

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045049**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.10.26**

(21) Номер заявки  
**202190066**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.07.03**

(51) Int. Cl. **C12N 1/04** (2006.01)  
**A61Q 19/00** (2006.01)

---

(54) **ВОДНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ  
ЖИЗНЕСПОСОБНЫЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ**

---

(31) **18181644.8**

(32) **2018.07.04**

(33) **EP**

(43) **2021.06.07**

(86) **PCT/EP2019/067833**

(87) **WO 2020/007906 2020.01.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ХХР. ХАНСЕН А/С (DK)**

(72) Изобретатель:  
**Долмер Могенс, Ингерманн Метте,  
Виннинг Метте (DK)**

(74) Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

(56) ANONYMOUS: "Esse sensitive serum", INTERNET CITATION, 1 August 2016 (2016-08-01), XP002783641, Retrieved from the Internet: URL:https://www.esseskincare.com/esse\_product/sensitive-serum/[retrieved on 2018-08-07] the whole document

"Esse toner plus", INTERNET CITATION, 1 August 2016 (2016-08-01), XP002783654, Retrieved from the Internet: URL:https://

www.esseskincare.com/esse\_product/toner-plus/[retrieved on 2018-08-07] the whole document

CORONADO ROBLES ET AL: "Probiotics promising cosmetic ingredient or marketing tool?", INTERNET CITATION, 1 August 2016 (2016-08-01), XP002783655, Retrieved from the Internet: URL:https://www.researchgate.net/profile/Maria\_Coronado/publication/308075735\_Probiotics\_-\_promising\_cosmetic\_ingredient\_or\_marketing\_tool/links/57d90bc508ae5f03b4993e0d/Probiotics-promising-cosmetic-ingredient-or-marketing-tool.pdf [retrieved on 2018-08-07] the whole document

WO-A2-2013188626

Tetesept: "Profloora (R) Darm", 1 October 2016 (2016-10-01), pages 1-5, XP055530134, Retrieved from the Internet: URL:https://www.tetesept.de/produkte/gesundheit/erkaeltung/abwehrkraefte/profloora-darm-27036.htm [retrieved on 2018-12-04] the whole document

D Sharma: "Anti-Aging Effects of Probiotics", J Drugs Dermatol, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 9-12, XP055498011, Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26741377 [retrieved on 2018-08-07] page 9, right-hand column, paragraph 1 page 11, right-hand column, paragraph Conclusion

(57) Настоящее изобретение относится к водным композициям для местного применения, содержащим по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  колониеобразующих единиц (КОЕ)/г пробиотических бактерий, которые остаются жизнеспособными в указанной композиции в течение по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Также настоящее изобретение относится к способам получения таких водных композиций для местного применения и устройству, подходящему для длительного хранения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и смешивающегося с водой растворителя. Дополнительно настоящее изобретение относится к применению указанного устройства для доставки для обеспечения пробиотических бактерий, которые остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения. Когда возникает потребность в использовании водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержимое отсеков устройства перемешивают и получают стабильную готовую к использованию водную композицию для местного применения по изобретению, содержащую по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/г жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в течение вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

**B1****045049****045049****B1**

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к водным композициям для местного применения, содержащим по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  колониеобразующих единиц (КОЕ)/г жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, которые остаются жизнеспособными в указанной композиции в течение периода времени, составляющего например до 14 суток или даже дольше при  $25^\circ\text{C}/60\%$  относительной влажности (ОВ), или  $30^\circ\text{C}/75\%$  ОВ, или  $5^\circ\text{C}$ . Также настоящее изобретение относится к способам получения таких водных композиций для местного применения.

В частности, настоящее изобретение относится к устройству, подходящему для длительного хранения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и смешивающегося с водой растворителя в отдельных отсеках. В любое время на протяжении времени хранения, например до 3 лет, содержимое отдельных отсеков, содержащих указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и указанный смешивающийся с водой растворитель, соответственно, можно объединять для получения готовых к использованию указанных водных композиций для местного применения по изобретению.

Также настоящее изобретение относится к способам получения указанного устройства и к применению указанного устройства для доставки для обеспечения пробиотических бактерий, сохраняющих жизнеспособность в указанной водной композиции для местного применения.

### Уровень техники

В данной области техники хорошо известно, что пробиотические бактерии в композициях для местного применения не выживают в композициях, которые являются влажными (с активностью воды 0,40-0,90), содержат эмульгаторы, консерванты и/или при хранении композиций при высокой температуре.

Некоторые производители пробовали изготавливать композиции для местного применения, содержащие жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, но ни один доступный в продаже продукт не обеспечивает жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/г, что позволяло бы потребителям использовать его для получения желаемого уровня жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий. Также нет доступных водных продуктов для местного применения, которые можно годами хранить при комнатной температуре или даже более высокой температуре, и в которых при этом содержание жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий будет сохраняться на очень высоком уровне в момент использования, то есть по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/г. Композиции для местного применения, которые являются водными, обеспечивают приятное тактильное ощущение при применении и, следовательно, часто являются востребованными у потребителей.

Поэтому в данной области техники есть потребность в обеспечении водных композиций для местного применения, содержащих жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, которые являются стабильными после получения, являются жизнеспособными после хранения в течение периода до трех лет при комнатной температуре или после хранения в прохладном месте, например в холодильнике, то есть примерно при  $25^\circ\text{C}/60\%$  ОВ, например примерно  $30^\circ\text{C}/60\%$  ОВ и, например, примерно  $5^\circ\text{C}$ , и которые являются жизнеспособными до применения в пределах заявленного срока хранения.

Следовательно, улучшенная композиция для местного применения, содержащая жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, является полезной, и в частности, более стабильная композиция для местного применения, содержащая жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, для длительного хранения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий является полезной.

### Краткое изложение сущности изобретения

Объект настоящего изобретения относится к стабильной водной композиции для местного применения, содержащей жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, которая сохраняет желаемый высокий уровень содержания жизнеспособных пробиотических бактерий в композиции в течение значительного промежутка времени.

В частности, задача настоящего изобретения заключается в обеспечении композиции для местного применения, которая решает вышеупомянутые проблемы из уровня техники с плохой жизнеспособностью пробиотических бактерий, плохой стабильностью пробиотических бактерий в водных композициях и невозможностью длительного хранения пробиотических бактерий.

Один аспект настоящего изобретения относится к способу получения водной композиции для местного применения, включающий:

- а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и, возможно, по меньшей мере одного буфера,
- б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель для получения смеси и
- в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотиче-

ских бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 3,0-8,0 и вязкость более 2500 мПа·с и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

Другой аспект настоящего изобретения относится к водной композиции для местного применения, содержащей жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве, находящемся в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение определенного периода времени, например до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ.

Еще в одном аспекте настоящего изобретения предложено устройство для доставки пробиотических бактерий, включающее:

первый отсек, содержащий жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и, возможно, осушитель, и  
второй отсек, содержащий по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель, где количество жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в указанном первом отсеке составляет по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ получения устройства для доставки по настоящему изобретению, включающий стадии:

а) обеспечение в первом отсеке жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и

б) обеспечение во втором отсеке по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, где а) и б) вместе обеспечивают указанное устройство для доставки.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к применению устройства для доставки по настоящему изобретению для обеспечения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в водной композиции для местного применения согласно настоящему изобретению в течение вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ.

#### **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1а представлен график, показывающий стабильность *Lactobacillus rhamnosus* в водной гелевой композиции для местного применения по настоящему изобретению.

На фиг. 1б представлен график, показывающий стабильность *Lactobacillus paracasei* в водной гелевой композиции для местного применения по настоящему изобретению.

На фиг. 2а представлен график, показывающий стабильность *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в водной гелевой композиции для местного применения по настоящему изобретению.

На фиг. 2б представлен график, показывающий стабильность *Lactobacillus rhamnosus* в водной композиции-лосьоне для местного применения по настоящему изобретению.

На фиг. 3а представлен график, показывающий стабильность смеси *Lactobacillus rhamnosus* в первом отсеке.

На фиг. 3б представлен график, показывающий стабильность смеси *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в первом отсеке.

#### **Подробное описание изобретения**

В одном аспекте настоящего изобретения предложен способ получения водной композиции для местного применения, включающий:

а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, поллоксамера, полиэтиленгликоля (ПЭГ)/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и

в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 4,0-6,7, и вязкость более 2500 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение до 7 суток при 25°C/60% ОВ.

В одном воплощении раскрыт способ получения водной композиции для местного применения, включающий:

а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или

более чем одного из карбомера, поллоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и

в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 4,0-6,7, и вязкость более 2500 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение до 7 суток при 25°C/60% ОВ.

В одном воплощении раскрыт способ получения водной композиции для местного применения, включающий:

а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера, где указанная сухая композиция жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий измельчена в порошок, имеющий активность воды не более 0,30 и распределение размера частиц в области меньше 500 мкм,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного поллоксамера, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды для обеспечения указанной смеси, имеющей вязкость примерно 100 мПа·с при температуре не выше 10°C и вязкость примерно 1000 мПа·с при температуре выше 25°C, и

в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей вязкость менее 500 мПа·с при температуре не выше 10°C и вязкость более 2500 мПа·с при температуре выше 30°C, и где указанная водная композиция для местного применения содержит указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве, находящемся в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение до 7 суток при 25°C/60% ОВ.

В одном аспекте настоящего изобретения раскрыта водная композиция для местного применения, содержащая по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды и жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения до 7 суток при 25°C/60% ОВ, и где указанная композиция содержит по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, поллоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере один буфер.

Еще в одном аспекте раскрыто устройство для доставки пробиотических бактерий, содержащее:

первый отсек, содержащий жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, и по меньшей мере один буфер, и, возможно, осушитель, и

второй отсек, содержащий по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, поллоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и по меньшей мере один буфер,

где количество жизнеспособных бактерий указанного по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в указанном первом отсеке составляет по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение до 3 лет при 25°C/60% ОВ.

В другом аспекте раскрыт способ получения устройства для доставки, включающий стадии:

а) обеспечения в первом отсеке жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение до 3 лет при 25°C/60% ОВ и

б) обеспечения во втором отсеке по меньшей мере одного загустителя, выбранного из одного или более чем одного из карбомера, поллоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и по меньшей мере одного буфера,

где а) и б) вместе обеспечивают указанное устройство для доставки.

В другом аспекте раскрыто применение устройства для доставки для обеспечения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению в течение по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ.

Один аспект настоящего изобретения относится к способу получения водной композиции для местного применения, включающему:

а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и, возможно, по меньшей мере одного буфера,

б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель для обеспечения смеси, и

в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 3,0-8,0 и вязкость более 2500 мПа·с, например более 2700 мПа·с, например более 3000 мПа·с, например более 3300 мПа·с, например более 3600 мПа·с, например более 3900 мПа·с, например более 5000 мПа·с, например более 6000 мПа·с, например более 7500 мПа·с, например более 10000 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^6$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$ , например по меньшей мере  $10^{10}$ , например по меньшей мере  $10^{11}$  КОЕ/г. В одном воплощении изобретения рН может составлять 3-7,5, например 3-7,0, например 3,5-7,0, например 4,0-6,7, например 4,0-7,0, например 4,0-8,0, например 4,5-7,0, например 4,5-6,5, например 3-4, например 3,5-4,5, например 4,5-5,5, например более 3, например более 3,5, например более 4,0, например более 5,0, например более 5,5. В предпочтительном воплощении рН составляет 4,0-7,0.

В одном воплощении настоящего изобретения раскрыт способ получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная смесь со стадии б) имеет вязкость менее 2500 мПа·с, например менее 2200 мПа·с, например менее 2000 мПа·с, например менее 1800 мПа·с, например менее 1500 мПа·с, например менее 1000 мПа·с, например менее 750 мПа·с, например менее 500 мПа·с.

Обычно потребитель будет хранить водную композицию для местного применения по настоящему изобретению при комнатной температуре или в холодильнике в своем доме в стране своего проживания. Обычная "комнатная температура" довольно сильно варьирует в зависимости от страны, времени суток и так далее. В предпочтительном воплощении температура водной композиции для местного применения по изобретению или устройства для доставки, содержащего водную композицию для местного применения по изобретению, может находиться в диапазоне примерно 18°C-32°C, например 20°C-32°C, например 22°C-32°C, например 24°C-31°C, например 25°C-30°C, например 20°C-30°C, например 22°C-30°C, например 23°C-28°C, например 24°C-26°C и предпочтительно 25°C или 30°C. Также температуры в холодильниках варьируют довольно сильно и могут составлять примерно 1°C-15°C, например 1°C-10°C, например 2°C-9°C, например 3°C-8°C, например 4°C-6°C, и предпочтительно 5°C согласно одному воплощению изобретения.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение по меньшей мере 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 24 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В другом воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение до 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 24 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 18 суток при

25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 22 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 26 суток при 25°C/60% ОВ % ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 30 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 2 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Еще одно воплощение настоящего изобретения относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение от 5 минут до 2 месяцев, например от 5 минут до 1 месяца, например от 5 минут до 14 суток, например от 5 минут до 7 суток, например от 5 минут до 4 суток.

Неожиданно было показано, что указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения с момента, когда композиция готова к использованию пользователем/потребителем, в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C или в течение до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Дополнительно, и даже более неожиданно, указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 7 суток или даже до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Это обеспечивает для потребителя преимущество иметь стабильную композицию для местного применения, содержащую жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, готовой к употреблению в течение длительного промежутка времени.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий предоставлены в сухой композиции. Использование сухой композиции дает преимущество иметь стабильный продукт при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1 месяца при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 3 месяца при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 6 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 9 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 12 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 18 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 24 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 30 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или даже по меньшей мере в течение 36 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, включающему:

а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и по меньшей мере одного или более чем одного буфера,

б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель, и одну или более чем одну кислоту или одно или более чем одно основание для обеспечения смеси, и, возможно, эмульгатор, и одно или более чем одно гидрофобное соединение, и

в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) и, возможно, дополнительное добавление буфера для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 3,0-8,0 и вязкость более чем 2500 мПа·с, например более 2700 мПа·с, например более 3000 мПа·с, например более 3300 мПа·с, например более 3600 мПа·с, например более 3900 мПа·с, например более 5000 мПа·с, например более 7500 мПа·с, например более 10000 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^6$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^{10}$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^{11}$  КОЕ/г.

Согласно настоящему изобретению кислоту или основание используют для доведения рН, в то время как буфер используют для поддержания рН на желаемом уровне. Неожиданно было показано, что путем контролирования рН на желаемом уровне с использованием кислоты и/или основания вязкость смеси в б) можно контролировать с помощью загустителей-карбомеров по изобретению, таким образом обеспечивая водную композицию для местного применения по изобретению, имеющую рН 3,0-8,0, например предпочтительно 4,0-7,0, и вязкость более 2500 мПа·с, когда жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и по меньшей мере один или более чем один буфер смешивают со смесью со стадии б) по изобретению.

В одном воплощении изобретения, относящемуся к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий предоставлены в сухой композиции. В одном воплощении ука-

заявленная сухая композиция имеет размер частиц не более 1000 мкм, например не более 900 мкм, например не более 800 мкм, например не более 700 мкм, например не более 600 мкм, например не более 500 мкм, например не более 400 мкм, например не более 300 мкм, например не более 200 мкм, например не более 150 мкм, например не более 100 мкм в диаметре. В предпочтительном воплощении указанная сухая композиция имеет размер частиц не более 200 мкм в диаметре. В другом воплощении указанная сухая композиция может дополнительно содержать загуститель.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где композиция жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий содержит по меньшей мере одну/одно кислоту или основание. Добавление кислоты или основания способствует поддержанию pH композиции на желаемом уровне, так что загустевание можно контролировать. Предпочтительно, когда указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий содержат по меньшей мере одну/одно кислоту или основание, указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий представляют собой сухую композицию.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, включающему:

- а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера,
- б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель для обеспечения смеси, имеющей pH 2-3 и вязкость менее 2500 мПа·с, и
- в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей pH 3,0-8,0 и вязкость более 2500 мПа·с и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, включающему: а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г, и по меньшей мере одного буфера, и по меньшей мере одной/одного или более чем одной/одного кислоты или основания,

- б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель, для обеспечения смеси, имеющей pH 2-3 и вязкость менее 2500 мПа·с, и
- в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей pH 3,0-8,0 и вязкость более 2500 мПа·с и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$ - $10^9$  КОЕ/г.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, включающему:

- а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера,
- б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного карбомера, для обеспечения смеси, имеющей pH 2-3 и вязкость менее 2500 мПа·с, и
- в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей pH 3,0-8,0 и вязкость более 2500 мПа·с и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанный по меньшей мере один загуститель представляет собой один или более чем один карбомер, и где сухая композиция содержит по меньшей мере один буфер, выбранный из одного или более чем одного буфера на основе одновалентных катионов. Буферы на основе одновалентных катионов являются предпочтительными при использовании карбомеров, поскольку буферы на основе одновалентных катионов хорошо контролируют набухание карбомеров.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, включающему:

- а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и, возможно, по меньшей мере одного буфера,
- б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, содержащего по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного полоксамера, для обеспечения смеси, имеющей вязкость примерно 100 мПа·с при температуре не выше 10°C, например не выше 10-15°C, и вязкость примерно 1000 мПа·с при температуре выше 25°C, например выше 20-25°C, и

в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей вязкость не более 1000 мПа·с или не более 500 мПа·с при температуре не выше 10°C, например не выше 20°C, и вязкость более 2000 мПа·с при температуре выше 30°C, например выше 20°C, и где указанная водная композиция для местного применения содержит количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6 - 10^{11}$  КОЕ/г.

Альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу получения водной композиции для местного применения, включающему:

а) обеспечение сухой композиции по меньшей мере одного влагочувствительного агента, который не является жизнеспособными бактериями по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий,

б) обеспечение по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя, и

в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанному смешивающемуся с водой растворителю со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, содержащей указанный по меньшей мере один влагочувствительный агент. В одном воплощении указанный по меньшей мере один влагочувствительный агент, не являющийся жизнеспособными бактериями по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, является активным в водной композиции для местного применения в течение до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В альтернативном воплощении указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются активными или живыми в водной композиции для местного применения в течение до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение до 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 24 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 18 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 22 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 26 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 30 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например до 2 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Другой аспект настоящего изобретения относится к водной композиции для местного применения, содержащей жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве, находящемся в диапазоне  $1 \cdot 10^6 - 10^{11}$  КОЕ/г, являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение периода времени, такого как по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 1 час при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 4 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 24 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, такого как по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C,

например вплоть до 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 22 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 26 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Другой аспект настоящего изобретения относится к водной композиции для местного применения, содержащей жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве, находящемся в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение такого периода времени, как например от 5 минут до 2 месяцев, например от 5 минут до 1 месяца, например от 5 минут до 14 суток, например от 5 минут до 7 суток, например от 5 минут до 4 суток.

В одном воплощении изобретения по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^{10}$ , например по меньшей мере  $10^{11}$  КОЕ/г указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Неожиданно было показано, что указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Дополнительно и даже более неожиданно, указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 7 или даже 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Это обеспечивает потребителя тем преимуществом, что водная композиция для местного применения является стабильной и имеющей большое количество жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий предоставлены в сухой композиции, содержащей жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит один или более чем один активный компонент.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит по меньшей мере один загуститель и/или по меньшей мере один буфер. При использовании указанного загустителя и/или по меньшей мере одного буфера в указанной водной композиции для местного применения по настоящему изобретению неожиданно было показано, что указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Дополнительно, и даже более неожиданно, указанные пробиотические бактерии остаются жизнеспособными в указанной водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 7 или даже по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C или в течение вплоть до 7 или даже вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. Это обеспечивает потребителя тем преимуществом, что водная композиция для местного применения является стабильной и имеющей большое количество жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий. Также указанная водная композиция для местного применения имеет очень приемлемый срок хранения/срок годности, по меньшей мере 7 или даже по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или она имеет очень приемлемый срок хранения вплоть до 7 или даже вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, тем самым обеспечивая очень полезный продукт для потребителя.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит по меньшей мере один карбомер, и по меньшей мере один буфер, и, возможно, по меньшей мере одну кислоту и/или по меньшей мере одно основание.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит по меньшей мере один полоксамер.

В одном воплощении изобретения относится к водной композиции для местного применения по на-

стоящему изобретению, где указанная композиция содержит по меньшей мере один эмульгатор.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит по меньшей мере один буфер.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция содержит одно или более чем одно гидрофобное соединение.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанное гидрофобное соединение выбрано из одного или более чем одного из масел и восков, которые являются твердыми и/или текучими при комнатной температуре.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где указанная композиция имеет pH 3,0-8,0 и вязкость более 2000 мПа·с, например вязкость более 2250 мПа·с, например вязкость более 2500 мПа·с, например вязкость более 2700 мПа·с, такую как более 3000 мПа·с, такую как более 3300 мПа·с, такую как более 3600 мПа·с, такую как более 3900 мПа·с, такую как более 4000 мПа·с, такую как более 5000 мПа·с, такую как более 6000 мПа·с, такую как более 7500 мПа·с, такую как более 8500 мПа·с, такую как более 10000 мПа·с. В одном воплощении изобретения pH может составлять 3,0-4,0, например 3,5-4,5, например 4,5-5,5, например более 3,0, например более 3,5, например более 4,0 например более 5,0, например более 5,5.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов любого из штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus fermentum*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus lactis*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, любого штамма, принадлежащего к роду *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium magnum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, но не ограничиваясь ими, или из родов *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Butyricicoccus*, *Christensenella*, *Clostridia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, или *Roseburia*, *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* или *Staphylococcus hominis*, *Weissella viridescens*, или семейства *Coriobacteriaceae*.

В одном воплощении изобретение относится к водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов, принадлежащих к роду *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, например *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve* и *Bifidobacterium infantis*, но не ограничиваясь ими, штаммов, принадлежащих к роду *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *L. delbrueckii*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *L. iners*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, но не ограничиваясь ими, например *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, например *Lactobacillus rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. vaginalis*, штаммов рода *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* и *Staphylococcus hominis*, и *Weissella viridescens*.

В предпочтительном воплощении пробиотический штамм, включенный в сухую композицию или водную композицию для местного применения по настоящему изобретению, выбран из одного или более чем одного из штаммов, принадлежащих к роду *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, например *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve* и *Bifidobacterium infantis*, но не ограничиваясь ими, штаммов, принадлежащих к роду *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *L. delbrueckii*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *L. iners*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, например *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, например *Lactobacillus rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, штаммов рода *Staphylococcus*, как например *Staphylococcus epidermis* и *Staphylococcus hominis*, и *Weissella viridescens*.

В предпочтительных в настоящее время воплощениях изобретения в композиции по настоящему изобретению присутствует(ют) один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь различных штаммов.

Альтернативный аспект настоящего изобретения относится к водной композиции для местного применения, содержащей по меньшей мере один влагочувствительный агент, который не является жизнеспособными бактериями по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, и по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель, где по меньшей мере 10% по меньшей мере влагочув-

ствительного агента активно в водной композиции для местного применения в течение по меньшей мере 5 минут или вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Еще в одном аспекте настоящего изобретения предложено устройство для доставки пробиотических бактерий, включающее:

первый отсек, содержащий жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и, возможно, осушитель, и

второй отсек, содержащий по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель,

где количество жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в указанном первом отсеке составляет по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 6 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C или например вплоть до 3 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В альтернативном аспекте настоящего изобретения предложено устройство для доставки, включающее:

первый отсек, содержащий по меньшей мере один влагочувствительный компонент, не являющийся жизнеспособными бактериями по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, и

второй отсек, содержащий по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель,

где по меньшей мере 10% влагочувствительного компонента остается активным в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанные первый и второй отсеки представляют собой отдельные элементы.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где каждый по отдельности из указанного первого отсека и указанного второго отсека герметически закрыт крышкой, и где каждый(ая) из указанных отсеков и указанных крышек обеспечивает хранение указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и указанного смешивающегося с водой растворителя без какой-либо утечки указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и/или утечки указанного смешивающегося с водой растворителя во время хранения.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где оба указанные первый и второй отсеки имеют крышки, которые являются многоразовыми (re-attachable).

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек представляет собой алюминиевую, пластиковую или стеклянную трубку с многоразовой закручивающейся крышкой или крышкой-помпой (pump lid).

В одном воплощении предложено устройство по изобретению, где указанное устройство представляет собой стеклянный или пластиковый флакон с капельницей, пипеткой или крышкой-помпой. Указанный пластиковый флакон может содержать фольгу, защищающую от высокой влажности, например алюминиевый внутренний слой.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый и/или второй отсек представляет собой саше и/или ампулу.

В предпочтительном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек представляет собой ампулу или саше, и где указанный второй отсек представляет собой алюминиевую или пластиковую трубку с многоразовой закручивающейся крышкой или крышкой-помпой. В даже еще более предпочтительном воплощении изобретения указанный первый отсек представляет собой многоразовую пластиковую крышку, которая накручена на второй отсек, сделанный из стекла, где указанная многоразовая пластиковая крышка имеет мембрану между отсеками, которая может быть разрушена, так чтобы содержимое отсеков могло быть перемешано, в то время как устройство для доставки является закрытым/герметически закрытым от окружающей среды.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий представлены в сухой композиции.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один активный компонент и/или осушитель.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один гидрофобный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один буфер.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один активный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один гидрофобный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один загуститель.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один эмульгатор.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов из любого из штаммов, принадлежащих к *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus fermentum*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus lactis*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, любого штамма, принадлежащего к роду *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium magnum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, но не ограничиваясь ими, или из родов *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Butyricoccus*, *Christensenella*, *Clostridia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, или *Roseburia*, *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* или *Staphylococcus hominis*, *Weissella viridescens*, или семейства *Coriobacteriaceae*.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов любого из рода *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, например *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve* и *Bifidobacterium infantis*, но не ограничиваясь ими, штаммов, принадлежащих к роду *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *L. delbrueckii*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *L. iners*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, например *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, например *Lactobacillus rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, штаммов рода *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* и *Staphylococcus hominis*, и *Weissella viridescens*.

В предпочтительных в настоящее время воплощениях изобретения в композиции по настоящему изобретению присутствует(ют) один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь различных штаммов.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек поддерживает активность воды указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий на уровне не более чем 0,3 в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанные первый и второй отсеки соединены в конфигурации выступ-впадина (*male-female*).

В одном воплощении изобретение относится к устройству для доставки по настоящему изобретению, где указанная конфигурация выступ-впадина включает плотно подогнанную конфигурацию.

Еще в одном аспекте настоящего изобретения предложен способ получения устройства для доставки по настоящему изобретению, включающий стадии: а) обеспечения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в первом отсеке, и

б) обеспечения по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя во втором отсеке, для обеспечения указанного устройства для доставки.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один буфер.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один активный компонент и/или осушитель.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек содержит один или более чем один гидрофобный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один активный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по на-

стоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один гидрофобный компонент.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный второй отсек содержит один или более чем один загуститель и/или один или более чем один эмульгатор.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где количество жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в указанном устройстве для доставки составляет по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 6 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или например вплоть до 3 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов любого из штаммов, принадлежащих к *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacety lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus fermentum*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus lactis*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, любого штамма, принадлежащего к роду *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium magnum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, но не ограничиваясь ими, или из родов *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Butyricoccus*, *Christensenella*, *Clostridia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, или *Roseburia*, *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* или *Staphylococcus hominis*, *Weissella viridescens*, или семейства *Coriobacteriaceae*.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий выбраны из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов любого из рода *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, например *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium breve* и *Bifidobacterium infantis*, но не ограничиваясь ими, штаммов, принадлежащих к роду *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *L. casei* (*Gynophilus*), *L. coleohominis*, *L. delbrueckii*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *L. iners*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, например *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, например *Lactobacillus rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, штаммов рода *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* и *Staphylococcus hominis*, и *Weissella viridescens*.

В предпочтительных в настоящее время воплощениях в композиции по настоящему изобретению присутствует(ют) один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь различных штаммов.

В одном воплощении изобретение относится к способу получения устройства для доставки по настоящему изобретению, где указанный первый отсек поддерживает активность воды указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий на уровне не более чем 0,3 в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере  $10^7$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^8$  КОЕ/г, например по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 6 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или например вплоть до 3 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Еще в одном аспекте настоящее изобретение относится к применению устройства для доставки по настоящему изобретению для обеспечения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению в течение по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение по меньшей мере 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 1 час при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 часа при 25°C/60% ОВ или

30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 24 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение вплоть до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 22 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 26 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

Когда потребителю требуется получить готовую водную композицию для местного применения по изобретению, содержимое отсеков просто объединяют, например путем смешивания, встряхивания и/или взбалтывания. Таким образом, когда потребитель использует устройство для доставки по настоящему изобретению, потребитель смешивает содержимое устройства для доставки и, таким образом, получает водную композицию для местного применения по настоящему изобретению, имеющую по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в течение вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C. В другом воплощении потребитель смешивает содержимое устройства для доставки и, таким образом, получает водную композицию для местного применения по настоящему изобретению, имеющую по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в течение по меньшей мере 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

В одном воплощении настоящее изобретение относится к применению устройства для доставки по настоящему изобретению для обеспечения по меньшей мере  $1 \cdot 10^6$  жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению в течение вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

#### Определения

Перед более подробным обсуждением настоящего изобретения сначала следует определить следующие термины и правила.

"Пробиотические бактерии или штамм пробиотических бактерий".

В контексте настоящего изобретения выражения "пробиотические бактерии" или "бактерии штамма пробиотических бактерий" относятся к культуре микроорганизмов, например бактерий, которые при применении к человеку или животному благотворно действуют на хозяина (FAO/WHO, 2001, Health и Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health и Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria). Если контекстом не предусмотрено иное, термины "микроорганизм", "бактерия" и "пробиотик" используют взаимозаменяемо. Термин бактериальный "штамм", как его используют здесь, относится к бактерии, которая остается генетически неизменной, когда растет или размножается.

В предпочтительном воплощении пробиотический штамм, включенный в сухую композицию или водную композицию для местного применения по настоящему изобретению, выбран из одного или более чем одного из одного штамма или комбинации штаммов любого из рода *Bifidobacterium*, включая *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, например *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, *Bifidobacterium breve* и *Bifidobacterium infantis*, но не ограничиваясь ими, штаммов, принадлежащих к роду *Cutibacterium*, например *Cutibacterium acnes*, любого штамма, принадлежащего к роду *Lactobacillus*, включая *L. casei* (Gyno-

philus), *L. coleohominis*, *L. delbrueckii*, *L. fornicalis*, *L. gallinarum*, *L. iners*, *L. mucosae*, *L. paracasei*, например *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, например *Lactobacillus rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. vaginalis*, но не ограничиваясь ими, штаммов рода *Staphylococcus*, например *Staphylococcus epidermis* и *Staphylococcus hominis*, и *Weissella viridescens*.

"Композиция для местного применения и водная композиция для местного применения".

В контексте настоящего изобретения выражение "для местного применения" предназначено для обозначения нанесения на определенную поверхность снаружи или внутри организма, например нанесения на наружную или внутреннюю поверхность организма, например на кожу или слизистую оболочку, например ухо, внутреннюю поверхность носовой полости, внутреннюю поверхность ротовой полости, губу, урогенитальную область, например уретральную, вагинальную или ректальную область, включая отверстие мочеиспускательного канала, отверстие влагалища и анус. В предпочтительном воплощении указанное местное нанесение предназначено для урогенитальной области, например уретральной, вагинальной или ректальной области, включая отверстие мочеиспускательного канала, отверстие влагалища и анус. В другом предпочтительном воплощении указанное местное нанесение предназначено для кожи.

В одном воплощении изобретения указанная кожа или слизистая оболочка могут представлять собой интактную кожу или слизистую оболочку. В другом воплощении указанная кожа или слизистая оболочка могут представлять собой нарушенную или поврежденную кожу, например, поврежденную дерматитом, например атопическим дерматитом, или имеющую ожог, экзему, одну или более чем одну псориазическую бляшку, раны, акне, чувствительную кожу, зудящую кожу, витилиго, розовые угри, склеротический лишай.

Таким образом, в контексте настоящего изобретения выражение "водная композиция для местного применения" предназначена для обозначения композиции для местного применения, содержащей по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель и жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, способные выживать в указанной водной композиции для местного применения до местного нанесения, то есть в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение по меньшей мере 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 1 час при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 24 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или дополнительно в течение вплоть до 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 1 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 24 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 18 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 22 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 26 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 30 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например вплоть до 2 месяцев при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, или альтернативно в течение от 5 минут до 2 месяцев, например от 5 минут до 1 месяца, например от 5 минут до 14 суток, например от 5 минут до 7 суток, например от 5 минут до 4 суток.

Указанная композиция для местного применения подходит для местного применения у млекопитающего, в частности у человека. Все компоненты в водной композиции для местного применения по изобретению должны быть подходящими для применения на поверхности рассматриваемого организма, то есть они должны быть одобрены для местного нанесения на поверхность организма в используемых концентрациях и/или быть дерматологически и косметологически приемлемыми.

Водную композицию для местного применения по настоящему изобретению можно вводить млекопитающему, предпочтительно человеку, посредством широкого диапазона форм для местного введения. В контексте настоящего изобретения композиции для местного применения являются накожными (epicutaneous), что означает, что их наносят непосредственно на кожу или слизистые оболочки.

Водная композиция для местного применения по изобретению может быть изготовлена в форме крема, капель, пены, геля, лосьона, мусса, мази (ointment), пасты, припарки, порошка, бальзама, сыворотки, спрея, загущенной композиции, зубной пасты или мази (unguent). В предпочтительном воплощении водная композиция для местного применения по изобретению выбрана из крема, геля или лосьона.

"Сухая композиция".

В контексте настоящего изобретения выражение "сухая композиция" предназначено для обозначения того, что пробиотические бактерии по настоящему изобретению изначально предоставлены в сухой композиции, которая измельчена в порошок, имеющий активность воды не более чем 0,30 и распределение размера частиц в области меньше 500 мкм. В одном воплощении предложена водная композиция для местного применения по изобретению, где указанная сухая композиция имеет диаметр частиц не более чем 500 мкм, например не более чем 400 мкм, например не более чем 300 мкм, например не более чем 200 мкм, например не более чем 150 мкм, например не более чем 100 мкм. В предпочтительном воплощении указанная сухая композиция имеет диаметр частиц не более чем 200 мкм. Указанную сухую композицию изготавливают традиционными способами сушки вымораживанием и/или сушки распылением с последующим традиционным размалыванием и просеиванием для получения желаемого распределения размера частиц в области меньше 500 мкм.

Сухая композиция по настоящему изобретению содержит бактерии в высушенной форме, которые могут быть получены, например, путем сушки вымораживанием, сушки распылением или лиофилизацией.

Перед тем как бактерии высушивают, например сушат вымораживанием, обычно их смешивают с криопротектором для получения высокой жизнеспособности. Термин "криопротектор" используют в контексте настоящего изобретения для определения вещества, способного улучшать выживаемость во время замораживания и/или высушивания и для улучшения стабильности бактерий при хранении. Криопротектор, используемый здесь, предпочтительно содержит сахарид.

Сахарид может представлять собой моно-, ди-, олиго- или полисахарид или смесь по меньшей мере двух сахаридов. Полезные моносахариды включают глюкозу (также известную как декстроза), фруктозу, рибозу и галактозу, и полезные дисахариды среди прочих включают сахарозу, трегалозу, мальтозу и лактозу. Композиция может содержать один или более чем один моно- или дисахарид, например один, два или три или даже больше различных сахаридов.

В качестве примера криопротектор может содержать смесь дисахаридов, например сахарозы, и полисахарида, например мальтодекстрина.

Криопротектор может дополнительно содержать пептид, белок, белковый гидролизат или их смесь. Примеры пептидов и белков для применения могут представлять собой казеин, горох, сыворотку, альбумин, соевый белок, глутаминовую кислоту или желатин, и любой их изолят или гидролизат. Также могут присутствовать другие добавки, например антиоксиданты, такие как аскорбат, цитрат натрия, пропиленгликоль.

Сухую композицию по настоящему изобретению можно определить как "не имеющую доступной воды" и "по существу не содержащую воды", и эти выражения используют взаимозаменяемо, и они предназначены для обозначения того, что вода, присутствующая в первом отсеке, содержащем жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, не способна сольватировать пробиотические бактерии, потому что вода присутствует в слишком маленьком количестве. Также это означает, что активность воды составляет не более чем 0,30, например не более чем 0,20, например не более чем 0,15 в сухой композиции. Предпочтительно активность воды составляет не более чем 0,30 в сухой композиции по настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения термин "безводные" в отношении жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий обозначает жизнеспособные пробиотические бактерии, по существу не содержащие воды. В частности для таких жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий существенное количество воды не было добавлено, и количество несвязанной воды в жизнеспособных бактериях по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий очень мало. Некоторые компоненты в пробиотических бактериях могут включать некоторое количество связанной воды, то есть кристаллизованной воды в форме гидратов или Сахаров, которые имеют присоединенную к ним воду. Однако эта вода не является доступной непосредственно для участия в реакциях гидролиза с компонентами, чувствительными к воде, такими как лиофилизированные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий. В предпочтительных воплощениях безводные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий по настоящему изобретению содержат менее 20% (мас./мас.) воды, например менее 16% (мас./мас.) воды, например менее 12% (мас./мас.) воды, например менее 8% (мас./мас.) воды, например менее 7% (мас./мас.) воды, например менее 6% (мас./мас.) воды, например менее 5% (мас./мас.) воды, например менее 4% (мас./мас.) воды, 3% (мас./мас.), 2% (мас./мас.), 1,5% (мас./мас.), 1% (мас./мас.),

0,5% (мас./мас.), например менее 0,2% (мас./мас.) воды относительно общей массы композиции. Предпочтительно количество воды, добавленной к безводным жизнеспособным бактериям по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, составляет менее 3% (мас./мас.), например менее 2% (мас./мас.), 1% (мас./мас.), 0,5% (мас./мас.), например менее 0,1% (мас./мас.).

"Активность воды".

В контексте настоящего изобретения термины "активность воды" или " $a_w$ " обозначают парциальное давление паров воды в веществе, деленное на парциальное давление паров воды в стандартном состоянии. Чистая дистиллированная вода имеет активность воды, равную точно единице. С повышением температуры  $a_w$  обычно увеличивается.

"Жизнеспособные/жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий".

В контексте настоящего изобретения термин "жизнеспособные" предназначен для обозначения того, что пробиотические бактерии по настоящему изобретению способны к нормальному росту и развитию, то есть термин "жизнеспособные" в отношении бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий обозначает, что пробиотические бактерии являются жизнеспособными и следовательно способными к нормальному росту и развитию. В настоящем изобретении жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий высушены таким образом, чтобы сохранить пробиотические бактерии жизнеспособными. В данной области техники хорошо известно несколько способов получения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий.

"Буферы".

В контексте настоящего изобретения термин "буфер" обозначает кислоту или основание, используемую(ое) для поддержания кислотности (рН) раствора вблизи от выбранного значения после добавления другой(ого) кислоты или основания. Следовательно буферы поддерживают равновесие рН водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, чтобы сделать композицию менее раздражающей. Один или более чем один буфер выбран из буферов с рКа в диапазоне 2-9, например 2-7. Предпочтительные в настоящее время буферы представляют собой одновалентные катионы. Даже в еще более предпочтительном воплощении изобретения один или более чем один буфер выбран из одновалентных катионов карбонатов, аскорбатов, фосфатов, малатов, цитратов, тартратов, например бикарбоната натрия, малата натрия, тартрата натрия, тартрата калия, карбоната натрия и безводного трехзамещенного цитрата натрия. Однако другие способы подведения рН в водной композиции для местного применения также могут быть допустимы. В качестве примера, триэтанолламин и гидроксид натрия могут быть полезны для определенных воплощений.

В одном воплощении один или более чем один буфер присутствует в сухой композиции и/или его добавляют к смешиваемому с водой растворителю, когда желательно контролировать рН на определенном уровне. Это может быть важно для контролирования вязкости при использовании, например, определенных карбомеров согласно настоящему изобретению. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения один или более чем один буфер присутствует в конечном продукте, то есть водной композиции для местного применения по изобретению.

Буфер является важным для функционирования карбомера в настоящем изобретении, поскольку карбомер имеет низкую вязкость при низком рН, поскольку тогда карбомеры не набухают (абсорбируют и удерживают воду). Когда рН повышается, карбомер набухает и таким образом повышает вязкость. Тем не менее буфер в присутствии карбомера обеспечивает возможность контролировать вязкость.

"Смешивающийся с водой растворитель".

В контексте настоящего изобретения выражение "смешивающийся с водой растворитель" обозначает растворитель, который может смешиваться с водой без какого-либо разделения фаз. В частности, смешивающиеся с водой растворители включают гидрофильные растворители. Такие растворители включают, например, низшие алкиловые спирты, гидрофильные органические растворители и воду. Гидрофильное вещество представляет собой молекулу или другую молекулярную структуру, которая притягивается к молекулам воды и имеет тенденцию к растворению в воде. В контексте настоящего изобретения выражение "алкиловый спирт" обозначает в самом широком смысле органический спирт, состоящий из разветвленной или линейной алкильной цепи и присоединенной к ней одной или более чем одной гидроксильной группы. Таким образом, в предпочтительном воплощении смешивающийся с водой растворитель выбран из группы, состоящей из  $C_2$ - $C_5$ -алкилового спирта, глицерина, полиэтиленгликоля, пропиленгликоля и  $C_2$ - $C_5$ -гликоля. В особенно предпочтительном воплощении смешивающийся с водой растворитель представляет собой одно или более чем одно из воды, глицерина, полиэтиленгликоля и/или пропиленгликоля. Даже в еще более предпочтительном воплощении указанный смешивающийся с водой растворитель представляет собой воду. Количество указанной воды составляет по меньшей мере 60% (мас./мас.), например по меньшей мере 65% (мас./мас.), например по меньшей мере 70% (мас./мас.), например по меньшей мере 75% (мас./мас.), например по меньшей мере 80% (мас./мас.), например по меньшей мере 85% (мас./мас.), например по меньшей мере 90% (мас./мас.), например по меньшей мере 95% (мас./мас.) в указанной смеси по изобретению или в указанной водной композиции для местного применения по изобретению. В примерах настоящего изобретения указанный смешивающийся с водой

растворитель представляет собой воду в количестве более чем 90% (мас./мас.) от водной композиции для местного применения по изобретению. В предпочтительном воплощении кислоту или основание можно добавлять к смешивающемуся с водой растворителю для подведения pH.

"Загуститель".

Термин "загуститель" согласно настоящему изобретению определен как соединение, способное увеличивать вязкость водной композиции для местного применения, как определено здесь. Доступная в продаже гомогенная водная композиция для местного применения, как определено здесь, для местного нанесения изготовлена с подходящей вязкостью для нанесения непосредственно перед использованием. Подходящие загустители выбраны из одного или более чем одного соединения из полиакриловой кислоты (карбомера) или ее производных или других быстро загустевающих полимеров, например гиалуроновой кислоты, желатина, пектина, каррагинана и метилцеллюлозы. Предпочтительные загустители выбраны из одного или более чем одного из полимеров, карбомера, полоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты. В еще более предпочтительном воплощении загустители выбраны из одного или более чем одного типа сомономеров акриловой кислоты и C10-30-алкилакрилата и поперечно сшитого сополимера полиакриловой кислоты.

Растворы карбомера обладают важным свойством, которое заключается в том, что они способны абсорбировать и удерживать воду и набухать с увеличением объема во много раз относительно их исходного объема. Степень набухания зависит от pH раствора, так что желатинирование происходит, когда pH повышается выше определенной точки, в зависимости от определенного карбомера, который используют. Таким образом, если водная композиция для местного применения по настоящему изобретению содержит карбомер и имеет pH, при котором он набухает, указанная водная композиция для местного применения будет иметь вязкость, которая делает ее подходящей для местного нанесения.

Растворы полоксамера обладают важным свойством, которое заключается в том, что они демонстрируют зависимое от температуры поведение самосборки и терможелатинирования. Это означает, что водные растворы полоксамеров являются жидкими при низкой температуре и образуют гель при более высокой температуре в обратимом процессе. Таким образом, если водная композиция для местного применения по настоящему изобретению содержит полоксамер, указанная водная композиция для местного применения будет иметь низкую вязкость при низкой температуре, например при хранении водной композиции для местного применения в холодильнике. Подобным образом, если указанную водную композицию для местного применения хранят при комнатной температуре, указанная водная композиция для местного применения будет иметь вязкость, которая делает ее подходящей для местного применения.

В предпочтительном воплощении один или более чем один загуститель присутствует в смешивающемся с водой растворителе, возможно, с подведенным pH. Даже в еще более предпочтительном воплощении один или более чем один загуститель представляет собой один или более чем один карбомер, присутствующий в смешивающемся с водой растворителе. В альтернативном воплощении один или более чем один загуститель представляет собой один или более чем один полоксамер, присутствующий в смешивающемся с водой растворителе.

"Смесь".

Согласно настоящему изобретению термин "смесь" определен как смесь, полученная при смешивании по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя по меньшей мере с одним загустителем и, возможно, буфером или другими компонентами, как определено здесь, для получения загустевшей смеси, то есть имеющей большую вязкость, чем по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель сам по себе.

"Вязкость".

Динамическая вязкость смешивающегося с водой растворителя должна принимать значения от низких до средних, и он должен быть текучим, то есть предпочтительно иметь вязкость менее 2500 сП (мПа·с), когда ее измеряют при 20 об/мин при 20°C/60% ОВ, например менее 2400 сП (мПа·с), например менее 2200 сП (мПа·с), например менее 2000 сП (мПа·с), например менее 1000 сП (мПа·с). Когда смешивающийся с водой растворитель смешивают с сухой композицией, вязкость смеси увеличивается в 3-1000 раз и принимает значения от средних до высоких, то есть 2500 сП (мПа·с) или более, когда ее измеряют при 20 об/мин при 20°C/60% ОВ, более предпочтительно более 5000 сП (мПа·с), когда ее измеряют при 20 об/мин при 20°C/60% ОВ. Вязкость измеряют с использованием стандартного лабораторного вискозиметра Brookfield. Даже еще более точное измерение можно провести с использованием гибридного реометра HR-1 Discovery от TA Instruments с 40 мм параллельной пластиной на стальной пластине Пельтье с постоянной скоростью сдвига 2,0 с<sup>-1</sup>.

"Колониеобразующие единицы (КОЕ)."

В контексте настоящего изобретения термин "КОЕ" предназначен для обозначения "колониеобразующей единицы", и число колониеобразующих единиц на грамм продукта (КОЕ/г) может быть измерено, как раскрыто в разделе "Примеры". Большинство гелей, лосьонов и кремов имеют плотность от 0,9 г/мл до 1,1 г/мл, следовательно КОЕ/г для всех практических целей идентичен КОЕ/мл, и значения для одного сравнимы со значениями для другого главным образом для композиций на водной основе.

"Масла и воска".

В контексте настоящего изобретения "масла и воска", представляющие собой подгруппу гидрофобных соединений, как эти термины используют здесь, представляют собой растительные и/или минеральные масла и/или воска. В одном воплощении масла и воска для применения в композиции по изобретению выбраны из масел и восков, которые являются твердыми или жидкими при комнатной температуре.

Масла и воска, которые являются жидкими при комнатной температуре, могут быть выбраны из одного или более чем одного из этилолеата, масла эномеры, масла виноградных косточек, гидрогенизированного растительного (пальмового) масла, изопропилизостеарата, изопропилмиристата, изопропилпальмитата, масла (семян) жожоба, жидкого ланолина, масла макадамии, среднецепочечных триглицеридов, оливкового масла, парафинового масла/минерального масла, масла семян граната, масла семян рапса, масла из рисовых отрубей, масла шиповника, сафлорового масла, кунжутного масла, масла орехов ши, соевого масла, подсолнечного масла, масла из сладкого миндаля, тримиристина, трипальмитина, тристеарина и масла авокадо. В предпочтительном воплощении масло или воск, которые являются жидкими при комнатной температуре, выбраны из одного или более чем одного из парафинового масла, миндального масла и масла жожоба. В еще более предпочтительном воплощении масло и воска, которые являются жидкими при комнатной температуре, представляют собой парафиновое масло.

Масла и воска, которые являются твердыми при комнатной температуре, как используют здесь, выбраны из одного или более чем одного из анионоактивного эмульгирующего воска, канделильского воска, карнаубского воска, цетилпальмитата, масла какао, гуммиарабика, твердого жира, микрокристаллического воска, неионного эмульгирующего воска, парафина, масла ши, искусственного пчелиного воска, белого воска, ксантановой камеди, воска подсолнечника.

В предпочтительном воплощении масло или воск, которые являются твердыми при комнатной температуре, выбраны из одного или более чем одного из анионоактивного эмульгирующего воска, канделильского воска, карнаубского воска, микрокристаллического воска, неионного эмульгирующего воска, искусственного пчелиного воска, белого воска и/или воска подсолнечника. В даже еще более предпочтительном воплощении, масло и воска, которые являются твердыми при комнатной температуре, выбраны из одного или более чем одного из цетилпальмитата, масла какао, гуммиарабика, твердого жира, парафина, масла ши и/или ксантановой камеди.

В еще более предпочтительном воплощении используют комбинацию жидких и твердых масел и восков, такую как комбинация по меньшей мере одного твердого масла и по меньшей мере одного жидкого масла, такую как комбинация по меньшей мере двух жидких масел и по меньшей мере одного твердого масла или наоборот, такую как комбинация по меньшей мере трех жидких масел и по меньшей мере одного твердого или наоборот.

"Устройство для доставки".

В контексте настоящего изобретения термин "устройство для доставки" предназначен для обозначения устройства, подходящего для доставки жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий пользователю устройства. Более точно, устройство для доставки включает первый и второй отсеки, которые обеспечивают интерфейс между устройством для доставки и пользователем.

Согласно настоящему изобретению по меньшей мере один тип пробиотических бактерий должен быть защищен от загрязнения и/или влаги в герметически закрытом отсеке (под названием "первый отсек"), что таким образом обеспечивает стабильную окружающую среду для длительного хранения пробиотиков. Аналогично, по меньшей мере один смешивающийся с водой растворитель должен быть защищен от загрязнения извне в отдельном герметически закрытом отсеке (под названием "второй отсек"), что таким образом обеспечивает стабильную окружающую среду для длительного хранения смешивающегося с водой растворителя. Следовательно, как только пользователь готов использовать водную композицию для местного применения по изобретению, изолирующие слои обоих отсеков разрушают, и содержимое отсеков смешивается. В одном воплощении изобретения смешивание может быть выполнено в первом отсеке или во втором отсеке. Также смешивание может быть выполнено в третьем отсеке, подходящем для такого смешивания, таком как чашка, стакан и ложка, или в руке.

Если смешивание выполняют в первом отсеке, тогда первый отсек также служит в качестве устройства для доставки пользователю устройства. Если смешивание выполняют во втором отсеке, тогда второй отсек также служит в качестве устройства для доставки пользователю устройства. Если смешивание выполняют в третьем отсеке, подходящем для получения и смешивания содержимого первого и второго отсеков, тогда третий отсек служит в качестве устройства для доставки пользователю устройства.

В предпочтительном воплощении первый и второй отсеки соединены друг с другом во время хранения, смешивания и доставки пользователю устройства. В альтернативном воплощении первый, второй и третий отсеки соединены друг с другом во время хранения, смешивания и доставки пользователю устройства.

В другом предпочтительном воплощении первый и второй отсеки представляют собой отдельные объекты, и смешивание выполняют в третьем подходящем отсеке, таком как чашка, стакан и ложка, или в руке.

В альтернативном воплощении элемент для доставки, например такой как помпа, может быть расположен на первом, или втором, или третьем отсеке и быть приспособленным для получения смеси жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий из первого отсека и по меньшей мере одного смешивающегося с водой растворителя из второго отсека.

В некоторых воплощениях элемент для доставки сконструирован таким образом, что его можно проталкивать в первый, или второй, или третий отсек (плотная посадка (push fit)). В некоторых воплощениях элемент для доставки сконструирован таким образом, что он может быть шарнирно сочленен с первым, или вторым, или третьим отсеком. В некоторых воплощениях элемент для доставки устроен таким образом, что он может быть закручен в первый, или второй, или третий отсек. В предпочтительном воплощении элемент для доставки представляет собой либо первый, либо второй отсек.

Устройство для доставки или отсек по настоящему изобретению может дополнительно содержать по меньшей мере одно отверстие для высвобождения содержимого в окружающую среду. Такие отверстия могут подходить к верхней части отсека по изобретению, и крышка может защищать содержимое отсеков от загрязнения из окружающей среды и предупреждать утечку летучих веществ в окружающую среду.

"Отсек".

В контексте настоящего изобретения наружная оболочка устройства для доставки здесь обозначена термином "отсек". В одном воплощении существует не более чем один отсек, который полностью покрывает второй отсек, однако предпочтительно 2 отсека существуют отдельно, например 3, например 4. Предпочтительно, первый и второй отсеки существуют, как описано здесь, либо отдельно, либо плотно соединены элементом для доставки, либо соединены друг с другом таким образом как описано здесь, например многоразовой крышкой. Отсек представляет собой компонент, который пользователь держит для использования устройства для доставки. Также отсек сам по себе может служить в качестве устройства для доставки. Отсек обеспечивает защиту содержимого внутри отсека от приведения в контакт с окружающей средой, то есть отсек может защищать содержимое отсека от загрязнений из окружающей среды и предупреждать утечку веществ в окружающую среду. В одном воплощении изобретения отсек содержит осушитель.

В воплощениях изобретения отсек изготовлен из подходящих материалов, таких как резина, пластик (PE, PET), стекло или металл, такой как алюминий или сталь. Также материалы могут быть покрыты например металлом с жаропрочным покрытием, таким как резиновое или пластиковое покрытие. Материал корпуса также может образовывать саше, ампулу или им подобное.

Отсек может иметь высоту менее 20 см, например менее 15 см, предпочтительно менее 12 см, например менее 10 см, например менее 8 см, например менее 6 см, например менее 4 см, и диаметр менее 6 см, например менее 5 см, например менее 4 см, например менее 2 см.

"Относительная влажность (ОВ)".

В контексте настоящего изобретения термин "ОВ" предназначен для обозначения "Относительной влажности" и обозначает отношение парциального давления водяного пара к равновесному давлению пара воды при определенной температуре.

"Активные компоненты".

В контексте настоящего изобретения термин "активный компонент" определен как одно или более чем одно соединение, выбранное из группы витаминов, минералов, антисептиков, консервантов, солнцезащитных агентов, влагочувствительных агентов или различных других агентов. Витамины могут быть выбраны из витамина А, например сложных эфиров ретинола/ретинила, витамина В, например никотирамида/ниацина, витамина D, например витамина D3, и/или витамина Е, например различных типов токоферола, например d- $\alpha$ -Токоферола, d1- $\alpha$ -Токоферола,  $\gamma$ -токоферола или токотриенолов. Минералы могут быть выбраны из цинка и фтора.

Антибактериальные агенты/антисептики могут быть выбраны из салициловой кислоты, азелаиновой кислоты, пероксида бензоила. Антисептики для применения по настоящему изобретению не должны убивать пробиотические бактерии по настоящему изобретению или ингибировать их рост, когда пробиотические бактерии находятся в сухом состоянии, то есть имеют активность воды не более чем 0,3. Также в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению антисептики не должны убивать пробиотические бактерии или ингибировать их рост.

Консерванты могут быть выбраны из консервантов, хорошо известных в области техники, таких как сорбиновая кислота, сорбат натрия, бензойная кислота, бензоат натрия и бензоаты гидроксibenзоат, молочная кислота, пропионовая кислота, пропионат натрия и парабены, например один или более чем один из метилпарабена, этилпарабена, пропилпарабена, бутилпарабена, гептилпарабена, изобутилпарабена, изопропилпарабена, бензилпарабена и их натриевых солей. В одном воплощении изобретения предпочтительный консервант выбран из одного или более чем одного из сорбиновой кислоты или бензойной кислоты. Предпочтительно консерванты будут содержаться во втором отсеке, то есть в смешивающемся с водой растворителе.

Солнцезащитные агенты могут быть выбраны из парааминобензойной кислоты, Padimate O, фенилбензимидазол сульфоновой кислоты, Циноксата, Диоксibenзона, Оксibenзона, Гомосалата, Ментилан-

транилата, Октокрилена, Октилметоксициннамата, Октилсалицилата, Сулисобензона, Троламина салицилата, Авобензона, Экамсула, диоксида титана, оксида цинка, 4-метилбензилиден камфоры, Parsol Max, Tinosorb M, Parsol Shield, Tinosorb S, Tinosorb A2B, Neo Heliopan AP, Mexoryl XL, Бензофенона-9, Uvinul T 150, Uvinul A Plus, Uvasorb HEB, Parsol SLX, Амилоксата.

Различные другие агенты могут быть выбраны из аргинина, клюквы, масла чайного дерева, ксилита или экстрактов, таких как экстракты из алоэ вера, ромашки, расторопши, грецкого ореха, гаммелиса, высушенного лопуха, высушенной лакрицы или шалфея.

Влагочувствительные агенты/агенты, чувствительные к активной воде, могут быть выбраны из ферментов протеиназ/протеаз, таких как папаин, бромелаин и актинидии. Влагочувствительные агенты определены как соединения, которые теряют свою активность при контакте с водой.

"Осушитель".

В контексте настоящего изобретения термин "осушитель" обозначает гигроскопичное вещество, которое индуцирует или поддерживает вблизи от себя состояние сухости (обезвоживания). Подходящие осушители выбраны из одного или более чем одного из активированного угля, сульфата кальция (дрие-рит), цеолитов, безводного хлорида кальция, бентонита/глины, оксида кальция, сульфата кальция, молекулярного сита и силикагеля. Осушители могут быть представлены в форме саше или пористого пакета, и диоксид кремния представляет собой хорошо известный тип осушителя, который является подходящим в контексте настоящего изобретения. Наиболее предпочтительный осушитель представляет собой молекулярное сито и/или силикагель. Другие предпочтительные осушители выбраны из одного или более чем одного из безводного хлорида кальция, бентонита/глины, оксида кальция, сульфата кальция, молекулярного сита и силикагеля.

В одном воплощении изобретения осушитель встроен в первый отсек, например представляет собой встроенную часть внутренних стенок первого отсека. Дополнительно, первый отсек может представлять собой саше, имеющее покрытие из осушителя с внутренней стороны. В альтернативном воплощении осушитель встроен в первый отсек путем снабжения его встроенным осушительным пластиковым рукавом. В другом воплощении изобретения осушитель может содержаться в первом отсеке, содержащем один или более чем один тип пробиотических бактерий или один или более чем один влагочувствительный агент.

"Гидрофобные соединения".

В контексте настоящего изобретения термин "гидрофобные соединения", как его используют здесь, представляют собой соединения, которые являются неполярными и, таким образом, "предпочитают" другие природные нейтральные молекулы и неполярные растворители.

Примеры гидрофобных соединений включают алканы, масла, жиры и жирные вещества в целом.

"Эмульгаторы".

В контексте настоящего изобретения "эмульгатор" представляет собой соединение, способное уменьшать поверхностное натяжение (или натяжение на поверхности раздела) между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым веществом. Согласно настоящему изобретению эмульгатор способен уменьшать поверхностное натяжение между одним или более чем одним смешивающимся с водой растворителем по изобретению и одним или более чем одним гидрофобным соединением по изобретению для обеспечения водной композиции для местного применения как определено здесь. Поверхностно-активные вещества могут действовать как детергенты, смачивающие агенты, эмульгаторы, пенообразователи и диспергирующие агенты, и они выбраны из одного или более чем одного из алкил(C<sub>12-15</sub>)бензоата, каприл/капрамидопропилбетаина, cetareth-25, цетомакрогола, эмульгирующего воска, цетомакрогола-1000, цетостеарилового спирта, цетилового спирта, воска цетиловых эфиров, цетилпальмитата, цетил ПЭГ/ППГ (полипропиленгликоль)-10/1 диметикона, эмульгирующего воска, этилолеата, моноглицеридов, например глицерол моностеарата, глицерол монопальмитата, глицерол моноолеата, диглицеридов, например глицерол диолеата, глицерол дипальмитата, глицерол дистеарата, моно- и диглицеридов, например глицерил бегената, глицерол стеарата, глицерол лаурата, глицерол пальмитата, моно-, ди- и триглицеридов, например глицерил бегената, глицерол стеарата, глицерол лаурата, глицерол пальмитата, гидрогенизированных кокоглицеридов, цетостеарилового эфира макрогола, глицерол рициноолеата макрогола, лаурилового эфира макрогола, олеилового эфира макрогола, макрогол стеарата, стеарилового эфира макрогола, метилглюкозы изостеарата, ПЭГ-120 метилглюкозы диолеата, ПЭГ-100 стеарата, полиглицерил изостеарата, полиглицерил олеата, стеарилового эфира полиоксипропилена, полисорбата 20, полисорбата 60, полисорбата 80, пропиленгликоля дикаприлата/капрата, рициноламидо-пропил бетаина, сорбитан изостеарата, сорбитан лаурата, сорбитан олеата, сорбитан сесквилата (sesquilate), сорбитан стеарата, сорбитан триолеата, steareth-2, стеарилового спирта, сахарозы стеарата, сахарозы пальмитата, сахарозы бегената, сахарозы миристата, сахарозы лаурата, сахарозы олеата, сахарозы эруката, эфира смешанных жирных кислот и сахарозы, ундециленамидопропил бетаина, сложных эфиров моно- и диглицеридов и лимонной кислоты, цитрированный (citric) глицерол моноолеата, цитрированный (citric) глицерол моностеарата, сложных эфиров моно-и диглицеридов и молочной кислоты, высокомолекулярных сополимеров акриловой кислоты, C<sub>10</sub>-C<sub>30</sub>-алкилакрилата, поперечно сшитого с аллил пентаэритритолом, глицерил бегената и/или глицерол стеарата.

В предпочтительном воплощении эмульгатор выбран из одного или более чем одного из моноглицеридов, диглицеридов, триглицеридов, сложных эфиров моно- и диглицеридов и лимонной кислоты, глицерил бегената/или глицерол стеарата и, высокомолекулярных сополимеров акриловой кислоты, C<sub>10</sub>-C<sub>30</sub>-алкилакрилата, поперечно сшитого с аллилпентаэритритола. В еще даже более предпочтительном воплощении указанный эмульгатор выбран из одного или более чем одного из глицерилбегената или глицерол стеарата.

В предпочтительном воплощении эмульгатор присутствует только в смешивающемся с водой растворителе.

"Конфигурация выступ-впадина".

В конфигурации выступ-впадина "впадина" обычно получает и удерживает "выступ". Часть, несущую один или более чем один выступ или фитинг внутри другой, обозначают как "выступ", в то время как часть, содержащую соответствующие углубления или фитинги снаружи другой, обозначают как "впадину".

Конфигурация выступ-впадина представляет собой конфигурацию, где два механических элемента, здесь первый отсек для удержания жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и второй отсек для удержания смешивающегося с водой растворителя совмещены таким образом, что по меньшей мере часть одного элемента, например первый отсек, получил часть другого элемента, например средство для удержания гидрофобной фазы, как например в конфигурации замок/ключ или розетка/вилка. В одном воплощении конфигурация выступ-впадина адаптирована в форме палочки (stick) или флакона с крышкой, предпочтительно многоразовой крышкой.

В настоящем изобретении первый отсек может содержать как часть-"впадину", так и часть-"выступ". Таким же образом средство для удержания гидрофильной фазы, то есть второй отсек также может содержать как часть-"впадину", так и часть-"выступ". Часть-"впадина" средства для удержания гидрофильной фазы может быть комплементарна части-"выступу" первого отсека, и часть-"выступ" средства для удержания гидрофильной фазы может быть комплементарна части-"впадине" первого отсека.

"Плотно подогнанная конфигурация".

В некоторых воплощениях конфигурация выступ-впадина первого отсека и средство для удержания гидрофильной фазы, то есть второй отсек, составляют плотно подогнанную конфигурацию.

Плотная посадка представляет собой посадку механических частей без зазора, например самую плотную посадку, которая может быть собрана для частей, для которых не предполагается движение друг относительно друга. Преимущество плотно подогнутой конфигурации заключается в обеспечении максимальной защиты от протекания между поверхностями, которые находятся в контакте друг с другом.

"Жизнеспособные в водной композиции для местного применения".

В контексте настоящего изобретения выражение "жизнеспособные в водной композиции для местного применения" предназначено для обозначения способности пробиотических бактерий сохранять жизнеспособность в водной композиции для местного применения в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в течение по меньшей мере 5 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например в течение по меньшей мере 20 минут при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 1 час при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 12 часов при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 24 часа при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 2 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 3 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 5 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 6 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 8 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 9 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 10 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C, например по меньшей мере 10-14 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ или 5°C.

"Процент мас./мас. или % (мас./мас.)".

В контексте настоящего изобретения выражения "процент мас./мас." или "% (мас./мас.)" используются взаимозаменяемо, и они обозначают процентное содержание компонента или ингредиента по сравнению с общей массой композиции, то есть массой конечной композиции, если не указано иное. В определенных случаях эти выражения могут относиться к массовой доле относительно промежуточной композиции.

Если не указано иное все технические и научные термины, используемые здесь, имеют такие же значения, как обычно понимают специалисты в данной области техники. Хотя любые способы и материалы, эквивалентные или похожие на таковые, описанные здесь, можно использовать при практическом

применении настоящего изобретения, описаны типичные способы и материалы. Все способы, описанные здесь, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если здесь не указано иное, или если это иным образом очевидно не противоречит контексту.

Имена существительные, использованные при описании изобретения (особенно в формуле изобретения), следует рассматривать как охватывающие как единственное, так и множественное число, если здесь не указано иное, или если это очевидно не противоречит контексту. Термины "содержащий (comprising)", "имеющий", "включающий" и "содержащий (containing)" следует понимать как неограничивающие термины (то есть, обозначающие "включающий, но не ограниченный этим"), если не указано иное. Перечисление диапазонов здесь предназначено служить исключительно в качестве условного обозначения индивидуальной ссылки на каждое отдельное значение, попадающего в этот диапазон, если здесь не указано иное, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было индивидуально перечислено здесь. Все способы, описанные здесь, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если здесь не указано иное, или если это иным образом очевидно не противоречит контексту.

Использование любых и всех примеров, или вводных слов перед примером (например, "например", "такой как"), использование здесь, предназначено исключительно для лучшего объяснения изобретения и не накладывает ограничения на объем изобретения, если не заявлено иное. Терминологию описания и формулы изобретения не следует рассматривать как указывающую на какой-либо не заявленный элемент, существенный для практического воплощения изобретения.

Следует заметить, что воплощения и признаки, описанные в контексте одного из аспектов настоящего изобретения, также применимы к другим аспектам настоящего изобретения.

Далее изобретение будет описано более подробно в следующих неограничивающих примерах.

### **Примеры**

Обзор примеров.

Примеры 1.1-1.3: Получение и стабильность водных гелей, содержащих пробиотические бактерии.

Пример 2: Получение и стабильность водного геля-лосьона, содержащего пробиотические бактерии.

Пример 3.1-3.2: Получение и стабильность сухих композиций, содержащих пробиотические бактерии.

Пример 4: Стабильность доступного в продаже продукта, содержащего бактерии.

Материалы и методы:

Обзор используемых эксципиентов и оборудования представлен в табл. 1, и типы используемых пробиотических бактерий представлены в табл. 2.

Используемые пробиотические бактерии представляют собой *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, *Esse Sensitive Serum* от *Esse skincare* была приобретена через интернет. *Esse Probiotic Serum* (Серия 18ADF) от *Esse skincare* была приобретена в торговой сети в Копенгагене.

## Экципиенты и оборудование

Торговая марка	Тип	Тип	Компания
Pemulen™ TR-1 NF	Карбомер	высокомолекулярные поперечноштитые сополимеры акриловой кислоты и гидрофобного C10-30 алкилакрилата сомономера	Lubrizol
Carbopol Ultrez® 10 NF	Карбомер	Поперечноштитый сополимер полиакриловой кислоты	Lubrizol
EMPROVE® exp Ph Eur	Буфер	Гидрокарбонат натрия	Merck KGaA
Esse Sensitive Serum	Esse Sensitive Serum (Серия 16AXCE, окончание срока годности сентябрь 2018 г.)	Масло семян жожоба, кунжутное масло, гидрогенизированное растительное масло, масло ши, изоамиллаурат, лактобациллы, токоферол, подсолнечное масло, аскорбилпальмитат, ванилин, гамма-декалактон.	Esse skincare
Esse Probiotic Serum	Esse Probiotic Serum (Серия 18ADF, окончание срока годности август 2019 г.)	Масло семян жожоба, кунжутное масло, масло ши, гидрогенизированное растительное масло, изоамиллаурат, масло семян марулы, лактобациллы, токоферол, подсолнечное масло, аскорбилпальмитат, ванилин, гамма-декалактон	Esse skincare
Carbopol ETD 2020 NF	Карбомер	Поперечноштитый сополимер полиакриловой кислоты	Lubrizol
Дигидрат трехзамещенного цитрата натрия	Буфер	Дигидрат трехзамещенного цитрата натрия	Jungbunzla uer
Парафиновое масло	Масло	Парафиновое масло	Henry Lamotte
Подсолнечное масло с высоким содержанием олеиновой кислоты	Масло	Подсолнечное масло с высоким содержанием олеиновой кислоты	ААК
Разбавитель максимального выхода (Maximum Recovery Diluent) (MRD)	Разбавитель максимального выхода (Maximum	Разбавитель максимального выхода Maximum Recovery Diluent (MRD)	Oxoid
Oxoid CM0733	Recovery Diluent (MRD)		
MRS Agar pH 6,2 (Oxoid CM0361)	MRS Agar pH 6,2	MRS Agar pH 6,2 (Oxoid CM0361)	Oxoid
Smasher, bioMérieux	Stomacher	Stomacher (Smasher)	bioMérieux
Цистеин, HCl (Merck 102839)	Цистеин, HCl	Цистеин, HCl (Merck 102839)	Merck
MColorpHast™	pH-индикаторные полоски 2,0 – 9,0		Merck KGaA

Таблица 2

## Штаммы

Тип	Торговая марка	Но в депозитории	Компания
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	LGG <sup>®</sup>	ATCC 53103	Chr. Hansen
<i>Lactobacillus paracasei</i>	F19 <sup>®</sup>	LMG-P-17806	Chr. Hansen
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i>	BB-12 <sup>®</sup>	DSM 15954	Chr. Hansen

Пример 1 - Получение и стабильность водного геля, содержащего пробиотические бактерии.

Таблица 3

## Состав трех различных полученных партий

Пример	1.1	1.2	1.3
Ингредиенты в мг или г на партию (% , г/100 г продукта-геля)			
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	4072,9 мг (4,1%)	-	-
<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	3,55 г (3,5%)	
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	-	-	3,79 г (3,79%)
Дигидрат трехзамещенного цитрата натрия	749,9 мг (0,75%)	0,75 г (0,75%)	0,75 г (0,75%)
Карбомер (Carbopol Ultrez <sup>®</sup> 10 NF)	1500,4 мг (1,5%)	1,51 г (1,5%)	1,51 г (1,5%)
Деминерализованная вода	93,64 г (93,7%)	94,5 г (94,2%)	93,87 (93,94%)
Общая масса ингредиентов	99,96 г (100%)	100,3 г (100%)	99,92 г (100%)

Пример 1.1 - Получение и стабильность водного геля, содержащего *Lactobacillus rhamnosus*.

Лиофилизированные *Lactobacillus rhamnosus* размалывали и затем просеивали через 200 мкм сито и хранили при -20°C. Порошок оставляли для акклиматизации перед взвешиванием размолотого материала, предназначенного для смешивания с водной фазой. Деминерализованную воду в стеклянной мензурке объемом 250 мл нагревали до кипения и затем охлаждали до комнатной температуры. Carbopol Ultrez<sup>®</sup> 10 NF взвешивали и медленно добавляли в воду при перемешивании на магнитной мешалке. Смесь оставляли вплоть до одного часа для полной гидратации карбомера. pH при измерении полосками составлял 2,5-3,0. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 1.1, представлено в табл. 3. *Lactobacillus rhamnosus* добавляли при интенсивном перемешивании для обеспечения полностью равномерного распределения; затем добавляли дигидрат трехзамещенного цитрата натрия при интенсивном перемешивании. Всю экспериментальную партию немедленно разделяли на порции в 2 флакона с винтовыми крышками. Один флакон помещали на 5°C±3°C. В моменты времени сутки 0, 3, 7 и 14 общее число клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Второй флакон помещали на 25°C±3°C/60±5% ОВ. В моменты времени сутки 0, 1, 2, 3 и 4 общее число клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). По 2 г продукта в тройных повторях перемешивали с 198 г Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:100. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующего 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результаты рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/г. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 4 и на фиг. 1а.

Сравнение температур и значений КОЕ/г, полученных при исследовании стабильности водного геля, содержащего *Lactobacillus rhamnosus*

Время, Сутки	Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)	
	5°C	25°C/ 60% ОВ
0	1,3E+10	1,3E+10
1	НД	9,1E+09
2	НД	1,0E+10
3	1,2E+10	8,4E+09
4	НД	7,1E+09
7	9,9E+09	-
14	7,1E+09	-

НД: не доступно.

Выводы из примера 1.1

Результаты, представленные на фиг. 1а, показывают стабильность 4,1% *Lactobacillus rhamnosus* в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению при 5°C (круги, верхняя кривая) и при 25°C/60% ОВ (квадраты, нижняя кривая). Очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, при 25°C/60% ОВ является очень хорошей, поскольку указанные *Lactobacillus rhamnosus* в количестве по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 4. Также очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, при 5°C даже лучше, поскольку указанные *Lactobacillus rhamnosus* в количестве по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 14.

Следовательно, было показано, что водная композиция для местного применения по настоящему изобретению обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Lactobacillus rhamnosus* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в водной окружающей среде, то есть по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ и по меньшей мере 14 суток при 5°C. Ограниченное уменьшение количества жизнеспособных клеток является неожиданным и очень перспективным для коммерческого продукта, содержащего водную композицию для местного применения по изобретению со сроком хранения по меньшей мере 14 суток при 5°C и по меньшей мере 4 суток при 25°C/60% ОВ.

Пример 1.2 - Получение и стабильность водного геля, содержащего *Lactobacillus paracasei*.

Лиофилизированные *Lactobacillus rhamnosus* размалывали и затем просеивали через 200 мкм сито и хранили при -20°C. Порошок оставляли для акклиматизации перед взвешиванием размолотого материала, предназначенного для смешивания с водной фазой. Деминерализованную воду автоклавировали и затем охлаждали до комнатной температуры. Карбомер отвешивали в колбу Blue Cap и добавляли воду в колбу Blue Cap при перемешивании на магнитной мешалке. Смесь оставляли на 2 суток для полной гидратации карбомера. рН, измеренный с помощью полосок, составляла 2,5-3,0. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 1.2, представлено в табл. 3. *Lactobacillus paracasei* добавляли при интенсивном перемешивании для обеспечения полностью равномерного распределения, затем добавляли дигидрат трехзамещенного цитрата натрия при интенсивном перемешивании. Всю экспериментальную партию немедленно разделяли на порции в 2 флакона с винтовыми крышками. Один флакон помещали на 5°C±3°C. В моменты времени сутки 0, 3, 7 и 14 общее число клеток *Lactobacillus paracasei* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Второй флакон помещали на 25°C±3°C/60±5% ОВ. В моменты времени сутки 0, 1, 2, 3, 4 и 7 общее число клеток *Lactobacillus paracasei* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus paracasei* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). По 2 г продукта в тройных повторах перемешивали с 198 г Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:100. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующего 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/г. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 5 и на фиг. 1б.

Сравнение температур и значений КОЕ/г, полученных при исследовании стабильности водного геля, содержащего *Lactobacillus paracasei*

Время, Сутки	Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)	
	5°C	25°C/ 60% ОВ
0	1,60E+10	1,60E+10
1	НД	1,10E+10
2	НД	7,70E+09
3	1,50E+10	7,9E+09
4	НД	6,6E+09
7	1,3E+10	4,3E+09
14	1,1E+10	НД

НД: не доступно.

Выводы из примера 1.2.

Результаты, представленные на фиг. 16, показывают стабильность 3,5% *Lactobacillus paracasei* в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению при 5°C (круги, верхняя кривая) и при 25°C (квадраты, нижняя кривая). Очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus paracasei*, при 25°C/60% ОВ является очень хорошей, поскольку указанные *Lactobacillus paracasei* в количестве по меньшей мере  $10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 7.

Также очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus paracasei*, при 5°C даже лучше, поскольку указанные *Lactobacillus paracasei* в количестве по меньшей мере  $10^{10}$  КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 14. Следовательно, было показано, что водная композиция для местного применения по настоящему изобретению обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Lactobacillus paracasei* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в водной окружающей среде, то есть по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ и по меньшей мере 14 суток при 5°C.

Пример 1.3 - Получение и стабильность водного геля, содержащего *Bifidobacterium animalis subsp lactis*.

Лиофилизированные *Bifidobacterium animalis subsp lactis* размалывали и затем просеивали через 200 мкм сито и хранили при -20°C. Порошок оставляли для акклиматизации перед взвешиванием размоленного материала, предназначенного для смешивания с водной фазой. Дигидрат трехзамещенного цитрата натрия хранили при комнатной температуре и его "акклиматизация" перед взвешиванием и смешиванием с жидкой фазой не требовалась. Деминерализованную воду автоклавировали и затем охлаждали до комнатной температуры. Карбомер отвешивали в колбу Blue Cap и добавляли воду в колбу Blue Cap при перемешивании на магнитной мешалке. Смесь оставляли на 2 суток для полной гидратации карбомера. рН, измеренная с помощью полосок, составляла 2,5 - 3,0. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 1.3, представлено в табл. 3. *Bifidobacterium animalis subsp lactis* добавляли при интенсивном перемешивании для обеспечения полностью равномерного распределения; затем добавляли дигидрат трехзамещенного цитрата натрия при интенсивном перемешивании. Всю экспериментальную партию немедленно разделяли на порции в 2 флакона с винтовыми крышками. Один флакон помещали на 5°C±3°C. В моменты времени сутки 0, 3, 7 и 14 общее число клеток *Bifidobacterium animalis subsp lactis* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Вторым флаконом помещали на 25°C±3°C/60±5% ОВ. В моменты времени сутки 0, 1, 2, 3, 4 и 7 общее число клеток *Bifidobacterium animalis subsp lactis* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г).

Общее число жизнеспособных клеток *Bifidobacterium animalis subsp lactis* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361) с добавлением 0,05% цистеина, HCl (Merck 102839). По 2 г продукта в тройных повторях перемешивали с 198 г Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:100. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/г. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 6 и на фиг. 2а.

Таблица 6

Сравнение температур и значений КОЕ, полученных при исследовании стабильности водного геля, содержащего *Bifidobacterium animalis subsp lactis*.

Время, Сутки	Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)	
	5°C	25°C/ 60% ОВ
0	2,8E+10	2,8E+10
1	НД	2,0E+10
2	НД	1,6E+10
3	1,8E+10	1,5E+10
4	НД	8,9E+09
7	1,6E+10	1,7E+09
14	6,5E+09	НД

НД: не доступно.

Выводы из примера 1.3.

Результаты представлены на фиг. 2а и показывают стабильность 3,79% *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению при 5°C (круги, верхняя кривая) и при 25°C (квадраты, нижняя кривая). Очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, при 25°C/60% ОВ является очень хорошей, поскольку указанные *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в количестве по меньшей мере 10<sup>9</sup> КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 7.

Также очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, при 5°C даже лучше, поскольку указанные *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в количестве по меньшей мере 10<sup>9</sup> КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 14. Следовательно, было показано, что водная композиция для местного применения по настоящему изобретению обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Bifidobacterium animalis subsp lactis* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в водной окружающей среде, то есть по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ и по меньшей мере 14 суток при 5°C.

Пример 2 - Получение и стабильность водного геля-лосьона, содержащего *Lactobacillus rhamnosus*.

Таблица 7

Состав полученного водного геля-лосьона

Пример	2
Ингредиенты в мг или г на партию (% , г/100 г продукта геля-лосьона)	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	4073 мг (4,1%)
Гидрокарбонат натрия	600 мг (0,6%)
Карбомер (Carbopol Ultrez® 10 NF)	0,99 г (1%)
Карбомер (Pemulen)	250 мг (0,25%)
Парафиновое масло	15,02 г (15%)
Деминерализованная вода	79,16 г (79%)
Общая масса ингредиентов	100 г

Для получения смеси автоклавированную деминерализованную воду при комнатной температуре смешивали с порошком карбомера, акриловым полимером, высокомолекулярными поперечносшитыми сополимерами акриловой кислоты и гидрофобным С10-30 алкилакрилат сомономером и парафиновым маслом, гомогенизировали в течение 15-20 секунд с помощью гомогенизатора (увеличивая скорость приблизительно от 3000 об/мин приблизительно до 15000 об/мин и обратно приблизительно до 3000 об/мин). рН, измеренный с помощью полосок, составила 2,5-3,0.

Вязкость, измеренная с использованием скорости сдвига 2,0 с<sup>-1</sup> при 25°C, составила приблизительно 200 мПа·с.

Лиофилизированные *Lactobacillus rhamnosus* взвешивали и добавляли к лосьону гидратированного карбомера и затем сильно встряхивали для обеспечения надлежащего перемешивания. Заметно увеличение вязкости в некоторой степени в течение 5-10 секунд после добавления лиофилизированных бактерий, гидрокарбонат натрия взвешивали и добавляли в смесь. Вязкость еще увеличивалась в те-

ние 20-30 секунд.

Вязкость, измеренная с использованием скорости сдвига  $2,0 \text{ c}^{-1}$ , при  $25^\circ\text{C}$  составила приблизительно 60000 мПа·с.

Полученный pH, измеренный с помощью полосок, составила 4,0-4,5. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 2, представлено в табл. 7.

Всю экспериментальную партию немедленно разделяли на порции в 2 флакона с винтовыми крышками. Один флакон помещали на  $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ . В моменты времени сутки 0, 3, 7 и 14 общее число клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г). Второй флакон помещали на  $25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C} / 60 \pm 5\% \text{ ОВ}$ . В моменты времени сутки 0, 1, 2, 3, 4, 7 и 14 общее число клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта-геля (КОЕ/г).

Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта геля-лосьона (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). По 2 г продукта в тройных повторях перемешивали с 198 г предварительно нагретого ( $45^\circ\text{C}$ ) Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) с добавлением 1% Tween 80 в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bio-Mérieux), получая разведение 1:100. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при  $37^\circ\text{C}$  в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/г. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 8 и на фиг. 2б.

Таблица 8

Сравнение температур и значений КОЕ, полученных при исследовании стабильности водного лосьона, содержащего *Lactobacillus rhamnosus*

Время, Сутки	Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)	
	$5^\circ\text{C}$	$25^\circ\text{C}/60\% \text{ ОВ}$
0	$1,5\text{E}+10$	$1,5\text{E}+10$
1	НД	$1,7\text{E}+10$
2	НД	$1,4\text{E}+10$
3	$1,6\text{E}+10$	$1,4\text{E}+10$
4	НД	$1,3\text{E}+10$
7	$1,5\text{E}+10$	$1,2\text{E}+10$
14	$1,4\text{E}+10$	$1,0\text{E}+10$

НД: не доступно.

Выводы из примера 2.

Результаты представлены на фиг. 2б и в табл. 8 и показывают стабильность 4,1% *Lactobacillus rhamnosus* в водной композиции для местного применения по настоящему изобретению при  $5^\circ\text{C}$  (круги, верхняя кривая) и при  $25^\circ\text{C}/60\% \text{ ОВ}$  (квадраты, нижняя кривая).

Очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, изготовленной в форме геля-лосьона, при  $25^\circ\text{C}/60\% \text{ ОВ}$  является неожиданно хорошей, поскольку указанные *Lactobacillus rhamnosus* в количестве по меньшей мере  $1 \times 10^{10}$  КОЕ/г являются жизнеспособными на сутки 14.

Также очевидно, что стабильность водной композиции для местного применения по настоящему изобретению, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, при  $5^\circ\text{C}$  является такой же хорошей, поскольку указанные *Lactobacillus rhamnosus* в количестве по меньшей мере  $1 \times 10$  КОЕ/г, изготовленные в форме геля-лосьона, являются жизнеспособными на сутки 14.

Следовательно, было показано, что водная композиция для местного применения по настоящему изобретению, изготовленная в форме геля-лосьона, обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Lactobacillus rhamnosus* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в среде водного лосьона, то есть по меньшей мере 14 суток как при  $5^\circ\text{C}$ , так и при  $25^\circ\text{C}/60\% \text{ ОВ}$ .

Пример 3 - Получение и стабильность сухой композиции, содержащей бактерии.

Таблица 9

## Состав смесей (то есть сухих композиций)

Пример	3,1	3.2
Ингредиенты в мг на продукт (% продукта)		
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	22,8 мг (11,4%)	
<i>Bifidobacterium animalis subsp. Lactis</i>		20 мг (10%)
Гидрокарбонат натрия	10 мг (5%)	10 мг (5%)
Инулин	50 мг (25%)	50 мг (25%)
Мальтит	20 мг (10%)	20 мг (10%)
Маннит	97,2 мг (48,6%)	100 мг (50%)
Общая масса ингредиентов	200 мг	200 мг

Пример 3.1- Стабильность *Lactobacillus rhamnosus* в первом отсеке.

Смесь, состоящую из *Lactobacillus rhamnosus*, гидрокарбоната натрия (буфера), инулина, мальтита и маннита (наполнители) перемешивали. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 3.1, представлено в табл. 9.

Затем 200 мг смеси добавляли в первый отсек для тестирования стабильности. Первые отсеки помещали на 25°C±3°C/60±5% ОВ. В моменты времени 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 и 36 месяцев общее число клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц в первом отсеке (КОЕ/первый отсек). Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus rhamnosus* определяли как число колониеобразующих единиц в первом отсеке (КОЕ/первый отсек) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). По 200 мг продукта в тройных повторах перемешивали приблизительно с 200 г Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) в течение 2 минут at 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:1000. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/первый отсек. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 10 и на фиг. 3а.

Таблица 10

Сравнение температур и значений КОЕ, полученных при исследовании стабильности смеси, содержащей *Lactobacillus rhamnosus* при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ. Сравнение температур и значений КОЕ, полученных при исследовании стабильности смеси, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в первом отсеке по изобретению при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ и 30°C/75% ОВ

Месяцы	Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)		
	25°C/60% ОВ		30°C±3°C/75±5% ОВ
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i>	<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i>
0	1,3E+10	1,3E+10	1,3E+10
1	9,0E+09	НД	НД
3	9,6E+09	9,1E+09	8,9E+09
6	9,9E+09	1,6E+10	1,5E+10
9	9,5E+09	НД	НД
12	9,3E+09	1,3E+10	8,0E+09
18	5,7E+09	8,3E+09	3,4E+09
24	4,1E+09	9,0E+09	НД
30	4,2E+09	1,2E+10	4,5E+09
36	3,5E+09	1,1E+10	НД

НД: не доступно.

Выводы из примера 3.1.

Результаты представлены на фиг. 3а и в табл. 10 и показывают стабильность 11,4% *Lactobacillus rhamnosus* в смеси по настоящему изобретению при 25°C/60% ОВ (квадраты).

Очевидно, что стабильность смеси в первом отсеке по изобретению, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, при 25°C/60% ОВ является неожиданно хорошей, поскольку указанные *Lactobacillus rhamnosus* в количестве по меньшей мере  $1 \times 10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными в течение 36 месяцев.

Следовательно, было показано, что первый отсек по изобретению обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Lactobacillus rhamnosus* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в смеси, содержащей *Lactobacillus rhamnosus*, то есть по меньшей мере 36 месяцев при 25°C/60% ОВ.

Пример 3.2 - Стабильность *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в первом отсеке Смесь, состоящую из *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, гидрокарбоната натрия (буфер), инулина, мальтита и маннита (наполнители) перемешивали. Количество бактерий и ингредиентов, использованных в Примере 3.2, представлено в табл. 9.

Затем 200 мг смеси добавляли в первый отсек для тестирования стабильности. Первые отсеки помещали на 25°C±3°C/60±5% ОВ и 30°C±3°C/75±5% ОВ. В моменты времени 0, 3, 6, 12, 18, 24, 30 и 36 месяцев (25°C/60% ОВ) и 0, 3, 6, 12, 18 и 30 месяцев (30°C/75% ОВ) общее число клеток *Bifidobacterium animalis subsp lactis* определяли как число колониеобразующих единиц в первом отсеке (КОЕ/первый отсек). Общее число жизнеспособных клеток *Bifidobacterium animalis subsp lactis* определяли как число колониеобразующих единиц в первом отсеке (КОЕ/первый отсек) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361) с добавлением 0,05% цистеина, HCl (Merck 102839). По 200 мг продукта в тройных повторах перемешивали приблизительно с 200 г Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:1000. Серийное разведение в MRD готовили для каждого взвешивания и использовали два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку (2×2 чашки для каждого взвешивания). Чашки инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали как среднее по результатам трех взвешиваний в КОЕ/первый отсек. Результаты по показателю стабильности представлены в табл. 10 и на фиг. 3б.

Выводы из примера 3.2.

Результаты представлены на фиг. 3б и в табл. 10 и показывают стабильность 10,0% *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в смеси по настоящему изобретению при 25°C/60% ОВ (квадраты) и при 30°C/75% ОВ (круги).

Очевидно, что стабильность смеси в первом отсеке по изобретению, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis* при 25°C/60% ОВ является неожиданно хорошей, поскольку указанные *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в количестве по меньшей мере  $1 \times 10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными в течение 36 месяцев.

Также очевидно, что стабильность смеси в первом отсеке по изобретению, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, при 30°C/75% ОВ является неожиданно хорошей, поскольку указанные *Bifidobacterium animalis subsp lactis* в количестве по меньшей мере  $3 \times 10^9$  КОЕ/г являются жизнеспособными в течение 30 месяцев.

Следовательно, было показано, что первый отсек по изобретению обладает способностью сохранять пробиотические бактерии *Bifidobacterium animalis subsp lactis* жизнеспособными в неожиданно большом количестве и в течение неожиданно длительного времени в смеси, содержащей *Bifidobacterium animalis subsp lactis*, то есть по меньшей мере 36 месяцев при 25°C/60% ОВ и по меньшей мере 30 месяцев при 30°C/75% ОВ.

Пример 4 - Определение жизнеспособности бактериальных клеток *Lactobacillus* в доступном в продаже продукте, проведенное при 45°C и 30°C (и в аэробных и в анаэробных условиях).

Доступные в продаже продукты с заявленными жизнеспособными *Lactobacillus* также были оценены в отношении числа колониеобразующих единиц на г. Доступный в продаже продукт Esse Sensitive Serum (Серия 16AXCE) от Esse skincare приобретали через интернет, и он содержал масло семян жожоба, кунжутное масло, гидрогенизированное растительное масло, масло ши, изоамиллаурат, лактобациллы, токоферол, подсолнечное масло, аскорбилпальмитат, ванилин и гамма-декалактон. Доступные в продаже продукты были приобретены, их хранили в соответствии с рекомендациями производителя до оценки и оценивали в пределах предписанного срока годности продукта.

Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). Общее число жизнеспособных клеток определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) методом поверхностного посева на поверхность чашек с триптон-соевым агаром с кровью овцы. 1,58 г продукта перемешивали с 160,43 г предварительно нагретого (45°C) Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) с добавлением 1% Tween 80 в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:100. Приготавливали серийное разведение в MRD и два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку, использовали на 2 чашках (3×2×2 чашки). Чашки с агаром MRS pH 6,2 инкубировали в анаэробных

условиях при 37°C в течение 3 суток. Чашки с триптон-соевым агаром с кровью овцы инкубировали либо в аэробных, либо в анаэробных условиях при 37°C в течение 4 суток. Колонии считали и результат рассчитывали в КОЕ/г.

Другой доступный в продаже продукт с заявленными жизнеспособными *Lactobacillus* также оценивали в отношении числа колониеобразующих единиц на г. Доступный в продаже продукт *Esse Probiotic Serum* (Серия 18ADF) от *Esse skincare* приобретали в торговой сети в Копенгагене, и хранили в соответствии с рекомендациями производителя до оценки, и оценивали в пределах предписанного срока годности продукта. *Esse Probiotic Serum* содержит масло семян жожоба, кунжутное масло, гидрогенизированное растительное масло, масло ши, изоамиллаурат, масло семян марулы, лактобациллы, токоферол, подсолнечное масло, аскорбилпальмитат, ванилин, гамма-декалактон, то есть такие же ингредиенты как *Esse Sensitive Serum* за исключением масла семян марулы.

Общее число жизнеспособных клеток *Lactobacillus* определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) чашечным методом глубинного посева в агар MRS pH 6,2 (Oxoid CM0361). 1,58 г продукта перемешивали с 160,43 г предварительно нагретого (30°C) Maximum Recovery Diluent (MRD) (например Oxoid CM0733) с добавлением 1% Tween 80 в течение 2 минут при 450-550 ходов в минуту с использованием Stomacher (например Smasher, bioMérieux), получая разведение 1:100. Приготавливали серийное разведение в MRD и два разведения/объема, соответствующие 30-300 КОЕ/на чашку, использовали на 2 чашках (3×2×2 чашки). Чашки с Агаром MRS pH 6,2 инкубировали в анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток.

Общее число жизнеспособных клеток также определяли как число колониеобразующих единиц на г продукта (КОЕ/г) методом поверхностного посева на поверхность чашек с агаром MRS. Продукт наносили непосредственно на поверхность чашек с агаром MRS и инкубировали для исследования присутствия каких-либо колониеобразующих молочнокислых бактерий. Продукт не подвергали какой-либо пробоподготовке, то есть нагреванию и разведению. Чашки с агаром MRS разделяли на две группы и инкубировали в аэробных или анаэробных условиях при 37°C в течение 3 суток. Колонии считали и результат рассчитывали в КОЕ/г.

Никаких колоний не было обнаружено на чашках, инкубированных в аэробных, в анаэробных условиях.

Таблица 11

Измеренное количество жизнеспособных клеток *Lactobacillus* в доступных в продаже продуктах

	Чашечный метод глубинного посева Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)	Метод поверхностного посева Число колониеобразующих единиц на г (КОЕ/г)
<i>Esse Sensitive Serum</i> Серия 16AXCE протестирована в мае 2017 г (окончание срока годности продукта сентябрь 2018 г.)	< 1E+02 КОЕ/г  Протестировано при 45°C	< 1E+02 КОЕ/г  Протестировано при 45°C
<i>Esse Probiotic Serum</i> Серия 18ADF протестирована в 2019 г. (окончание срока годности продукта август 2019 г.)	< 1E+02 КОЕ/г  Протестировано при 30°C	< 1E+02 КОЕ/г  Протестировано при 30°C

Выводы из примера 4.

Результаты оценки жизнеспособности *Lactobacillus* представлены в табл. 11. Очевидно, что доступные в продаже продукты вообще не показывают наличия каких-либо жизнеспособных *Lactobacillus*. Следовательно, очевидно, что доступные в продаже продукты, содержащие по утверждению производителей клетки жизнеспособных бактерий *Lactobacillus*, являются совсем нестабильными, даже от момента открывания контейнера, содержащего доступный в продаже продукт. Следует отметить, что оценку доступных в продаже продуктов проводили значительно раньше окончания срока годности этого продукта. Дополнительно, следует заметить, что использование предварительно нагретого (45°C) Maximum Recovery Diluent (MRD) для чашечных методов глубинного посева осуществляли во всех примерах по настоящему изобретению и при тестировании *Esse Sensitive Serum*. Дополнительные тесты проводили с использованием предварительно нагретого (30°C) Maximum Recovery Diluent (MRD), которые демонстрируют отсутствие отличий, то есть *Esse Sensitive Serum* и *Esse Probiotic Serum* не содержат живых бактерий, то

есть содержат менее  $1E+02$  КОЕ/г *Lactobacillus*.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения водной композиции для местного применения, включающий:

а) обеспечение жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  колониеобразующих единиц (КОЕ)/г и по меньшей мере одного буфера,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, полоксамера, полиэтиленгликоля (ПЭГ)/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и

в) добавление указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 4,0-6,7, и вязкость более 2500 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение вплоть до 7 суток при 25°C/60% относительной влажности (ОВ).

2. Способ получения водной композиции для местного применения по п.1, включающий:

а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера, где указанная сухая композиция жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий измельчена в порошок, имеющий активность воды не более 0,30 и распределение размера частиц в области меньше 500 мкм,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, полоксамера, ПЭГ/макрогола и/или карбоновой кислоты, и воду в количестве более 60% (мас./мас.) для получения указанной смеси, имеющей рН 2-3 и вязкость менее 1000 мПа·с, и

в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей рН 4,0-6,7, и вязкость более 2500 мПа·с, и количество указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ.

3. Способ получения водной композиции для местного применения по любому из пп.1 или 2, где указанный по меньшей мере один загуститель представляет собой один или более чем один карбомер, и где указанная сухая композиция содержит по меньшей мере один буфер, выбранный из одного или более чем одного одновалентного катиона.

4. Способ получения водной композиции для местного применения по п.1, включающий:

а) обеспечение сухой композиции жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г и по меньшей мере одного буфера, где указанная сухая композиция жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий измельчена в порошок, имеющий активность воды не более 0,30 и распределение размера частиц в области меньше 500 мкм,

б) обеспечение смеси, содержащей по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного полоксамера, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды для получения указанной смеси, имеющей вязкость примерно 100 мПа·с при температуре не выше 10°C и вязкость примерно 1000 мПа·с при температуре выше 25°C, и

в) добавление указанной сухой композиции со стадии а) к указанной смеси со стадии б) для получения указанной водной композиции для местного применения, имеющей вязкость менее 500 мПа·с при температуре не выше 10°C и вязкость более 2500 мПа·с при температуре выше 30°C, и где указанная водная композиция для местного применения содержит указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве в диапазоне  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г, и где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ.

5. Водная композиция для местного применения, содержащая по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды и жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, где указанные жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве  $1 \cdot 10^6$ - $10^{11}$  КОЕ/г являются жизнеспособными в водной композиции для местного применения в течение вплоть до 7 суток при 25°C/60% ОВ, и где указанная композиция содержит по меньшей мере один загус-

титель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, полоксамера, PEG/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере один буфер.

6. Водная композиция для местного применения по п.5, где указанная композиция содержит по меньшей мере один карбомер и по меньшей мере один буфер или по меньшей мере один полоксамер или их комбинацию.

7. Устройство для доставки пробиотических бактерий, включающее:

первый отсек, содержащий жизнеспособные бактерии по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий, и по меньшей мере один буфер, и, возможно, осушитель, и

второй отсек, содержащий по меньшей мере один загуститель, выбранный из одного или более чем одного из карбомера, полоксамера, PEG/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и по меньшей мере один буфер,

где количество жизнеспособных бактерий указанного по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в указанном первом отсеке составляет по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ.

8. Устройство для доставки по п.8, где указанные первый и второй отсеки представляют собой отдельные элементы.

9. Устройство для доставки по п.7 или 8, где каждый из указанного первого отсека и указанного второго отсека по отдельности герметически закрыт крышкой, и где указанные отсеки и указанные крышки обеспечивают хранение указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и указанного смешивающегося с водой растворителя без какой-либо утечки указанных жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий и/или утечки указанного смешивающегося с водой растворителя во время хранения.

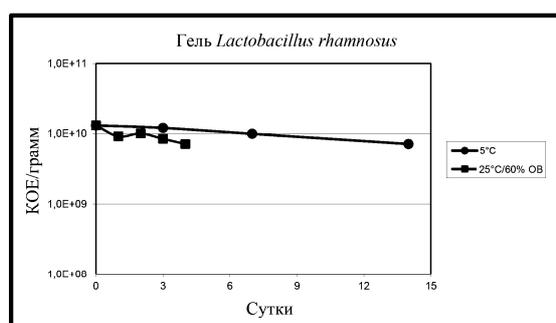
10. Способ получения устройства для доставки по любому из пп.7-9, включающий стадии:

а) обеспечения в первом отсеке жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в количестве по меньшей мере  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/г в течение вплоть до 3 лет при 25°C/60% ОВ и

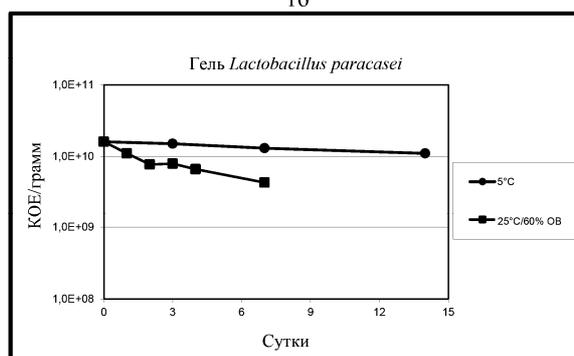
б) обеспечения во втором отсеке по меньшей мере одного загустителя, выбранного из одного или более чем одного из карбомера, полоксамера, PEG/макрогола и/или карбоновой кислоты, и по меньшей мере 60% (мас./мас.) воды, и по меньшей мере одного буфера, где а) и б) вместе обеспечивают указанное устройство для доставки.

11. Применение устройства для доставки по любому из пп.7-9 для обеспечения жизнеспособных бактерий по меньшей мере одного штамма пробиотических бактерий в водной композиции для местного применения по п.5 или 6 в течение по меньшей мере 7 суток при 25°C/60% ОВ или 30°C/75% ОВ.

1a

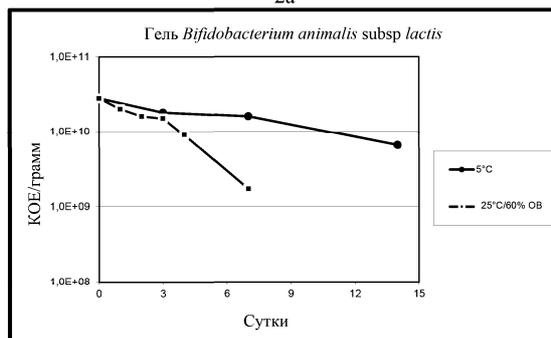


1б

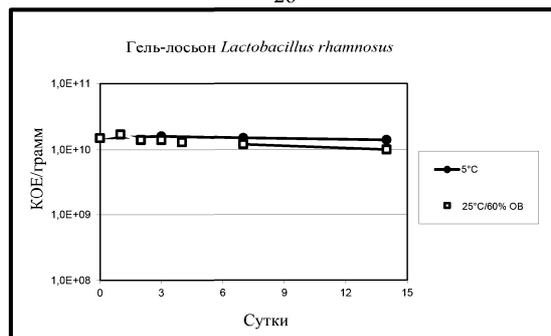


Фиг. 1

2а

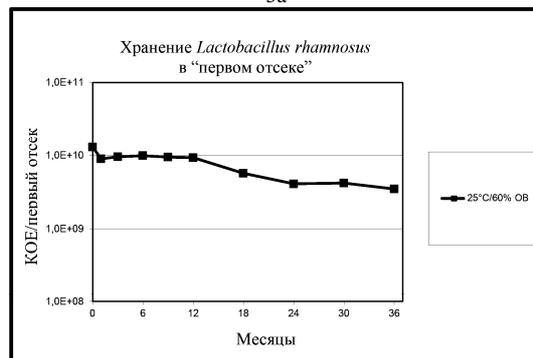


2б

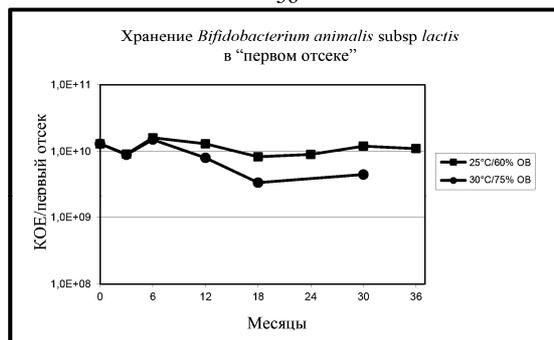


Фиг. 2

3а



3б



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2