



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103997886 B

(45)授权公告日 2017.07.18

(21)申请号 201280037382.4

(22)申请日 2012.05.25

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 103997886 A

(43)申请公布日 2014.08.20

(30)优先权数据
61/491,053 2011.05.27 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.01.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/039707 2012.05.25

(87)PCT国际申请的公布数据
W02012/166655 EN 2012.12.06

(73)专利权人 祖雷克斯农业医药有限公司

地址 美国威斯康星州

(72)发明人 C·J·德拉姆 M·C·帕夫拉克
R·D·史蒂文森

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

代理人 安琪 张晓威

(51)Int.Cl.
A61K 31/045(2006.01)
A01N 31/00(2006.01)

审查员 杨丽华

权利要求书3页 说明书19页

(54)发明名称

处理哺乳动物乳头的方法及相关组合物

(57)摘要

通过向哺乳动物乳头施用局部用组合物来处理或保护所述乳头的方法,其中所述局部用组合物包含(a)柠檬酸盐;(b)亚甲蓝;以及(c)对羟基苯甲酸烷基酯;以及相关方法和组合物。

1. (a) 柠檬酸盐; (b) 亚甲蓝; 以及 (c) 对羟基苯甲酸烷基酯在制备局部用组合物中的用途, 所述局部用组合物用于针对乳腺炎进行处理或保护, 或者用于针对乳头皮肤的干燥、龟裂或皲裂进行保护。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物包含:

(a) 0.1-2M的柠檬酸盐;

(b) 0.1-3mM的亚甲蓝; 以及

(c) 10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯。

3. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物包含0.005-0.5wt. %的亚甲蓝。

4. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物包含对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯或二者。

5. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物还包含醇。

6. 如权利要求5所述的用途, 其中所述醇为异丙醇。

7. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物不包含醇或包含0.1%至20%的醇。

8. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物还包含润肤剂。

9. 如权利要求8所述的用途, 其中所述局部用组合物包含5wt. %或更多的润肤剂。

10. 如权利要求9所述的用途, 其中所述润肤剂包含甘油、丙二醇、羊毛脂、或它们的组合。

11. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物还包含表面活性剂、增稠剂或成膜剂。

12. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物还包含阳极电解液或抗坏血酸。

13. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物还包含浓度为0.3M或更高的钠离子。

14. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物的pH为4-8。

15. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物在25℃和1大气压下测得的运动粘度为50cP或更高。

16. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物为液体、凝胶或泡沫。

17. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物提供抗微生物效力。

18. 如权利要求1至17中任一项所述的用途, 其中所述局部用组合物用于在食品动物中针对乳腺炎进行处理或保护, 或者针对乳头皮肤的干燥、龟裂或皲裂进行保护。

19. 如权利要求1所述的用途, 其中所述局部用组合物为包含以下的双组分局部用组合物:

(a) 包含聚合物的第一局部用组合物; 以及

(b) 包含所述聚合物的交联剂的第二局部用组合物;

由此所述双组分局部用组合物在所述乳头上提供保护涂层, 并且其中

(i) 所述第一或第二局部用组合物或二者包含柠檬酸盐,

(ii) 所述第一或第二局部用组合物或二者包含亚甲蓝, 并且

(iii) 所述第一或第二局部用组合物或二者包含对羟基苯甲酸烷基酯。

20. 如权利要求19所述的用途, 其中所述第一或第二局部用组合物或二者包含醇。

21. 如权利要求19所述的用途,其中所述聚合物为聚乙烯醇。
22. 如权利要求21所述的用途,其中所述交联剂为硼酸盐。
23. 如权利要求19所述的用途,其中所述第一局部用组合物包含柠檬酸盐、亚甲蓝和聚乙烯醇,并且所述第二局部用组合物包含柠檬酸盐、对羟基苯甲酸烷基酯、醇和硼砂。
24. 如权利要求1所述的用途,其中所述局部用组合物包含:
 - (a) 0.1-2M的柠檬酸盐;
 - (b) 0.1-3mM的亚甲蓝;
 - (c) 10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;
 - (d) 0.1%至20%的醇;以及
 - (e) 5wt.%或更多的润肤剂。
25. 如权利要求24所述的用途,其中所述组合物包含0.005-0.05wt.%的亚甲蓝。
26. 如权利要求24所述的用途,其中所述润肤剂包含甘油、丙二醇、羊毛脂、或它们的组合。
27. 如权利要求24所述的用途,其中所述局部用组合物还包含浓度为0.3M或更高的钠离子。
28. 如权利要求24所述的用途,其中所述局部用组合物的pH为6-8。
29. 如权利要求24所述的用途,其中所述局部用组合物还包含表面活性剂、增稠剂、胶凝剂或成膜剂。
30. 如权利要求24所述的用途,其中所述局部用组合物的粘度为50cP或更高。
31. 如权利要求24所述的用途,其中所述局部用组合物为液体、凝胶或泡沫。
32. 如权利要求1所述的用途,其中所述局部用组合物包含:
 - (a) 0.1-2M的柠檬酸盐;
 - (b) 0.1-3mM的亚甲蓝;
 - (c) 10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;
 - (d) 20%至80%的醇;以及
 - (e) 胶凝剂。
33. 如权利要求1所述的用途,其中所述局部用组合物包含:
 - (a) 柠檬酸盐;
 - (b) 0.1-3mM的亚甲蓝;以及
 - (c) 5-50wt.%的聚合物。
34. 如权利要求32或33所述的用途,其中所述组合物包含0.005-0.05wt.%的亚甲蓝。
35. 如权利要求1所述的用途,其中所述局部用组合物包含:
 - (a) 0.1-2M的柠檬酸盐;
 - (b) 20-100mM的对羟基苯甲酸烷基酯;
 - (c) 1-10%的醇;以及
 - (d) 交联剂。
36. 如权利要求24-33或35中任一项所述的用途,其中所述局部用组合物用于处理或保护食品动物的乳头。
37. 如权利要求1-17、19-31、24-33或35中任一项所述的用途,其中所述局部用组合物

用于通过针对乳腺炎的处理或保护来处理或保护食品动物的乳头。

38. 如权利要求1-17、19-31、24-33或35中任一项所述的用途,其中所述局部用组合物用于通过针对食品动物的乳头的皮肤的干燥、龟裂或皴裂的保护来处理或保护所述乳头。

39. 第一局部用组合物和第二局部用组合物在制备药盒中的用途,所述药盒用于针对乳腺炎进行处理或保护,或者用于针对乳头皮肤的干燥、龟裂或皴裂进行保护,其中所述第一局部用组合物包含(a)柠檬酸盐;(b) 0.1-3mM的亚甲蓝;以及(c) 5-50wt.%的聚合物;所述第二局部用组合物包含(a) 0.1-2M的柠檬酸盐;(b) 20-100mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(c) 1-10%的醇;以及(d)交联剂。

40. 如权利要求39所述的用途,其中所述第一局部用组合物包含0.005-0.05wt.%的亚甲蓝。

41. 如权利要求39所述的用途,其中所述药盒用于处理或保护食品动物的乳头。

42. 如权利要求39所述的用途,其中所述药盒用于通过针对乳腺炎的处理或保护来处理或保护食品动物的乳头。

43. 如权利要求39所述的用途,其中所述药盒用于通过针对食品动物的乳头的皮肤的干燥、龟裂或皴裂的保护来处理或保护所述乳头。

处理哺乳动物乳头的方法及相关组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2011年5月27日提交的第61/491,053号美国临时专利申请的优先权。

[0003] 发明背景

[0004] 产奶动物(dairy animal)的乳头和乳房的护理和保养对于防止对动物的损害和奶农的经济损失而言是必要的。产奶动物的乳头感染例如乳腺炎可导致兽医成本增加、奶产量损失,并且在严重情况中导致产奶动物死亡。护理产奶动物的乳头和乳房的一个方法是向所述乳头和乳房施用局部用组合物以维持皮肤品质并降低感染。然而,仍需要新的有效的用于该目的的方法和组合物。

[0005] 发明概述

[0006] 本文提供了处理或保护哺乳动物乳头的方法。根据一方面,所述方法包括向所述乳头施用局部用组合物,其中所述局部用组合物包括(a)柠檬酸盐;(b)亚甲蓝;以及(c)对羟基苯甲酸烷基酯。根据另一方面,所述方法包括向乳头施用包含聚合物的第一局部用组合物以及包含所述聚合物的交联剂的第二局部用组合物,由此在所述乳头上提供保护层。所述第一或第二组合物或二者任选地还包含柠檬酸盐、亚甲蓝或对羟基苯甲酸烷基酯。

[0007] 本文还提供了用于上述方法或用于其他目的的组合物。一方面,提供了组合物,其包含(a)约0.1-2M的柠檬酸盐;(b)约0.1-1mM的亚甲蓝;(c)约10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(d)约0.1%至约20%的醇;以及(e)约5wt%或更多的润肤剂(emollient)。另一方面,提供了组合物,其包含(a)约0.1-2M的柠檬酸盐;(b)约0.1-1mM的亚甲蓝;(c)约10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(d)约20%至约80%的醇;以及(e)胶凝剂。此外,还提供了意图依次或同时使用的组合物,并且本文也提供了包含单独的组合物的药盒。一种这样的组合物包含(a)柠檬酸盐;(b)约0.1-1mM的亚甲蓝;以及(c)约5-50wt%的聚合物。另一种这样的组合物包含(a)约0.1-2M的柠檬酸盐;(b)约20-100mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(c)约1-10%的醇;以及(d)交联剂。

[0008] 发明详述

[0009] 本文提供了通过向哺乳动物乳头施用特定的局部用组合物来处理或保护所述乳头的方法。“处理或保护”表示组合物一旦施用则维持或改善乳头的健康或状况,特别是乳头皮肤的健康或状况。不旨在将本文所述的主题的范围局限于任何特定理论或作用机制,确信本文所述的局部用组合物处理或保护乳头的皮肤,这归因于所述组合物的抗微生物性质、所述组合物的形成润肤或保护屏障的性质、或它们的一些组合。

[0010] 根据一方面,所述局部用组合物包含(a)柠檬酸盐;(b)亚甲蓝;以及(c)对羟基苯甲酸烷基酯。可以使用任意适合量的柠檬酸盐、亚甲蓝和对羟基苯甲酸烷基酯,条件是所述组合物保持处理或保护哺乳动物乳头的的能力。不希望受限于任何特定理论,确信柠檬酸盐、亚甲蓝和羟基苯甲酸烷基酯共同提供增强的抗微生物效力。因此,在一个实施方案中,所述组合物包含浓度足以发挥抗微生物效力的这些组分中的每一组分。

[0011] 亚甲蓝提供了用作显色指示剂的额外优点,使得能够易于直观确认已将所述组合

物施用于皮肤表面。此外,尽管产奶动物乳头的染色已得到关注,但令人惊讶地发现,随着亚甲蓝溶液与细菌接触,并且可能随着当需要再施用所述组合物时细菌水平上升,亚甲蓝溶液的颜色被氧化。因此,本发明的一些实施方案提供了减少或消除乳头染色的方法和组合物,并在某些情况下提供了需要再处理的指示剂。

[0012] 在一些实施方案中,所述组合物包含约0.1M或更多的柠檬酸盐,例如约0.2M或更多或者约0.3M或更多的柠檬酸盐。通常,所述组合物会包含不超过约2M的柠檬酸盐,例如约1M或更少、约0.8M或更少或者约0.5M或更少的柠檬酸盐。前述量还可以范围形式表达(例如,约0.1-2M、约0.1-1M、约0.1-0.8M、约0.2-2M、约0.2-1M、约0.2-0.8M、约0.3-2M、约0.3-1M、约0.3-0.8M、约0.3-0.5M)。其任意子范围也包括在本发明中。

[0013] 可以由任意合适的源来提供柠檬酸盐。例如,可以由柠檬酸、柠檬酸盐(citrate salt)或其组合来提供柠檬酸盐。合适的盐包括柠檬酸钠盐、柠檬酸钾盐、柠檬酸镁盐或柠檬酸钙盐。此外,柠檬酸盐可为单价盐或多价盐,例如一价、二价或三价柠檬酸盐(例如,柠檬酸单钠、柠檬酸二钠或柠檬酸三钠,或者柠檬酸单钾、柠檬酸二钾或柠檬酸三钾)。

[0014] 在一些实施方案中,所述组合物包含浓度为约0.1M或更多,例如0.2M或更多或者甚至0.3M或更多的钠离子、钾离子、镁离子或钙离子。可以由任意合适的源(例如通过将柠檬酸钠盐、柠檬酸钾盐、柠檬酸镁盐或柠檬酸钙盐用作柠檬酸盐的源)来提供钠离子、钾离子、镁离子或钙离子。

[0015] 在一些实施方案中,所述组合物包含约0.1mM或更多的亚甲蓝,例如约0.2mM或更多的亚甲蓝、0.5mM或更多的亚甲蓝,或者甚至0.8mM或更多的亚甲蓝。通常,所述组合物会包含不超过约30mM、或不超过约10mM,例如约3mM或更少、约2mM或更少、约1mM或更少、约0.8mM以、约0.7mM或更少或者约0.6mM或更少(例如约0.5mM或更少)的亚甲蓝。前述量还可以范围形式表达(例如约0.1-3mM、约0.1-2mM、约0.1-1mM、约0.1-0.8mM、约0.1-0.7mM、约0.2-1mM、约0.2-0.8mM、约0.2-0.7mM)。其任意子范围也包括在本发明中。

[0016] 在一些实施方案中,所述组合物包含约10mM或更多的对羟基苯甲酸烷基酯,例如约12mM或更多或者约15mM或更多。通常,所述组合物会包含不超过约60mM或不超过约50mM的对羟基苯甲酸烷基酯,例如约40mM或更少、约30mM或更少或者约25mM或更少的对羟基苯甲酸烷基酯。前述量还可以范围形式表达(例如,约10-50mM、约10-30mM、约10-25mM、约12-50mM、约12-40mM、约12-30mM、约12-25mM、约15-50mM、约15-40mM、约15-30mM、约15-25mM)。其任意子范围也包括在本发明中。

[0017] 可以使用任意对羟基苯甲酸烷基酯。合适的对羟基苯甲酸烷基酯包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯。所述组合物可以包含多于一种类型的对羟基苯甲酸烷基酯。例如,所述组合物可以包含对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸乙酯。当使用多于一种类型的对羟基苯甲酸烷基酯时,合并量通常在上述范围内。在一个实施方案中,所述组合物包含约1-3mM(例如,约1-2mM)的对羟基苯甲酸丙酯,并且对羟基苯甲酸烷基酯的其余部分是对羟基苯甲酸甲酯。可以由任意源,例如对羟基苯甲酸烷基酯或烷基对羟基苯甲酸(alkyl para-hydroxybenzoic acid)的盐来提供对羟基苯甲酸烷基酯。

[0018] 所述组合物还可包含润肤剂。合适的润肤剂包括例如甘油、丙二醇、羊毛脂、丙三醇、山梨醇、D-泛醇、聚乙二醇(PEG)(例如重均分子量200-10,000)及其酯、酰基乳酸酯

(acyl lactylate)、聚季铵盐 (polyquaternium) 化合物 (聚季铵盐-7)、椰油酸 (cocoate) / 月桂酸甘油酯、椰油酸 PEG-7 甘油酯、硬脂酸、水解丝肽、丝蛋白、芦荟凝胶、瓜儿胶羟丙基三甲基氯化铵 (guar hydroxypropyltrimonium chloride)、烷基聚葡萄糖苷 / 月桂酸甘油酯 (alkyl poly glucoside/glyceryl luate)、牛油树脂 (shea butter) 和可可脂 (coco butter)。在一些实施方案中,润肤剂通常以约 5wt.% 或更多、例如约 10wt.% 或更多或者甚至约 15wt.% 或更多的量存在。在一些实施方案中,所述组合物通常会具有不超过约 30wt.%, 例如约 25wt.% 或更少或者甚至 20wt.% 或更少的润滑剂。在其他实施方案 (例如寒冷季节配方 (cold-weather formulation)) 中,可以使用更多的润滑剂,例如约 30wt.% 或更多、约 40wt.% 或更多、约 50wt.% 或更多、或者甚至约 60wt.% 或更多、或者甚至约 75wt.% 或更多的润滑剂。

[0019] 所述组合物还可包含成屏障剂 (barrier-forming agent) 或成膜剂或者增稠剂。合适的成屏障剂和成膜剂以及增稠剂包括例如聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、聚乙烯醇 (PVA 或 PVOH)、聚丙烯酸酯、聚丙烯酰胺、乳胶、卡波姆、甘油、半纤维素 (例如,阿糖基木聚糖 (arabinoxylane) 和葡甘露聚糖 (glucomannane)); 植物胶物质 (例如瓜儿胶、阿拉伯胶和 johannistree 树胶); 纤维素及其衍生物 (例如,甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、羧乙基纤维素、甲基羟丙基纤维素 (HPMC) 以及乙基羟乙基纤维素); 淀粉及淀粉衍生物 (例如,羟乙基淀粉或交联淀粉); 微生物及海藻多糖 (例如,黄原胶、藻酸钠、角叉菜胶、凝胶多糖、支链淀粉和葡聚糖)、硫酸葡聚糖、乳清、胶原、果胶、明胶、壳聚糖、壳聚糖衍生物以及聚磺酸及其盐。粘度和改性粘土 (例如膨润土或锂皂石 (laponite))、胶体氧化铝或二氧化硅、以及脂肪酸或其盐也可用作增稠剂、共增稠剂 (co-thickener) 或者用于增稠剂的稳定剂。用量取决于所选的具体物质。通常,当使用时,成屏障剂或成膜剂或者增稠剂会以约 0.1wt.% 或更多,例如约 1wt.% 或更多、2wt.% 或更多、5wt.% 或更多或者甚至 10wt.% 或更多的量存在。通常,所述成屏障剂或成膜剂或者增稠剂占所述组合物的不超过约 40wt.%, 例如约 35wt.% 或更少、30wt.% 或更少或者 25wt.% 或更少。

[0020] 在一些实施方案中,所述组合物包含至少一种胶凝剂,其可以与成屏障剂或成膜剂或者增稠剂相同或不同。胶凝剂包括上述关于能够产生凝胶的成屏障剂或成膜剂和增稠剂所述的那些物质中的任一种。以非限制性实例的形式,所述胶凝剂可以是聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、聚乙烯醇 (PVA 或 PVOH)、聚丙烯酸酯 (例如,交联聚丙烯酸聚合物,如 Lubrizol Corp. 的 CARBOPOL® 产品,或者 Seppic, Inc. 的丙烯酸酯共聚物 Capigel 98™)、聚丙烯酰胺、乳胶、卡波姆、纤维素或其衍生物 (例如,甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、羧乙基纤维素、甲基羟丙基纤维素 (HPMC) 以及乙基羟乙基纤维素)。用量取决于所选的具体物质。通常,当使用时,所述胶凝剂通常会以约 0.1wt% 或更多,例如约 1wt% 或更多、约 2wt% 或更多或者甚至约 5wt% 或更多的量存在。通常,所述胶凝剂占所述组合物的不超过约 50wt.% 或不超过约 40wt.%, 例如约 35wt.% 或更少或者 30wt.% 或更少。以进一步例示方式,在一些应用中,所述组合物会包含约 1-50wt.% 或约 1-20wt.%, 例如约 2-10wt.% 或者甚至约 2-5wt.% 的胶凝剂。在其他应用中,所述组合物可包含约 10-30wt.% 或 20-30wt.% 的胶凝剂。

[0021] 所述组合物还可包含表面活性剂或发泡剂。表面活性剂包括阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、非离子表面活性剂、两性离子表面活性剂 (zwitterionic surfactant)

和两性表面活性剂(amphoteric surfactant),并且可以是高发泡型、低发泡型、中发泡型或非发泡型表面活性剂。阴离子表面活性剂包括例如直链烷基苯磺酸、直链烷基苯磺酸酯、烷基磺基甲酯(alkyl sulfomethyl ester)、 α -烯烴磺酸酯、醇醚硫酸酯(alcohol ether sulfate)、硫酸烷基酯、烷基磺基-和二烷基磺基琥珀酸酯、以及它们的盐。非离子表面活性剂包括例如烷基聚葡萄糖苷、烷基乙氧基化醇、烷基丙氧基化醇、乙氧基化丙氧基化醇、烷基酚乙氧基化物、脱水山梨糖醇、脱水山梨糖醇酯、烷醇酰胺(alkanol amide)以及聚乙氧基化聚氧丙烯嵌段共聚物(泊洛沙姆)。两性表面活性剂包括例如烷基甜菜碱和烷基两性乙酸盐(alkyl amphotacetate)(例如,椰油酰胺丙基甜菜碱、椰油两性乙酸钠(sodium cocoamphoacetate)、月桂酸两性乙酸钠(sodium lauroamphoacetate)和椰油两性二乙酸钠(sodium cocoamphodiacetate))。

[0022] 所述局部用组合物的主要载体通常为水。通常,所述组合物会包含约15wt.%或更多、约30wt.%或更多或者约40wt.%或更多,例如约60wt.%或更多或者甚至70wt.%或更多(例如80wt.%或更多)的量的水。

[0023] 所述组合物还可包含任意适合量的醇。可以使用任意醇,包括甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇(IPA)等。根据一些实施方案,所述组合物包含较低醇浓度,例如约0.1wt.%至约20wt.%的醇,例如约1wt.%至约15wt.%、或者甚至约5wt.%至约10wt.%的醇。与润肤剂组合使用的低醇水平被认为对处理或保护产奶季节的哺乳动物乳头是特别有用的。当使用低醇含量时,包含(a)约0.2-1M的柠檬酸盐;(b)约0.01-2mM或约0.1-1mM的亚甲蓝;(c)约10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(d)约0.1%至约20%的醇;以及(e)约5wt.%或更多的润肤剂的组合物被认为是特别有利的。

[0024] 根据其他实施方案,可以使用较高的醇水平,例如约20wt.%或更高、约25wt.%或更高、约30wt.%或更高、约35wt.%或更高、约40wt.%或更高或者甚至约50wt.%或更高的醇水平。通常,使用不超过约80%的醇,例如约70%或更少的醇。当例如使用胶凝剂以提供适用作干燥季节中产奶哺乳动物的乳头密封剂(teat sealant)的制剂时,这样的实施方案被认为是有用的。当使用较高醇水平时,包含(a)约0.2-1M的柠檬酸盐;(b)约0.01-2mM或约0.1-1mM的亚甲蓝;(c)约10-50mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(d)约20%至约80%的醇;以及(e)胶凝剂例如聚丙烯酸或丙烯酸酯共聚物胶凝剂的组合物被认为是特别有利的。

[0025] 根据所述方法的另一方面,所述组合物可配制成二元(two-part)组合物。所述方法包括向乳头施用包含聚合物的第一局部用组合物以及包含所述聚合物的交联剂的第二局部用组合物。当向乳头施用第一和第二组合物二者时,所述聚合物和所述交联剂结合以形成膜或凝胶,由此在所述乳头上提供保护涂层。二元制剂被认为特别有效地用作在干燥季节中于产奶动物乳头上使用的乳头密封剂。

[0026] 在二元制剂中,所述第一或第二组合物或二者任选地还包含上述量的柠檬酸盐、亚甲蓝或对羟基苯甲酸烷基酯。所述第一或第二组合物还可包含本文所述的任意其他组分。以进一步例示方式,所述第一组合物可包含柠檬酸盐、亚甲蓝和聚合物,并且所述第二组合物可包含柠檬酸盐、对羟基苯甲酸烷基酯、交联剂,并任选地包含醇。所述第一和第二组合物可同时使用或以任意顺序依次使用。当依次使用时,应在防止首先施用的组合物在施用第二施用的组合物之前干燥的时间范围(time frame)内施用这两种组合物。换言之,当施用第二组合物时,首先施用的组合物应仍为湿润的,从而促进所述交联剂与聚合物的

相互作用以及凝胶的形成。

[0027] 所选的具体聚合物和交联剂取决于所述组合物的意欲最终用途以及所得交联凝胶的期望性质。以例示方式,所述聚合物可为PVA,并且所述交联剂可为硼酸盐,例如硼酸钠(硼砂)。其他合适的聚合物和交联剂包括聚乙酸乙烯酯、其他乙烯基单体和聚合物、N-烷基吡咯烷酮、聚酯邻苯二甲酸酯、聚酯癸二酸酯(polyester sebacat)、偏苯三酸三辛酯、以及其他已知用作增塑剂的化学物质。

[0028] 当以二元制剂的形式使用时,被认为特别有效的一种组合物包含(a)柠檬酸盐;(b)约0.01-2mM或约0.1-1mM的亚甲蓝;以及(c)约5-50wt.%的水溶性聚合物。有效的互补(complimentary)组合物包含(a)约0.2-1M的柠檬酸盐;(b)约20-100mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(c)约1-10%的醇;以及(d)交联剂。尽管所述组合物旨在同时或依次地一起使用,但它们应在使用前单独生产和贮存(例如,在分开的容器中,或在单个容器的分开的室中)。因此,除了所述方法和单独的组合物外,本文还提供了药盒,其包含(1)包含(a)柠檬酸盐;(b)约0.01-2mM或约0.1-1mM的亚甲蓝;和(c)约5-50wt.%的聚合物,例如约10-40wt%或20-30wt.%聚合物(例如PVA)的第一组合物;以及(2)包含(a)约0.2-1M的柠檬酸盐;(b)约20-100mM的对羟基苯甲酸烷基酯;(c)约1-10%的醇;和(d)足以实现期望凝胶稠度的量的交联剂(例如,任意量(例如约1-5wt.%)的硼酸盐或硼酸钠)。

[0029] 本文所述的组合物可具有任意合适的pH。期望地,所述组合物具有对哺乳动物皮肤特别是哺乳动物乳头的皮肤不引起刺激或损害的pH。因此,所述组合物通常具有中性pH(例如,约4-8、约5-8、或约6-7)。可以通过任意合适的方法来调节pH。例如,可以调节作为柠檬酸根离子源的柠檬酸盐与柠檬酸的比,从而提供期望的pH。或者,或另外地,可以使用pH调节剂和/或缓冲剂以获得期望的pH。

[0030] 本文所述的组合物可以配制成液体、泡沫或凝胶形式,并且以任意方式局部施用。例如,可以通过将哺乳动物乳头浸入所述组合物中,或通过所述组合物擦拭、涂刷或喷射到乳头皮肤上,从而施用所述组合物。所述组合物特别是液体组合物可以具有任意合适的粘度。然而,在一些实例中,可以期望使用较稠的组合物以便于所述组合物在乳头皮肤上保留较长时间而不滴落。因此,可以配制组合物以使其具有较高的粘度,例如约50cP或更高、约100cP或更高、约200cP或更高、约500cP或更高、约1000cP或更高、约2500cP或更高、或者甚至约5000cP或更高的粘度。所述组合物的粘度通常小于约10,000cP。粘度是指在标准温度和压力(25℃和1大气压)下测量的运动粘度。

[0031] 在优选实施方案中,当将本文所述的组合物施用于哺乳动物皮肤特别是产奶动物乳头的皮肤时,其提供了抗微生物效力。如前所述,确信该效力主要是由柠檬酸盐、亚甲蓝和对羟基苯甲酸烷基酯以及任选存在的醇的组合作用引起的。所述组合物还可包含其他抗菌剂或抗微生物剂,特别是局部用抗菌剂或抗微生物剂,例如含碘的防腐剂(例如,碘或碘附);氯系防腐剂(例如次氯酸盐(例如次氯酸钠;阳极电解液));防腐植物油;酚;季铵化合物;防腐表面活性剂;二双胍类(bisbiguanide)(例如,氯己定);萜烯;碳酸氢钠;硫酸盐;胍盐;释放甲醛的化合物;抗坏血酸;以及过酸/过氧化物。

[0032] 尽管本文所述的组合物可以与其他抗菌组分或防腐组分一起配制,但至少一些本文所述组合物的优势之一在于不需要这样的其他抗菌剂或防腐剂。因此,在其他实施方案中,本文所述的组合物可基本不含(例如,包含少于抗微生物有效量)或完全不含一种或多

种常用局部用抗菌剂或防腐剂,例如上述的那些。或者,所述组合物可基本不含或完全不含除柠檬酸盐、亚甲蓝、对羟基苯甲酸烷基酯和醇之外的任何防腐剂或抗微生物剂。

[0033] 可以在任意合适的容器中提供本文所述的组合物。在一个实施方案中,所述容器是适于向产奶动物乳头的皮肤施用所述组合物的涂药器。这样的涂药器可包括例如杯部分,所述杯部分的尺寸和形状使得能够将乳头插入杯中并接触所述局部用组合物。当使用二元组合物时,所述涂药器可任选地包括两个杯部分:含有第一组合物的第一杯部分,以及含有第二组合物的第二杯部分。或者,可以使用具有两个分开的储液器的单个杯部分,其中每一储液器含有所述两种局部用组合物之一,并且每一储液器与杯部分流体连通以使所述组合物可以同时或依次被递送至所述杯部分。

[0034] 本文所述的方法和组合物对于任意类型的哺乳动物特别是食品哺乳动物 (food-producing mammal) 例如产奶动物是有用的。本文所述的方法和组合物可特别用于处理或保护易于受乳头感染如乳腺炎影响的食用哺乳动物的乳头,由此可特别用于处理或保护奶牛的乳头。

[0035] 没有任何限制,上述任意组合物可用于处理或保护哺乳动物乳头的方法。此外,在处理或保护哺乳动物乳头的方法的情形中所述的每一前述组合物被认为是本发明的单独方面。尽管已在处理或保护哺乳动物乳头的方法的情形中描述了这些组合物,但它们不限于任何特定意欲用途,并且在农业生产或乳制品业以及其他情形中具有其他实际应用。例如,它们可以用作一般抗微生物组合物、皮肤和伤口清洁组合物、形成保护屏障膜的组合物以及保湿组合物,特别用于人类和动物的皮肤。

[0036] 以下实施例进一步例示了本发明,但当然不应解释为以任何方式限制本发明的范围。

[0037] 实施例1

[0038] 该实施例证明了本发明组合物的抗微生物性质。

[0039] 使用表1中确定的组分来制备8种组合物(组合物1至8)。以六种不同的浓度体外测试每一组合物以测定针对四种菌株的抗微生物效力:甲氧西林敏感性金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) (MSSA)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 以及两种大肠杆菌 (*E.coli.*) 菌株。一式双份地进行测试,并且按照临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 的参考文献M-100所示的操作来进行。在表2-9中提供结果,其中最低抑制浓度 (MIC) 是抑制微生物可见生长所需的浓度,并且最低杀菌浓度 (MBC) 是杀灭微生物所需的浓度。结果表明受试组合物具有显著的抗微生物效力。

[0040] 表1

[0041]

组分	组合物编号							
	1	2	3	4	5	6	7	8
柠檬酸三钠二水合物, 颗粒, USP	10%	10%	10%	20%	10%	20%	10%	20%
无水柠檬酸, 粉末, USP	0.11%	0.15%	0.14%	0.24%	0.14%	0.17%	0.13%	0.26%
亚甲蓝三水合物 USP	0.02%	0.01%	0.01%	0.01%	0.02%	0.01%	0.02%	0.01%
对羟基苯甲酸甲酯 NF	0.2%	0.3%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
对羟基苯甲酸丙酯 NF	0.02%	0.03%	0.02%	0.02%	0.02%	0.02%	0.02%	0.02%
异丙醇	5%	5%	10%	5%	--	--	5%	5%
黄原胶	--	--	--	--	--	--	--	0.45%
PVP K60 溶液	--	--	--	--	--	--	1%	--
甘油	3%	3%	3%	3%	3%	3%	10%	8%
丙二醇	2%	2%	2%	2%	2%	2%	3.8%	2%
水	79.65%	79.51%	74.63%	69.53%	84.62%	74.60%	69.83%	64.07%
pH	6.5-7	6.4-6.8	6.5-6.9	6.5-6.8	6.4-6.7	6.5-6.9	6.5-6.8	6.5-6.7

[0042] *所有量以重量百分比形式表示。

[0043] 表2

[0044]

#	组合物 1 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)									
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
A	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A				*	*	*	*	MSSA	1/32	1/8
B				*	*	*	*	MSSA		
C				*	*	*	*	MRSA	1/32	1/8
D				*	*	*	*	MRSA		
E		*	*	*	*	*	*	EC	1/8	1/8
F		*	*	*	*	*	*	EC		
G		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	1/8
H		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0045] 表3

[0046]

#	组合物 2 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)							有机体 MIC MBC		
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A		*	*	*	*	*	*	MSSA	1/8	<1/4
B		*	*	*	*	*	*	MSSA		
C		*	*	*	*	*	*	MRSA	1/8	<1/4
D		*	*	*	*	*	*	MRSA		
E		*	*	*	*	*	*	EC	1/8	<1/4
F		*	*	*	*	*	*	EC		
G		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	<1/4
H		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0047] 表4

[0048]

#	组合物 3 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)							有机体 MIC MBC		
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A			*	*	*	*	*	MSSA	1/16	1/8
B			*	*	*	*	*	MSSA		
C			*	*	*	*	*	MRSA	1/16	<1/4
D			*	*	*	*	*	MRSA		
E		*	*	*	*	*	*	EC	1/8	<1/4
F		*	*	*	*	*	*	EC		
G		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	<1/4
H		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0049] 表5

[0050]

#	组合物 4 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)							有机体 MIC MBC		
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A					*	*	*	MSSA	1/64	1/16
B					*	*	*	MSSA		
C					*	*	*	MRSA	1/64	1/16
D					*	*	*	MRSA		
E		*	*	*	*	*	*	EC	1/8	<1/4
F		*	*	*	*	*	*	EC		
G		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	<1/4
H		*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0051] 表6

[0052]

	组合物 5 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)									
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A			*	*	*	*	*	MSSA	1/16	1/16
B			*	*	*	*	*	MSSA		
C			*	*	*	*	*	MRSA	1/16	1/16
D			*	*	*	*	*	MRSA		
E	*	*	*	*	*	*	*	EC	1/8	1/4
F	*	*	*	*	*	*	*	EC		
G	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	1/4
H	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0053] 表7

[0054]

	组合物 6 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)									
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A			*	*	*	*	*	MSSA	1/32	1/16
B			*	*	*	*	*	MSSA		
C			*	*	*	*	*	MRSA	1/32	1/16
D			*	*	*	*	*	MRSA		
E	*	*	*	*	*	*	*	EC	1/8	<1/4
F	*	*	*	*	*	*	*	EC		
G	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	<1/4
H	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0055] 表8

[0056]

	组合物 7 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)									
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
#	1	2	3	4	5	6	12	有机体	MIC	MBC
A				*		*	*	MSSA	1/128	1/32
B				*		*	*	MSSA		
C				*		*	*	MRSA	1/128	1/32
D				*		*	*	MRSA		
E	*	*	*	*	*	*	*	EC	1/8	<1/4
F	*	*	*	*	*	*	*	EC		
G	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/8	<1/4
H	*	*	*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0057] 表9

[0058]

#	组合物 8 的稀释液($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)							有机体 MIC MBC		
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	对照			
A	1	2	3	4	5	6	12	MSSA	1/32	1/8
B				*	*	*	*	MSSA		
C				*	*	*	*	MRSA	1/32	1/8
D				*	*	*	*	MRSA		
E			*	*	*	*	*	EC	1/16	<1/4
F			*	*	*	*	*	EC		
G			*	*	*	*	*	EC (菌株 2)	1/16	<1/4
H			*	*	*	*	*	EC (菌株 2)		

[0059] 实施例2

[0060] 表10中提供的组合物进一步例示了本发明的组合物。“A部分”和“B部分”组合物旨在同时或以任意顺序依次一起使用。“水凝胶”组合物表示包含胶凝剂的一元(single-part)组合物。

[0061] 表10

[0062]

成分	PVA A 部分	PVA B 部分	水凝胶-1	水凝胶-2
柠檬酸三钠二水合物, 颗粒, USP	1%	10%	0.4%	5%
无水柠檬酸, 粉末, USP	0.25%	0.25%	4%	2.5%
亚甲蓝三水合物 USP	0.03%	--	0.015%	0.01%
对羟基苯甲酸甲酯 NF	--	0.70%	0.35%	0.20%
对羟基苯甲酸丙酯 NF	--	0.07%	0.035%	0.02%
异丙醇	--	5%	45%	45%
PVA (Elvanol 51-05)	25%	--	--	--
硼砂	--	3%	--	--
HPMC (Methocel 40-100 PCG)	--	--	4%	--
卡波普 674	--	--	0.18%	--
Capigel 98	--	--	--	2%
水	73.72%	80.98%	46.02%	45.27%

[0063] *所有量以重量百分比形式表示。

[0064] 实施例3

[0065] 以下实施例例示了可以根据本发明制备的其他组合物, 如表11至13所示。

[0066] 表11

[0067]

组分	量
柠檬酸盐(例如柠檬酸三钠二水合物)	约 1-50%、约 5-50%、约 5-30%或约 10-20%
柠檬酸	约 0.05-1%、约 0.05-0.5%或约 0.1-0.3%
亚甲蓝(例如亚甲蓝三水合物)	约 0.005-1%、约 0.005-0.05%、约 0.01-0.05%或约 0.01-0.02%
对羟基苯甲酸甲酯	约 0.1-1%、约 0.1-0.6%、约 0.1-0.5%或约 0.2-0.3%
对羟基苯甲酸丙酯	约 0.01-1%、约 0.1-0.06%、约 0.01-0.05%或约 0.02-0.03%
醇(例如异丙醇)	约 0-20%、约 5-15%或约 5-10%
任选的成膜剂或增稠剂(例如黄原胶)	约 0.2-1%或约 0.3-0.5%
任选的成膜剂或增稠剂(例如 PVP K60)	约 0.5-10%或约 1-5%
任选的润肤剂(例如甘油)	约 1-15%或约 3-10%
任选的润肤剂(例如丙二醇)	约 1-5%或约 2-4%
任选的表面活性剂和/或发泡剂	约 0.1-2%或约 0.1-1%
水	余量或约 60-80%
pH	约 4-8 或约 6-7

[0068] *所有量以重量百分比形式表示。

[0069] 表12

[0070]

组分	二元制剂	
	A 部分	B 部分
柠檬酸盐(例如柠檬酸三钠二水合物)	约 0-5%	约 5-10%
柠檬酸	约 0-1%	约 0-1%
亚甲蓝(例如亚甲蓝三水合物)	约 0.01-0.1%或约 0.01-0.05%	--
对羟基苯甲酸甲酯	--	约 0.1-1%或约 0.05%-1%
对羟基苯甲酸丙酯	--	约 0.01%-0.1% 或 约 0.05%-0.1%
醇(例如异丙醇)	--	约 1-10%或约 2-8%
聚合物(例如 PVA)	约 10-40% 或 约 20-30%	--
交联剂(例如硼砂)	--	约 1-5%
水	余量或约 60-80%	余量或约 70-90%

[0071] *所有量以重量百分比形式表示。

[0072] 表13

[0073]

成分	水凝胶-1	水凝胶-2
柠檬酸盐(例如柠檬酸三钠二水合物)	约 0.1-1%或约 0.1-0.5%	约 1-10%或约 2-8%
柠檬酸	约 1-10%或约 2-8%	约 1-5%或约 2-4%
亚甲蓝(例如亚甲蓝三水合物)	约 0.005-0.02%	约 0.005-0.02%
对羟基苯甲酸甲酯	约 0.1-0.5%	约 0.1-0.5%
对羟基苯甲酸丙酯	约 0.01-0.05%	约 0.01-0.05%
醇(例如异丙醇)	约 30-60%或约 40-50%	约 30-60%或约 40-50%
胶凝剂(例如 HPMC)	约 1-10%或约 2-5%	--
胶凝剂/增稠剂(例如聚丙烯酸, 例如卡波普 674)	约 0.1-1%或约 0.1-0.5%	--
胶凝剂/增稠剂(例如丙烯酸酯共聚物, 例如 Capigel 98)	--	约 1-5%
水	余量或约 40-60%	余量或约 40-60%

[0074] *所有量以重量百分比形式表示。

[0075] 实施例4

[0076] 以下实施例证明了根据本发明制备的组合物的抗微生物性质。

[0077] 当用五种美国典型培养物保藏中心(ATCC)微生物株进行试验时,使用体外时间-杀灭研究来评价在具有或不具有有机土壤负载(FBS稀释液)的情况下的受试组合物和阳性对照产品的抗微生物性质。在暴露于受试组合物和阳性对照组合30秒、2分钟和5分钟之后,测定从每一试验物种的原始种群的百分比降低和log10降低。所有琼脂铺板进行两次。所述受试组合物包含柠檬酸三钠10%;对羟基苯甲酸酯0.3%;以及亚甲蓝0.05%。所述阳性对照包含作为活性成分的5000ppm碘。结果在下表14至23中示出。

[0078] 如结果所示,受试组合物表现出优异的抗微生物性质,其对受试菌株在大部分FBS稀释下至少与阳性对照组合物一样有效。

[0079] 表14

[0080] 受试组合物:无FBS稀释液

[0081]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
牛棒状杆菌 (<i>Corynebacterium bovis</i>) (ATCC #7715)	1.910×10^8	30 秒	7.050×10^6	1.4328	96.3089%
		2 分钟	4.40×10^6	1.6375	97.6963%
		5 分钟	6.20×10^6	1.4886	96.7539%
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) (ATCC #11229)	1.2150×10^9	30 秒	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) (ATCC #15442)	1.1150×10^9	30 秒	1.0150×10^6	3.0408	99.9090%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0473	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0473	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus aureus</i>) (ATCC #6538)	8.750×10^8	30 秒	4.40×10^5	3.2985	99.9497%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	5.9420	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	5.9420	99.9999%
无乳链球菌 (<i>Streptococcus agalactiae</i>) (ATCC #12386)	1.1750×10^{10}	30 秒	$< 1.00 \times 10^3$	7.0700	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	7.0700	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	7.0700	99.9999%

[0082] 表15

[0083] 阳性对照(碘):无PBS稀释液

[0084]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
牛棒状杆菌 (ATCC #7715)	1.910×10^8	30 秒	3.550×10^6	1.7308	98.1414%
		2 分钟	3.90×10^6	1.6899	97.9581%
		5 分钟	2.440×10^6	1.8936	98.7225%
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10^9	30 秒	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0846	99.9999%
铜绿假单胞菌 (ATCC #15442)	1.1150×10^9	30 秒	1.00×10^3	6.0473	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0473	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	6.0473	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10^8	30 秒	$< 1.00 \times 10^3$	5.9420	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	5.9420	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	5.9420	99.9999%
无乳链球菌 (ATCC #12386)	1.1750×10^{10}	30 秒	5.00×10^3	6.3710	99.9999%
		2 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	7.0700	99.9999%
		5 分钟	$< 1.00 \times 10^3$	7.0700	99.9999%

[0085] 表16

[0086] 受试组合物:5%胎牛血清

[0087]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	4.40×10 ⁶	2.2985	99.4971%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%

[0088] 表17

[0089] 阳性对照:5%胎牛血清

[0090]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%

[0091] 表18

[0092] 受试组合物:10%胎牛血清

[0093]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	2.050×10 ⁴	4.7728	99.9983%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	2.270×10 ⁷	1.5860	97.4057%
		2 分钟	7.50×10 ³	5.0669	99.9991%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%

[0094] 表19

[0095] 阳性对照:10%胎牛血清

[0096]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	9.90×10 ⁵	2.9464	99.8869%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%

[0097] 表20

[0098] 受试组合物:20%胎牛血清

[0099]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	1.70×10 ⁴	4.8542	99.9986%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	2.2250×10 ⁸	0.5947	74.5714%
		2 分钟	1.630×10 ⁶	2.7298	99.8137%
		5 分钟	1.450×10 ⁴	4.7806	99.9983%

[0100] 表21

[0101] 阳性对照:20%胎牛血清

[0102]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	2.550×10 ⁵	3.6781	99.9790%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	2.240×10 ⁷	1.5918	97.4400%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	5.9420	99.9999%

[0103] 表22

[0104] 受试组合物:50%胎牛血清

[0105]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	1.7850×10 ⁶	2.8330	99.8531%
		2 分钟	2.00×10 ³	5.7836	99.9998%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	1.0350×10 ⁹	0.0000	0.0000%
		2 分钟	9.750×10 ⁸	0.0000	0.0000%
		5 分钟	4.40×10 ⁸	0.2985	49.7143%

[0106] 表23

[0107] 阳性对照:50%胎牛血清

[0108]

微生物物种 (ATCC #)	原始种群 (CFU/mL)	暴露 时间	暴露后种群 (CFU/mL)	Log ₁₀ 降低	百分比 降低
大肠杆菌 (ATCC #11229)	1.2150×10 ⁹	30 秒	4.90×10 ⁶	2.3944	99.5967%
		2 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
		5 分钟	< 1.00×10 ³	6.0846	99.9999%
金黄色葡萄球菌 (ATCC #6538)	8.750×10 ⁸	30 秒	4.050×10 ⁸	0.3345	53.7143%
		2 分钟	5.30×10 ⁷	1.2177	93.9429%
		5 分钟	1.090×10 ⁵	3.9046	99.9875%

[0109] 实施例5

[0110] 以下实施例例示了当用作挤奶后乳头调理剂(conditioner)时,对根据本发明制备的组合物的效能的测试。

[0111] 向24只挤奶后的早中哺乳期Jersey奶牛的乳头施用受试的和阳性对照的乳头调理(conditioning)组合物。受试组合物包含约10-20wt.%的柠檬酸三钠、约0.2wt.%的柠檬酸、约0.2-0.3wt.%的对羟基苯甲酸酯、以及各种浓度的亚甲蓝(MB)(约0.01wt.%、0.02wt.%和0.04wt.%)和润肤剂(约5wt.%、10wt.%和11wt.%)。受试组合物具有与实施例1所述的组合物类似的配方,如表24所示。阳性对照组合物包含1wt.%的碘和12wt.%的润肤剂。

[0112] 将24只早中哺乳期Jersey奶牛在单圈(single pen)中测试,其中12只具有蓝色脚环的奶牛(BLB组)被指定为一个试验组,而其他12只则没有脚环(NLB组)。所有24只奶牛的左乳头(对照)随后用对照组合物浸渍,而用受试组合物浸渍右侧乳头。将这两个处理组最初用包含0.01%亚甲蓝浸液但含有不同润滑剂组成(5wt.%与11wt.%)的受试组合物浸渍(第0天)。之后,将受试组合物更换成0.02wt.%MB制剂(第12天)以增强乳头皮肤着色。对NLB组的乳头转换成含有11%润肤剂的0.04wt.%MB浸液(第21天)以潜在地进一步增强着色。对BLB组的乳头在试验最后一周转换成更高润肤剂(10wt.%与5wt.%)的无滴型乳头浸液(第23天)。在表24中提供了润肤剂和MB浓度的总结。试验持续4.5周。其他的农场和挤奶实践在整个4.5周均相似。

[0113] 表24

[0114]

蓝脚环(BLB)				无脚环(NLB)			
天	实施例 1 的组合 物	润肤剂 (wt.%)	MB (wt.%)	天	实施例 1 的组合 物	润肤剂 (wt.%)	MB (wt.%)
0	4	5	0.01	0	7 (w/降低的 MB)	11	0.01
12	4 (w/增加的 MB)	5	0.02	12	7	11	0.02
23	8	10	0.01	21	7 (w/增加的 MB)	11	0.04

[0115] 将奶牛在双12平行挤奶厅(double12parallel parlor)中每天挤奶两次。将奶牛预挤出(forestrip) (3次挤出/乳头)并预浸渍(6只奶牛次序),然后在挤奶器单元连接之前用全棉毛巾(terry cloth towel)擦干。自动剥离器设定为1.8lb流速和1秒延迟。所有奶牛饲养在具有褥垫和木屑刨花铺垫的散栏单圈中。

[0116] 在第1天开始数据采集并且持续直至第30天。在第0天下午挤奶时施用受试产品,随后在第1天上午挤奶之后进行第一次数据观察。在浸渍(BP)之后、预挤奶乳头卫生处理(AP)以及在挤奶器单元移除之后(挤奶后至AM),在乳头卫生处理/下一次挤奶的准备之前评价乳头着色(由于MB产生的蓝色着色),使用0-2级评分(0=没有颜色;1=浅蓝色;2=深蓝色)。分别由训练有素的分级员使用Goldberg和Timms方法的变体来进行乳头皮肤和乳头末端评分(表25和26)。在最初4天试验于两次挤奶时进行计分,随后每周三次。数据输入Excel数据库。使用SAS汇编和分析结果。

[0117] 表25

[0118]

皮肤分数	描述
0	乳头皮肤经历物理损伤(踩伤(stepped on)/冻伤(frost bit))
1	乳头皮肤平滑、柔软,并不含任何鳞屑、龟裂(crack)或皸裂。
2	乳头皮肤表现出一些剥落的迹象,特别当触摸时(当沿着乳头管(teat barrel)滑动戴手套的手时感到拖曳的干燥区域和/或观察到皮肤表面的较低反射光泽的区域)。
3	乳头皮肤皸裂。皸裂是可见的多块皮肤明显剥离的情况。
4	乳头皮肤皸裂和龟裂。明显有发红,表明有炎症。
5	乳头皮肤严重受损/溃烂/开放性损害。

[0119] 表26

[0120]

乳头末端评分系统	角化过度或起茧(callousing)的程度				
龟裂	无	少量	轻微	中度	严重
A. 没有龟裂或粗糙	1	1.5	2	2.5	3
B. 龟裂和/或粗糙	---	3.5	4	4.5	5

[0121] *0分表示乳头的物理损伤。

[0122] 使用具有重复测量的SAS混合程序(四分之一的奶牛作为重复测量的混合模型)来分析乳头皮肤和乳头末端数据,其中 $p < .05$ 被认为是显著的。使用具有重复测量的SAS的GENMOD程序(四分之一的奶牛作为重复测量的广义线性模型)来分析%龟裂/粗糙乳头末端和%干燥/皸裂乳头皮肤数据。

[0123] 在使用包含0.01wt.%亚甲蓝(MB)的浸液的第一周试验期间,平均10-15%的乳头在下次挤奶(BP)的预挤奶乳头卫生处理之前表现出蓝色,并且5%润肤剂滴液与11%润肤剂相比表现出更高的结果,并且在预挤奶乳头卫生处理(AP)之后或挤奶(AM)之后表现出极少的乳头染色或没有乳头染色。用包含0.02wt.%MB的产品浸渍的乳头表现出更高百分比的乳头着色BP(40-50%),并且11wt.%润肤剂浸渍的乳头表现出更高的着色AP(25%)和AM(10%)。用0.04wt.%MB浸渍的乳头与0.02wt.%MB相比没有表现出着色优势。用0.01wt.%MB和触变剂(非滴液型)浸渍的乳头表现出与0.02wt.%MB相当的结果。

[0124] 试验前5-10天的温度是冷的(0°F),随后8天为 20°F 。然后,2天为 $0-5^{\circ}\text{F}$,3天为 20°F ,然后4天为 0°F (-10°F 是最低温度)(第2周试验的最初4天)。第3周(40°F)和第4周(25°F)试验对于冬季而言是应时高的。

[0125] 对于乳头皮肤完整性,整个处理和对照浸液和所有时段的TE分数和完整性均没有差异。99+%的乳头表现出优异的乳头皮肤健康(分数1)。

[0126] 对于乳头末端完整性,对照和处理浸渍的乳头在第一周试验内没有显著差异(平均TE分数或%粗糙/龟裂乳头)。在第2-3周试验(BLB-5%润肤剂)和第2周试验(在第3周不显著上升)(NLB-11%润肤剂)期间,与处理组乳头相比,对照乳头具有显著更高的TE分数和%粗糙/龟裂TE;并且在第4周试验不显著更高。与11%润肤剂相比,用5%润肤剂处理浸渍的乳头具有更加一致的TE结果,但在解释时应倍加小心,因为奶牛是不同的。

[0127] 这些结果表明受试组合物在下次挤奶时提供了一些乳头着色。此外,受试组合物与阳性对照相比,提供了优异的乳头皮肤(TS)健康,与阳性对照相比提供了优异的乳头末端健康完整性,并且经由寒冷天气变化而维持比对照显著更好的乳头末端健康完整性。具有5wt.%润肤剂的浸液提供了可比较的一致性TE健康,并且乳头组合物浸液提供了比对比浸液更柔软、更柔韧(pliable)的角化过度TE组织。

[0128] 本文所引用的包括公开、专利申请和专利在内的所有文献援引加入本文,其程度如同单独且明确指出每一文献援引加入并且在本文阐述其全部内容。

[0129] 除非本文另有所指或上下文明显矛盾,在本发明所述的情形中(特别在以下权利要求书的情形中),术语“a”、“an”和“the”及类似指称对象的使用被解释成涵盖单数和复数。除非另有说明,术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”被解释成开放式术语(即,表示“包

括但不限于”)。除非本文另有所指,本文数值范围的引用仅旨在用作单独提及该范围内的每一独立数值的简写方法,并且每一单独数值并入说明书,如同其在本文中单独记载。除非本文另有所指,或上下文明显矛盾,本文所述的所有方法可以任意合适次序进行。除非另有声明,本文提供的任何及所有实例或示例性语言(如“例如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,并且不对本发明范围造成限制。说明书中没有语言应解释成表示任何非要求保护的部件对于本发明的实践而言是必要的。

[0130] 本文描述了本发明的优选实施方案,包括发明人已知用于实施本发明的最佳方式。在阅读前述描述之后,那些优选实施方案的变体对于本领域技术人员会变得显而易见。发明人预期技术人员适当地采用这样的变体,并且发明人预期以本文具体所述不同的方式实施本发明。因此,本发明包括所附权利要求所引用的主题的、适用法律所允许的所有变化和等同。此外,除非本文另有所指,或上下文明显矛盾,本发明包括上述部件以其所有可能变体形式的任意组合。