物在反刍动物的干乳期实施时和 / 或在干乳期期间以有效治疗的量施用，以便防止和 / 或减轻与反刍动物中缩短的干乳期的实施相关的有害效应。这些治疗所针对的有害效应尤其是包括代谢疾病和生殖障碍。此外，本发明的兽医用组合物的施用能够在泌乳恢复时改善反刍动物的免疫力状态和 / 或肝功能。所述组合物在干乳期开始时和 / 或其期间，以单次治疗和 / 或反复治疗的方式施用于反刍动物。用于减少干乳期持续时间的兽医用组合物的联合施用不影响反刍动物在后续泌乳期间的产乳能力和 / 或乳质量。

[0011] 本发明还涉及在反刍动物中治疗和 / 或预防与缩短的干乳期的实施相关的有害效应、例如代谢疾病和 / 或生殖障碍的方法，以及在反刍动物中改善免疫力状态和 / 或肝功能的方法，所述方法包括在干乳期实施时和 / 或干乳期期间以有效治疗的方案向反刍动物施用所述兽医用组合物。

[0012] 附图简述

[0013] 图 1 ：是示出了在 12 个月的周期上奶牛的年度周期的图。

[0014] 图 2A 和 2B ：是示出了对于治疗组 C646-1 和 C646-2 来说，产犊后 60 天的乳产量的发展（2A）以及与历史产量（距先前泌乳 305 天）的相对差异（2B）的图。

[0015] 图 3 ：是示出了在已接受卡麦角林注射的奶牛组（C646-1 和 C646-2）中，在干乳期直至产犊后 90 天期间对应于催乳素受体的长形式的 mRNA 转录本的诱导的图。

[0016] 发明详述

[0017] 本发明涉及包含至少一种抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物的兽医用组合物，其在干乳期实施时和 / 或干乳期期间以单次治疗和 / 或反复治疗的方式施用，用于在反刍动物中防止和 / 或减轻与缩短的干乳期的实施有关的有害效应。

[0018] 本发明还涉及包含至少一种抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物的兽医用组合物，其在干乳期实施时和 / 或干乳期期间以单次治疗和 / 或反复治疗的方式施用，用于防止和 / 或减轻反刍动物在泌乳恢复时的代谢疾病和 / 或生殖障碍。

[0019] 当所述组合物在干乳期实施时和 / 或干乳期期间施用于反刍动物时，它们能够改善反刍动物在泌乳恢复时的免疫力状态和肝功能，但是不影响后续泌乳期间的产乳能力或乳质量。

[0020] 本发明还涉及治疗和 / 或预防反刍动物中与缩短的干乳期的实施相关的有害效应、例如代谢疾病和 / 或生殖障碍的方法，以及在反刍动物中改善免疫力状态和 / 或肝功能的方法，所述方法包括在干乳期实施时和 / 或干乳期期间以有效治疗的方案向反刍动物施用兽医用组合物。这种方法不影响反刍动物的产乳能力和 / 或乳质量。

[0021] 优选地，所述兽医用组合物在如图 1 中所示的干乳期实施时施用于反刍动物例如奶牛。

[0022] 本发明的兽医用抗催乳素组合物和方法对于畜产业者具有吸引力，因为它们的使用能够减少干乳期的持续时间，导致更长的产乳期，简化畜群管理，并且节省在泌乳恢复时的疾病治疗成本方面。

[0023] 正如在下面的实施例中所示，在干乳期实施时和 / 或干乳期期间可以对反刍动物

进行单次治疗和/或反复治疗，以便防止和/或减轻代谢疾病和生殖障碍，改善反刍动物在泌乳恢复时的免疫力状态和/或肝功能。例如，兽医用组合物可以在干乳期开始时或干乳期期间在奶牛中施用。

[0024] 常规的干乳期一般为8周。因此，根据本发明，术语“缩短的干乳期”是指减少1周或2周或3周或4周的干乳期。优选地，缩短的干乳期与常规干乳期相比减少最多4周，甚至更优选地，它减少2至4周。因此，根据本发明，常规的8周干乳期被减少至持续时间优选在4至6周之间的缩短的干乳期。

[0025] 因此，本发明的组合物的施用能够实现：

[0026] (i)防止和/或减轻代谢疾病；

[0027] (ii)防止和/或减轻生殖障碍；

[0028] (iii)改善泌乳恢复时的免疫力状态和肝功能；

[0029] (iv)新生仔畜的更好的健康；

[0030] (v)对后续泌乳期间的产乳能力和/或乳质量没有影响；

[0031] (vi)逐渐延长泌乳生产期；以及

[0032] (vii)更好地管理干乳期期间的饮食程序。

[0033] 本发明的抗催乳素化合物选自得自于黑麦麦角的多巴胺受体激动剂化合物和/或不得自于黑麦麦角衍生物的激动剂化合物。

[0034] 催乳素是具有刺激乳腺和催乳效果的垂体激素，即它激活乳腺生长和泌乳。催乳素的释放在促乳素释放素的刺激性影响和多巴胺的抑制性影响之下。多巴胺对垂体腺的抑制性作用由突触后多巴胺受体、尤其是例如D2受体所介导。

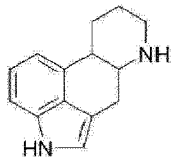
[0035] 当化合物抑制催乳素的释放时，它们被称为“抗催乳素”。多巴胺能化合物是多巴胺受体激动剂，其能够结合于尤其是存在于垂体前叶的催乳素分泌细胞上的多巴胺受体，以便抑制催乳素的分泌。

[0036] 优选地，这些多巴胺能抗催乳素化合物结合于多巴胺受体。更优选地，这些化合物特异性结合于D2多巴胺受体。多巴胺能抗催乳素化合物通过刺激下丘脑中多巴胺的释放起作用，从而引起催乳素分泌的抑制。

[0037] 催乳素激素结合于组织、尤其是乳腺、免疫系统和肝组织的细胞上存在的膜受体(催乳素受体，PRLr)。PRLr具有与激素相互作用的细胞外结构域、跨膜结构域和参与催乳素信号传播的细胞质结构域。信号由相关酪氨酸激酶的跨膜易位来传播。存在几种催乳素受体的同工型，它们都包括类似的细胞外结构域，但是在其跨膜结构域的长度上有差异。在牛物种中，具体来说已描述了长形式和短形式的受体。催乳素以相近的亲和性结合于这些不同受体，但是跨膜易位由长形式的存在和数量推动。各种催乳素受体的同工型(长形式与短形式)的共表达能够调节由催乳素造成的细胞信号。

[0038] 这些抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物可以选自得自于黑麦麦角的化合物和/或其衍生物。这些麦角灵衍生物在公共领域中是公知的，并具有下列通用结构：

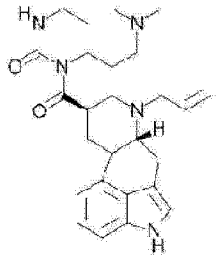
[0039]



[0040] 这些源自于黑麦麦角的抗催乳素激动剂化合物的实例包括卡麦角林、甲麦角林、麦角乙脲、溴隐亭、麦角新碱以及这些化合物的具有抗催乳素活性的所有衍生物。

[0041] 卡麦角林的化学名称为N-[3-(二甲基氨基)丙基]-N-[(乙基氨基)羰基]-6-(2-丙烯基)-8g-麦角灵-8-羧酰胺，是一种特异性针对D2多巴胺受体的抗催乳素激动剂化合物。它具体描述在专利US4,526,892中。其化学结构式如下：

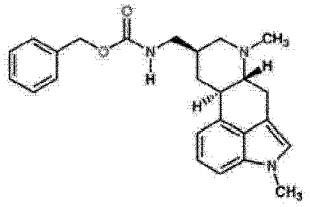
[0042]



[0043] 卡麦角林是在商品名Dostinex®和Cabaser®下销售的人类药物中的活性成分。此外，它是在商品名Galastop®下销售的用于倾向于假孕泌乳的母牛的兽医用组合物中的基本活性成分。这些基于卡麦角林的组合物Dostinex®或Galastop®都不再怀孕或妊娠期间施用。

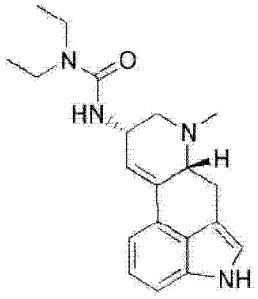
[0044] 甲麦角林是一种合成化合物，其化学名称为((6aR,9S,10aR)-4,7-二甲基-4,6,6a,7,8,9,10,10a-八氢吲哚并-[4,3-fg]喹啉-9-基)甲基氨基甲酸苯甲基酯。它是能够结合于多巴胺受体和5-HT血清素受体两者，因此能够激活多巴胺的释放和抑制催乳素分泌的抗催乳素化合物。甲麦角林具有下列化学结构式：

[0045]



[0046] 麦角乙脲，也用其化学名1,1-二乙基-3-((6aR,9S)-7-甲基-4,6,6a,7,8,9-六氢吲哚并[4,3-fg]喹啉-9-基)脲称呼，具有下列化学结构式：

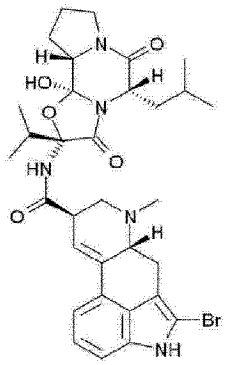
[0047]



[0048] 这是一种催乳素抑制性多巴胺能激动剂化合物。它在商品名 Arolac® 下销售，用于在人类治疗闭经和高催乳素血症。

[0049] 溴隐亭用化学名溴-2麦角隐亭和化学名麦角它曼-3',6',18-三酮、2-溴-12'-羟基-2'-(1-甲基乙基)-5'α-(2-甲基丙基)称呼。它的化学结构式如下：

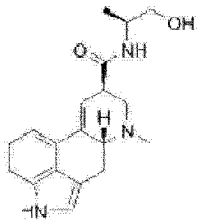
[0050]



[0051] 诸如 Parlodel® 和 Bromo-Kin® 的组合物尤其被用于治疗垂体腺肿瘤和高催乳素血症，或在妇科学中作为分娩后泌乳抑制剂，其包含治疗量的溴隐亭，所述溴隐亭是黑麦麦角衍生物和多巴胺能激动剂。

[0052] 麦角新碱，也称为麦角新碱(ergonovine)和 d-麦角酸-β-丙醇酰胺，也可以掺入到兽医用组合物中作为多巴胺能抗催乳素激动剂。它的结构式如下：

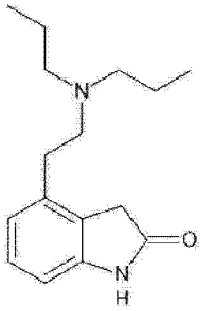
[0053]



[0054] 其他抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物也可用于本发明的组合物中，并且可以在尤其是妊娠期间施用于反刍动物。它们可以选自不得自于黑麦麦角的抗催乳素多巴胺能激动剂化合物。这些化合物的实例包括罗匹尼罗、普拉克索、罗替戈汀、喹高利特以及这些化合物的具有抗催乳素活性的所有衍生物。

[0055] 罗匹尼罗，其化学名称是 4-(2-二丙基氨基乙基)-1,3-二氢吲哚-2-酮，作为 D2 和 D3 多巴胺受体激动剂起作用。它的化学结构式如下：

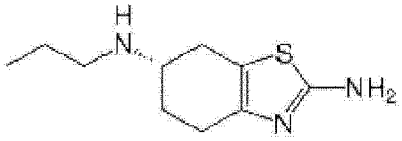
[0056]



[0057] 罗匹尼罗是在人类医学中被处方用于治疗帕金森氏症的产品 Requip® 和 Ropark® 的组合物的一部分。

[0058] 普拉克索是另一种多巴胺能激动剂，其更具体来说结合于 D2 和 D3 多巴胺受体。它的化学名称是 (6S)-N^6- 丙基 -4,5,6,7- 四氢 -1,3- 苯并噻唑 -2,6- 二胺，其结构式如下：

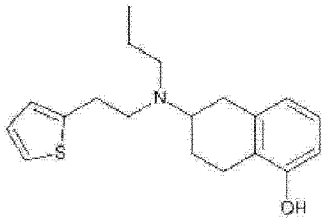
[0059]



[0060] 普拉克索在人类药物领域中是公知的，因为它以名称 Mirapex®、Mirapexin® 或 Sifrol® 销售，用于治疗帕金森氏症和腿多动综合征。

[0061] 罗替戈汀也用化学名 6-（丙基 -(2- 噻吩 -2- 基乙基）氨基）萘满 -1- 醇。其化学结构式如下：

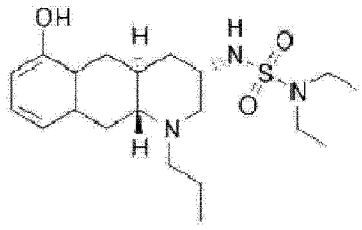
[0062]



[0063] 罗替戈汀最近被批准用于以商品名 Neupro® 以贴片形式透皮施用治疗帕金森氏症。

[0064] 喹高利特或 (3R,4aR,10aS)-3- 二乙基氨磺酰基氨基 -6- 羟基 -1- 丙基 -3,4,4a,5,10,10a- 六氢 -2H- 苯并 [g] 喹啉，也是催乳素分泌的抑制剂。它是特异性 D2 多巴胺受体激动剂。它的化学结构式如下：

[0065]



[0066] 喹高利特以商品名Norprolac®（Ferring Pharmaceuticals）销售，用于治疗巨催乳激素瘤或高催乳素血症。

[0067] 兽医用组合物可以在干乳期实施时和/或干乳期期间作为单次治疗和/或反复治疗来施用。

[0068] 有效量或治疗剂量可能随着待治疗的反刍动物和组合物的施用方式而变。剂量、也称为治疗方案，可以在下面实施例的基础上通过系统试验来确定，并且在本领域技术人员的能力范围之内。例如，本发明的有效治疗剂量在1至100μg/kg之间，或5至50μg/kg之间，并且优选地为约8至10μg/kg。

[0069] 在奶牛的情形中，可以在干乳期实施时和/或干乳期期间，例如在奶牛年度周期（图1）的前11个月后施用本发明的组合物。

[0070] 根据本发明，术语“反刍动物”是指草食性哺乳动物，例如牛、绵羊、山羊、骆驼科动物或牛科动物。本发明的组合物被施用于产乳反刍哺乳动物，优选例如奶牛和山羊。

[0071] 兽医用组合物可以按照本领域公知并且适合于每种动物的治疗的所有施用途径来施用。优选地，它们通过皮肤、口腔、乳腺内和肠胃外途径施用。更优选地，它们通过肠胃外途径，尤其是通过肌肉内或皮下注射施用。因此，它们可以采取口服、乳腺内或可注射液体溶液或悬液的形式，或者采取固体或半固体形式例如粉剂、片剂、胶囊、颗粒剂、糖衣丸剂、囊形片剂、喷剂、扁囊剂、丸剂、条剂或糊剂。

[0072] 有利的是，兽医用组合物可以单次注射或几次注射剂量施用。

[0073] 根据所使用的组合物的配方，它们还可以包含药物学中常用于制备口服、乳腺内或肠胃外施用的液体或固体制剂的成分。此外，在口服制剂的情形中，它们可以直接施用于反刍动物或与食物混合。

[0074] 此外，根据制剂类型，本发明的组合物可以包含适合质量的溶剂、助流剂、润滑剂和任何赋形剂，例如乳糖、纤维素或淀粉。硬脂酸、硬脂酸镁、L-亮氨酸或例如三山嵛酸甘油酯可以用作润滑剂。作为崩解剂，可以使用羧甲基美沙酮钠、交联羧甲基纤维素钠或交联聚乙烯吡咯烷酮。作为助流剂，可以使用纯二氧化硅或胶体二氧化硅。固体口服形式可以采取包衣覆盖的片剂的形式。

[0075] 可注射制剂通过将有效治疗量的至少一种上述抗催乳素化合物与溶剂、pH调节剂、缓冲剂、悬浮剂、增溶剂、稳定剂、等渗剂和/或防腐剂进行混合，并按照常规方法将混合物转变成皮下或肌肉内注射液来制备。作为溶剂，可以提到的是二甲基亚砜（DMSO），油性溶剂例如中链C_8-C_{10}甘油三酯，或癸酸、辛酸和甘油三酯的混合物例如以名称Mygliol®812销售的。如果需要，可以将可注射制剂按照常规方法冷冻干燥。悬浮剂的实例包括甲基纤维素、聚山梨醇酯80、羟乙基纤维素、黄原胶、羧甲基纤维素钠和聚乙氧基化失水山梨糖醇单月桂酸酯。增溶剂的实例包括聚氧乙烯硬化的蓖麻油、聚山梨醇酯80、烟酰胺、聚乙氧基化失水山梨糖醇单月桂酸酯、聚乙二醇和蓖麻油脂肪酸乙基酯。此外，稳定剂包括亚硫酸盐、偏亚硫酸钠和乙醚，而防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、山梨酸、苯甲醇、苯酚、甲酚和氯代甲酚。等渗剂的实例是甘露糖醇。在可注射溶液或悬液制备期间，确保它们与血液等渗是理想的。

[0076] 本发明还涉及用于在反刍动物中防止和/或减轻与缩短的干乳期的实施相关的

有害效应，例如代谢疾病和 / 或生殖障碍，以及用于改善反刍动物泌乳恢复时的免疫力状态和 / 或肝功能的兽医用试剂盒。本发明的试剂盒包括至少一个用于任选地无菌包装的区室，其包含有效治疗量的至少一种如上所述用于施用于反刍动物的抗催乳素多巴胺受体激动剂化合物。所述试剂盒包括能够通过皮肤、口腔、乳腺内或肠胃外途径施用组合物的机构，以及与本发明的兽医用组合物或药物的施用方式相关的说明书。

实施例

[0077] 实施例 1 ：基于卡麦角林的兽医用组合物的制备

[0078] 制备 9 升含有 500μg/ml 卡麦角林的用于可注射溶液的制剂。

[0079] 配方 ：

[0080] - 活性成分 ：4.53g 卡麦角林（滴度 100%）

[0081] - 赋形剂 ：中链甘油三酯适量至 9 升。

[0082] 步骤 1 ：将 4.53g 卡麦角林和 1.5kg 中链甘油三酯称量在容量适合的容器中，然后使用磁力搅拌器（500rpm）将混合物搅拌至少 60 分钟以完全溶解。

[0083] 步骤 2 ：在干燥容器中称量 5kg 中链甘油三酯，打开氮气流和搅拌器，然后向容器加入在步骤 1 中获得的卡麦角林浓溶液。将搅拌维持 30 分钟，然后通过添加中链甘油三酯将体积补足至 9 升的终体积。将搅拌继续维持 30 分钟，然后将溶液在加压氮气下通过 0.45 微米滤柱过滤。将滤液收集在事先用蒸汽消毒并在氮气流下干燥的适合的烧瓶中。将获得的溶液在 121℃下灭菌 15 分钟，然后分配在无菌无热原瓶中，并用橡胶塞和铝帽密封，清洗并送往压热灭菌。

[0084] 实施例 2 ：在用基于卡麦角林的兽医用组合物治疗的奶牛中对产乳没有有害影响的证实

[0085] 本研究旨在评估基于卡麦角林的兽医用组合物，在初次产子（n=17）或多次产子（n=54）的 Prim' Holstein 奶牛中，在施用期间在泌乳中和妊娠 8 个月时，在将干乳期的持续时间减少至 1 个月中的有效性。奶牛按照当前的饲养条件饲养在牛棚中。

[0086] 实验包含 3 组奶牛 ：

[0087] - 对照组（n=24 头奶牛），其在 D0（通过断奶进入干乳期开始时）和 D10（D0 后 10 天）时接受两次安慰剂施用 ；

[0088] -C646-1 组（n=23 头奶牛），其在 D0 时接受单剂基于卡麦角林的兽医用组合物 ；

[0089] -C646-2 组（n=24 头奶牛），其在 D0、然后在 D10 时接受两剂基于卡麦角林的兽医用组合物。

[0090] 基于卡麦角林的兽医用组合物是在实施例 1 中描述的可注射油性卡麦角林溶液。它通过以 5.6mg/ 奶牛或约 8μg/kg 的剂量肌肉内注射到颈部中进行施用。

[0091] 所述三组治疗的奶牛在产犊前约 45 天（D - 15）时包含在研究中，并监测下列三个时间段 ：

[0092] -D0 之前泌乳（n - 1）结束时，

[0093] -1 个月的干乳期期间 ：从断奶（D0）直至产犊（C0，对应于 D30 左右），

[0094] - 产犊（C0）后前 3 个月期间泌乳时（n）。

[0095] 三个组的有效干乳期列于下面的表 1 中 ：

[0096] 表 1

[0097]

组	有效干乳期(标准偏差)
安慰剂	31 天(5.0)
C646-1	27 天(4.8)
C646-2	29 天(5.4)

[0098] 获得每头治疗的奶牛在产犊(C0)后 3 个月的乳产量,并与先前泌乳(n - 1)期间获得的产量进行比较。

[0099] 产犊后 60 天期间的乳产量(图 2A)以及与历史产量(距前次泌乳 305 天)的相对差异(图 2B)显示,在用本申请的兽医用组合物治疗后,干乳期的持续时间对所治疗的奶牛的产乳能力没有有害影响。

[0100] 实施例 3 :基于卡麦角林的兽医用组合物在奶牛中的有效性的研究

[0101] 如实施例 2 中所述治疗的三组奶牛经历了下述检查和取样 :

[0102] - 每日普通临床监测 :

[0103] o 疾病表观(代谢、感染等);

[0104] o 所有异常征兆被标注,尤其是例如流产以及任何产犊期间的困难。动物一直被跟踪到降生,以便评估新生小牛的健康状态。

[0105] - 在 D0、D10、D20、C0 (产犊 =D30)、C10、C30 和 C90 时获取血样。

[0106] o 这些样品能够使我们通过 PCR 测定尤其是被认为是动物健康

[0107] 的标志物的催乳素受体,

[0108] - 在 C0 时进行初乳(IgG)测定

[0109] - 在 C30、C60 和 C90 时对生产的牛乳中的体细胞进行计数。

[0110] 观察到的结果显示,与安慰剂组相比,在 C646-1 和 C646-2 组中,通过增加长形式的催乳素受体的表达,明显表现出干乳期持续时间的减少。

[0111] 图 3 事实上显示了在已接受本发明的兽医用组合物的注射的奶牛组中,在干乳期期间和产犊后 10 天和 30 天时催乳素受体的长同工型的表达的诱导。

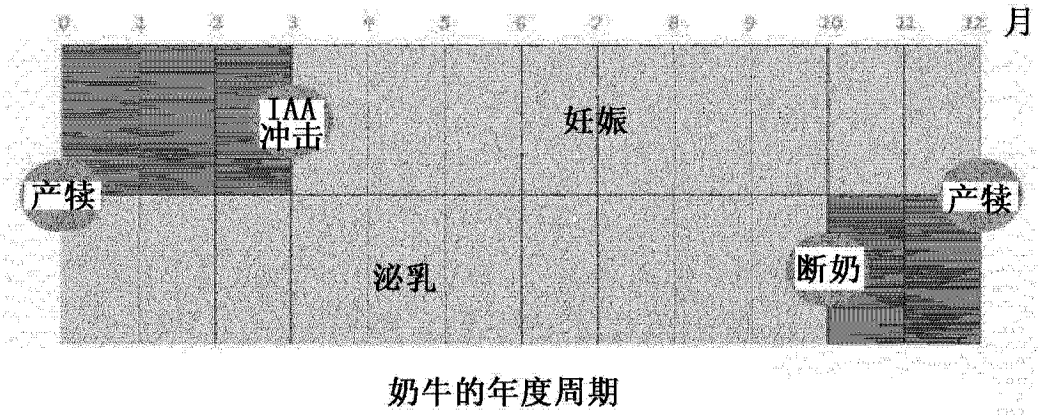
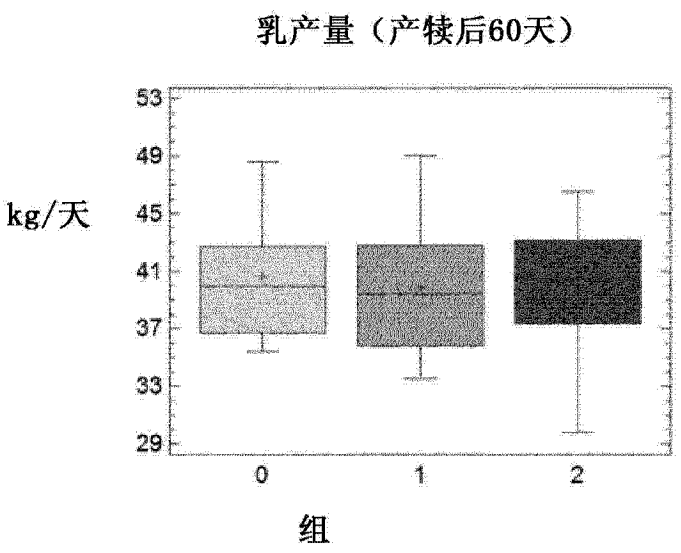


图 1

2A


乳产量（产犊后60天）
kg/天
53
49
45
41
37
33
29
0
1
2
组

2B

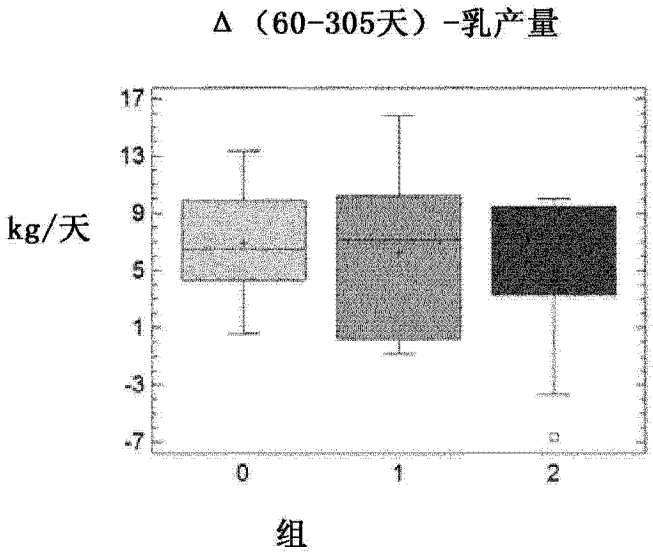

Δ（60-305天）-乳产量
kg/天
17
13
9
5
1
-3
-7
0
1
2
组

图 2

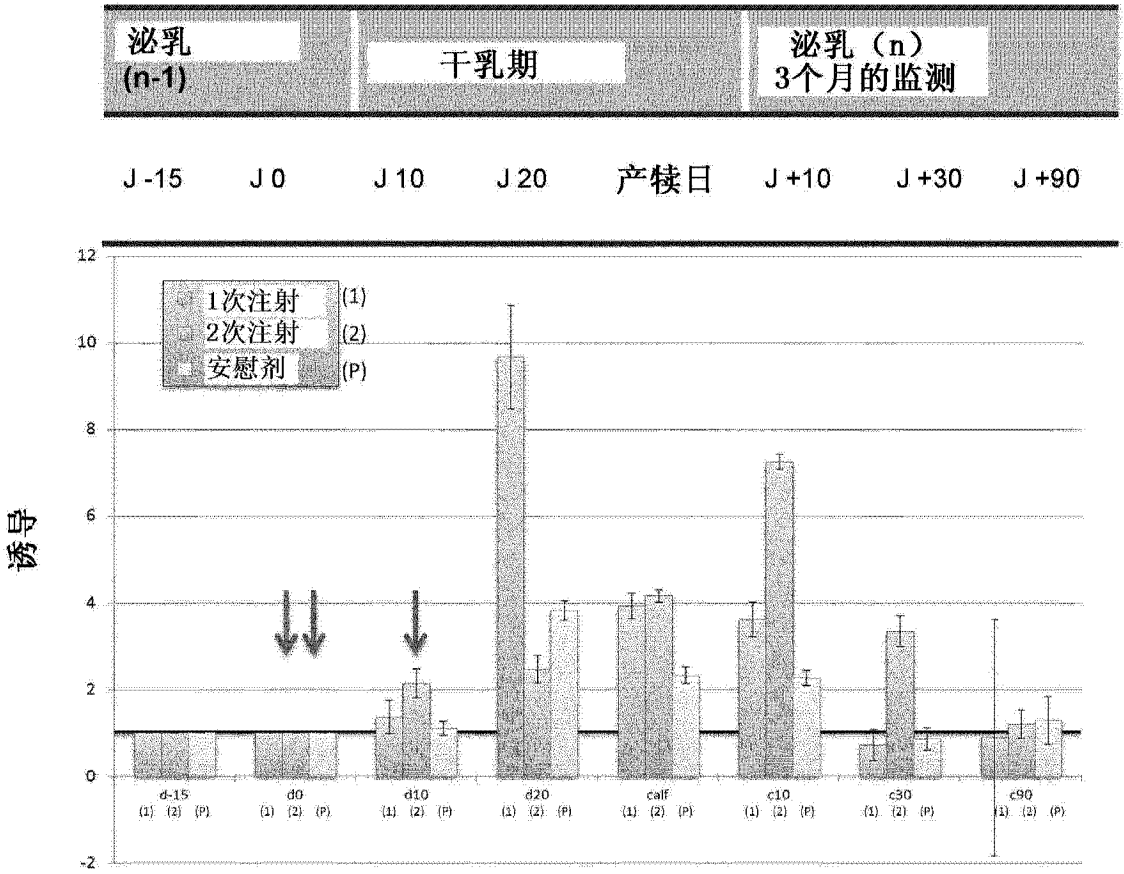

泌乳
(n-1)
干乳期
泌乳（n）
3个月的监测
J -15
J 0
J 10
J 20
产犊日
J +10
J +30
J +90
诱导
1次注射 (1)
2次注射 (2)
安慰剂 (P)
12
10
8
6
4
2
0
-2
d-15
d0
d10
d20
calf
c10
c30
c90

图 3