

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046235**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента <b>2024.02.19</b>	(51) Int. Cl. <i>A61K 8/34</i> (2006.01) <i>A61Q 5/00</i> (2006.01) <i>A61Q 5/02</i> (2006.01) <i>A61Q 5/12</i> (2006.01) <i>A61K 8/68</i> (2006.01) <i>A61Q 17/00</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01) <i>A61K 8/92</i> (2006.01) <i>A61P 17/10</i> (2006.01)
(21) Номер заявки <b>202091405</b>	
(22) Дата подачи заявки <b>2018.11.15</b>	

**(54) ПРОТИВОМИКРОБНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ МЕСТНОГО НАНЕСЕНИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ АНТИМИКРОБНЫЙ ЛИПИД, ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ И СПОСОБ НАНЕСЕНИЯ**

(31) PCT/CN2017/116391; 18153401.7	(56) WO-A2-9849999 JP-A-2014172848 WO-A1-2017083363 KR-A-20060014203
(32) 2017.12.15; 2018.01.25	
(33) CN; EP	
(43) 2020.09.03	
(86) PCT/EP2018/081350	
(87) WO 2019/115136 2019.06.20	
(71)(73) Заявитель и патентовладелец: <b>ЮНИЛЕВЕР ГЛОБАЛ АйПи ЛИМИТЕД (GB)</b>	
(72) Изобретатель: <b>Чу Чун-Чин, Пу Минмин, Сюй Иньин (CN)</b>	
(74) Представитель: <b>Фелицына С.Б. (RU)</b>	

(57) Раскрыта противомикробная композиция для местного нанесения, содержащая антимикробный липид, обнаруживаемый в кожном сале или роговом слое человека, отличающийся от насыщенных C8-18 жирных кислот, где (i) указанная композиция содержит бифенол, получаемый из *Magnolia spp.*, где (ii) указанный липид представляет собой по меньшей мере одно из сапиеновой кислоты, сфингозина, дигидросфингозина, фитосфингозина, 6-гидроксифитосфингозина или пальмитолеиновой кислоты, где (iii) количество указанного липида составляет от 0,01 до 10 мас.%, и где (iv) количество указанного бифенола, получаемого из *Magnolia spp.*, составляет от 0,01 до 10 мас.%. Также раскрыто применение этой композиции в качестве противомикробной для местного нанесения и способ обеспечения местного противомикробного эффекта, включающий этап нанесения безопасного и эффективного количества противомикробной композиции для местного нанесения.

**046235**  
**B1**

**046235**  
**B1**

### Область изобретения, к которой относится изобретение

Данное изобретение относится к противомикробным композициям для местного нанесения, особенно к косметическим композициям и, более конкретно, к косметическим композициям, обладающим антимикробным действием и полезным по меньшей мере в отношении некоторых микробов, связанных с такими косметически значимыми состояниями, как перхоть и акне.

### Уровень техники изобретения

Кожа человека содержит два важных слоя: более толстый слой, называемый дермой, и более тонкий внешний слой, называемый эпидермисом. Дерма отвечает за прочность, эластичность и толщину. С возрастом толщина дермы уменьшается, и считается, что это, по крайней мере отчасти, является причиной возникновения морщин. Эпидермис содержит множество клеток, которые обеспечивают упругость и барьерные свойства. Кератиноциты составляют от 75 до 80% клеток в эпидермисе.

Эпидермис в основном содержит три типа клеток. Клетки представляют собой кератиноциты, меланоциты и клетки Лангерганса, которые отвечают за врожденный иммунитет.

Дерма обеспечивает структурную поддержку и в основном состоит из фибробластов и внеклеточного матрикса. В ней также обнаруживаются лейкоциты, тучные клетки и тканевые макрофаги. Наконец, дерму пересекают кровеносные сосуды и нервные волокна.

Наша кожа выступает в качестве основной линии защиты от проникновения патогенных микроорганизмов, таких как вирусы, грибки и бактерии. Являясь основным органом защиты, ткани кожи всегда находятся в контакте с окружающей средой и постоянно сталкиваются с угрозами и вызовами, связанными с вторжением патогенных микроорганизмов. Поэтому открытая поверхность подвергается воздействию не только патогенных чужеродных бактерий, но также контактирует и взаимодействует с резидентными комменсальными бактериями. Несмотря на все проблемы со стороны чужеродных и комменсальных микробов, здоровая кожа остается свободной от инфекций, и численность резидентной микрофлоры остается стабильной. Это равновесие во взаимодействии между тканями кожи и микробами поддерживается, так как кожа обладает сложными барьерными свойствами и защитной стратегией, и липиды кожи с антимикробными свойствами (антимикробные липиды, AML) составляют важную часть этого равновесия.

AML образуют неотъемлемую часть собственной защитной системы кожи. AML обладают широким спектром действия против по крайней мере некоторых бактерий, грибков, оболочечных вирусов и паразитов.

Известно, что липиды кожи, в частности свободные жирные кислоты и сфингоидные основания с длинной цепью, обладают антимикробным действием против грамположительных и грамотрицательных патогенных бактерий (J Invest Dermatol. 98: 269-273, 1992). Кроме того, исследования *in vitro* показали, что пальмитолеиновая и лауриновая кислоты активны в отношении распространенных патогенов кожи, таких как *Pneumococci*, *Streptococcus*, *Corynebacteria*, *Micrococci*, *Candida* и *Staphylococcus aureus* (Kabara et al., 1972, Antimicro. Agents and Chemo., 2, 23-28 и 1978, J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 733-741).

Однако из-за изменений в физиологических, экологических или патологических условиях могут возникнуть ситуации, в которых барьерные свойства становятся недостаточными. В таких условиях кожа адаптируется и пытается увеличить синтез своих липидов. Однако, этого может не хватить для обеспечения адекватной защиты. Поэтому могут стать необходимыми некоторые вмешательства.

Перхоть и акне являются повсеместно распространенными проблемами. Перхоть проявляется отшелушиванием скоплений мертвых клеток кожи с кожи головы. Они имеют белый цвет и хорошо видны, поэтому они выглядят эстетически неприятно. Фактором, способствующим появлению перхоти, являются некоторые представители дрожжей *Malassezia*. Для борьбы с ними доступны различные композиции против перхоти, такие как шампуни. Обычно такие шампуни содержат поверхностно-активные вещества и один или несколько средств против перхоти. Типичными средствами против перхоти являются пиритион металла, например пиритион цинка (ZPTO), октопирокс (пироктоноламин), противомикробные препараты на основе азолов (например, альпазол), сульфид селена и их комбинации.

Хотя проблема перхоти в значительной степени смягчается за счет использования вышеуказанных активных веществ в таких шампунях, существует потребность в более эффективных композициях.

Акне, также известное как *Acne vulgaris* (обыкновенные прыщи), является распространенным заболеванием кожи, которое встречается почти у всех подростков и взрослых. Оно имеет сложную этиологию, включающую аномальную кератинизацию и избыточную выработку кожного сала. Прыщи обычно возникают в областях, богатых сальными железами, таких как лицо, шея и спина.

Бактерия *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) известна как важный микробный агент, связанный с акне. Акне лечили разными способами. Большинство процедур занимает от нескольких недель до месяцев, прежде чем изменения становятся заметны. Бензоилпероксид, который обладает антибактериальным эффектом, использовался для легких случаев акне и, как полагают, также предотвращал образование новых акне. В очень серьезных случаях акне использовались антибиотики, такие как тетрациклин, эритромицин и клиндамицин.

US 2015/0373970 A1 (3M) раскрывает противомикробные салфетки, содержащие, помимо других ингредиентов, антимикробный липид, такой как сложный эфир жирной кислоты, простой жирный эфир

или его алкоксидное производное, и усилитель, которые (предпочтительно синергически) усиливает активность противомикробного средства, особенно в отношении грамотрицательных бактерий, таких как *E. coli* и *Pseudomonas* sp. Усилитель воздействует на клеточную оболочку бактерий и позволяет антимикробному липиду более легко проникать в цитоплазму клетки и/или облегчать разрушение клеточной оболочки. Усилитель представляет собой растворимую органическую кислоту или ее соль.

WO2014/131191 A1 (Johnson & Johnson) раскрывает косметические композиции, содержащие хонокиол и/или магнолол наряду с карбоновыми кислотами. Кислоты включают для улучшения осаждения активных веществ на коже. Осаждение составляет по меньшей мере на 100% больше, чем в случае композиций без карбоновой кислоты, и может достигать 200-300% в некоторых вариантах осуществления.

US2013/0129643 A (Colgate) раскрывает композицию для ухода за полостью рта для лечения или профилактики зубного камня, содержащую антикалькулезный агент и антибактериальный агент, содержащий бифенольное соединение, которое можно получить из *Magnolia officinalis*.

CN104225603 (Tianjin Bokni Technology Dev Co Ltd) раскрывает комплексное соединение паеonoла и простого эфира глицерина, которое является бактерицидным.

KR 2015-0106804 (LG Household and Health Care) раскрывает персональную очищающую композицию, содержащую экстракт магнолии и жирной кислоты. Кроме того, композиции также содержат отдушку, имеющую значение clogP по меньшей мере 3, например экстракт мускатного ореха. Натуральный экстракт улучшает кожную абсорбцию и обеспечивает реверберацию даже после очищения. Задачей, которую необходимо было решить, было получение композиции для очищения организма человека, которая обладает сильным антибактериальным действием в отношении бактерий, вызывающих запаха тела и акне, включая луковичную кожную бактерию.

Жирная кислота была выбрана из группы, состоящей из C8-20 карбоновых кислот, включая лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту, стеариновую кислоту, олеиновую кислоту, линолевую кислоту и тому подобное, полученных из животных или растительных масел; жирных кислот, полученных из растительных масел, включая пальмовое масло, пальмоядровое масло, соевое масло, рапсовое масло, кукурузное масло, каноловое масло, подсолнечное масло, сафлоровое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, масло рисовых отрубей, масло камелии, касторовое масло, оливковое масло и пальмовое масло; жирных кислот, полученных из животных жиров, включая говяжье сало, свиное сало, жир рыбы-луны (*sunfish*), рыбий жир, китовое масло и тунцовый жир и тому подобное (например, талловую кислоту); жирные спирты, минеральные масла и парафин.

JP2014172848 A2 (Kao Corp) раскрывает бактерицидный агент, который обладает стойким бактерицидным действием в отношении *Staphylococcus aureus*. Он содержит комбинацию пальмитолеата кальция и линолеата кальция в качестве активных ингредиентов.

WO 9849999 A2 (Cosmoferm BV) раскрывает ингибирование роста обнаруживаемых местно микробов путем применения композиции для местного нанесения, содержащей сфингоидную основу, составленную в комбинации с поверхностно-активным веществом.

### Сущность изобретения

Авторы изобретения определили, что, когда определенные антимикробные липиды, которые обычно обнаруживают в кожном сале или роговом слое эпидермиса человека, вводят в состав с бифенолом, получаемым от *Magnolia* spp, полученная комбинация оказывается очень эффективной в отношении некоторых микробов, связанных с такими состояниями, как акне или перхоть. Это привело авторов изобретения к заключению, что композиции, содержащие вышеупомянутую комбинацию, могут обладать активностью против перхоти, против акне и общей противомикробной активностью и могут подходить для использования, например, в дезинфицирующих средствах для рук. Упомянутые выше антимикробные липиды отличаются от тех, которые представляют собой насыщенные жирные кислоты C8-C18, например лауриновую кислоту.

Следовательно, в соответствии с первым аспектом раскрыта противомикробная композиция для местного нанесения, содержащая антимикробный липид, обнаруживаемый в кожном сале или роговом слое человека, отличающийся от насыщенных C8-18 жирных кислот, где

(i) указанная композиция содержит бифенол, получаемый из *Magnolia* spp., где

(ii) указанный липид представляет собой по меньшей мере одно из сапиеновой кислоты, сфингозина, дигидросфингозина, фитосфингозина, 6-гидроксифитосфингозина или пальмитолеиновой кислоты, где

(iii) количество указанного липида составляет от 0,01 до 10 мас.%, и где

(iv) количество указанного бифенола, получаемого из *Magnolia* spp., составляет от 0,01 до 10 мас.%. Предпочтительно, когда композиция содержит водный или водно-спиртовой экстракт коры *Magnolia* spp, который, в свою очередь, содержит указанный бифенол.

Предпочтительно, когда в композиции указанный бифенол представляет собой по меньшей мере один из хонокиола или магнолола.

Предпочтительна композиция, которая содержит хонокиол и магнолол.

Предпочтительно, когда композиция содержит от 0,01 до 10 мас.% указанного хонокиола или от 0,01 до 10 мас.% указанного магнолола, при условии, что когда указанная композиция содержит и хонокиол, и магнолол, их суммарное количество составляет от 0,01 до 10 мас.% указанной композиции.

В соответствии со вторым аспектом раскрыто применение композиции по первому аспекту в качестве противомикробной композиции для местного нанесения.

Для этого применения предпочтительно, когда указанная композиция для местного нанесения представляет собой композицию против акне, эффективную по меньшей мере в отношении *P. acnes*.

Для этого применения предпочтительно, когда указанная композиция для местного нанесения представляет собой композицию против перхоти, эффективную по меньшей мере в отношении некоторых видов *Malassezia spp.*

Для этого применения предпочтительно, когда указанная композиция для местного нанесения является смываемой или несмываемой композицией, эффективной по меньшей мере в отношении *S. aureus*.

Предпочтительно, когда указанное применение предназначено для нетерапевтических целей.

Предпочтительно, когда указанная нетерапевтическая цель означает косметическое назначение.

В соответствии с третьим аспектом раскрыт способ обеспечения местного противомикробного эффекта, включающий этап нанесения безопасного и эффективного количества противомикробной композиции для местного нанесения по первому аспекту.

### **Раскрытие изобретения**

Композиции согласно настоящему изобретению включают приемлемый для местного применения носитель, наполнитель или разбавитель, которые могут иметь различные формы. Приемлемый для местного применения носитель предпочтительно должен быть не раздражающим. Следовательно, "приемлемый для местного применения" означает, что носитель подходит для местного нанесения на кожу и не вызывает каких-либо неблагоприятных проблем, связанных с безопасностью или токсичностью. Другими словами, эти носители подходят для использования на коже млекопитающих. Типичный носитель может быть в форме водно-спиртовой системы (например, жидкости и гели), системы на основе безводного масла или силикона или эмульсионной системы, включая, но не ограничиваясь этим, эмульсии типа масло-в-воде, вода-в-масле, вода-в-масле-в-воде и масло-в-воде-в-силиконе. Эмульсии могут включать широкий спектр консистенций, включая тонкие лосьоны (которые также могут быть пригодны для доставки в виде спрея или аэрозоля), кремевые лосьоны, легкие кремы и густые кремы. Эмульсии также могут включать микроэмульсионные системы. Другие подходящие носители для местного нанесения включают безводные твердые вещества и полутвердые вещества (такие как гели и стики); и системы муссов на водной основе. Неограничивающие примеры систем носителей для местного нанесения, используемых в настоящем изобретении, описаны ниже.

Эти и другие аспекты, особенности и преимущества станут очевидны специалистам в данной области техники из прочтения следующего подробного описания и прилагаемой формулы изобретения. Во избежание сомнений, любой признак одного аспекта настоящего изобретения может быть использован в любом другом аспекте изобретения. Слово "содержащий" предназначено для обозначения "включающий", но не обязательно "состоящий из" или "составленный из". Иными словами, перечисленные этапы или варианты не обязательно являются исчерпывающими. Следует отметить, что примеры, приведенные в описании ниже, предназначены для пояснения изобретения и не предназначены для ограничения изобретения этими примерами как таковыми. Аналогичным образом, все проценты и соотношения, содержащиеся в данном документе, представляют собой вес/весовой процент, если не указано иное.

За исключением рабочих и сравнительных примеров или случаев, в которых явно указано иное, все числа в этом описании, указывающие количества материала или условия реакции, физические свойства материалов и/или использования, следует понимать как модифицированные словом "около". Если не указано иное, числовые диапазоны, выраженные в формате "от x до y", понимаются как включающие x и y. Когда для конкретного признака приведено несколько предпочтительных диапазонов в формате "от x до y", подразумевается, что все диапазоны, комбинирующие различные конечные точки, также рассмотрены в изобретении. Различные признаки настоящего изобретения, упомянутые в отдельных разделах выше, применимы, где это уместно, и к другим разделам *mutatis mutandis*. Следовательно, признаки, указанные в одном разделе, могут быть соответствующим образом скомбинированы с признаками, указанными в других разделах. Любые заголовки разделов добавлены только для удобства и не предназначены для ограничения раскрытия каким-либо образом.

Под композицией для местного нанесения подразумевается композиция для наружного нанесения в форме несмываемого (т.е. не требующего смывания) или смываемого материала, предназначенного для очистки или дезинфекции местных областей, например кожи и/или волос и/или полости рта млекопитающих, особенно людей. Такая композиция включает любой продукт, наносимый на организм человека, для улучшения внешнего вида, очищения, борьбы с запахом или общей эстетики. В соответствии с одним аспектом композиции по изобретению представляют собой смываемые композиции. В альтернативном варианте они представляют собой несмываемые композиции. Композиции по настоящему изобретению могут быть в форме жидкости, лосьона, крема, пены или геля, или тонера, или могут наноситься с помощью инструмента или с помощью маски для лица, спонжа или патча. Подразумевается, что термин "кожа" включает кожу лица и тела (например, шеи, груди, спины, рук от плеча до кисти, подмышек, кисти рук, ног, ягодиц и кожи головы). Композиция по изобретению также имеет отношение к применению на любых других внешних поверхностях человеческого тела, кроме кожи, например, волосах.

Под "противомикробной композицией" в контексте настоящего описания подразумевается, что она включает композицию для местного нанесения на кожу, волосы и/или кожу головы млекопитающих, особенно людей. Такая композиция обычно наносится на желаемую внешнюю поверхность тела на период от нескольких секунд до 24 часов. Когда время нанесения мало, например от порядка нескольких секунд до нескольких минут, после чего композицию смывают водой или вытирают, такую композицию называют очищающей композицией или смываемой композицией. Когда композицию наносят на более длительное время, например от нескольких минут до 24 часов, и затем ее обычно смывают в процессе обычного персонального очищения, такая композиция известна как несмываемая композиция. Более предпочтительно композицию используют для предотвращения или облегчения симптомов перхоти на коже головы и/или волос, для защиты от угрей или для дезинфекции рук или других частей человеческого тела.

Термин "композиция для ухода за волосами", как он используется в изобретении, предназначен для включения композиции для местного нанесения на волосы. Неограничивающие примеры таких композиций включают несмываемые лосьоны для волос, кремы, шампуни для мытья рук, кондиционеры, гели для душа или кусковое мыло. Когда композиция по изобретению представляет собой композицию для ухода за волосами, она предпочтительно представляет собой смываемую композицию, в особенности шампунь или кондиционер.

#### **Композиции для местного нанесения по изобретению**

Изобретение относится к композиции для местного нанесения, которая содержит антимикробный липид, обнаруживаемый в кожном сале или роговом слое человека, отличающийся от насыщенных C8-18 жирных кислот.

Антимикробные липиды (AML) естественным образом присутствуют в кожном сале и роговом слое человека. Они выделяются сальными железами на коже или коже головы или в полости рта. AML также происходят из кератиноцитов и переносятся в роговой слой на поверхности кожи. Большая часть липидов кожи происходит из сальных желез, которые выделяют маслянистый и воскообразный материал, называемый кожным салом. Большая часть оставшихся липидов поступает из клеток рогового слоя эпидермиса. Вклад липидов от каждого из этих источников зависит от количества сальных желез, присутствующих в данном месте. Отчеты показывают, что на коже головы или лица может быть до 900 желез/см<sup>2</sup> и около 50 желез/см<sup>2</sup> на предплечье.

Опубликованная литература указывает, что антимикробные липиды, присутствующие в кожном сале или роговом слое кожи, представляют собой три-, ди- и моноглицериды, незтерифицированные жирные кислоты, которые могут быть насыщенными или ненасыщенными, сфингоидные основания с длинной цепью, глико- и фосфолипиды. Антимикробные липиды выступают в качестве первой линии защиты от патогенных микробов.

Часто можно найти опубликованную литературу или коммерчески и общедоступные композиции для местного нанесения, которые содержат один или несколько таких антимикробных липидов. Однако очень мало известно о попытках повысить или увеличить врожденную активность антимикробных липидов, присутствующих в кожном сале или роговом слое.

Минимальная ингибирующая концентрация (МИС) является классическим подходом к изучению и оценке антимикробной эффективности различных соединений. В микробиологии минимальная ингибирующая концентрация (МИС) является самой низкой концентрацией противомикробного (например, противогрибкового, антибиотического или бактериостатического) агента, которая будет ингибировать видимый рост микроорганизма после желаемого времени инкубации.

Концепция МИС применима также к антимикробным липидам, обнаруживаемым в кожном сале или роговом слое человека. Ее можно рассматривать как показатель врожденной антимикробной активности такого липида. Составы, содержащие антимикробные липиды, уже были описаны ранее, но авторы настоящего изобретения не знают о публикациях или общедоступных продуктах, которые содержали бы один или несколько антимикробных липидов и другой ингредиент(ы) для снижения/понижения МИС рассматриваемого антимикробного липида. Таким образом, настоящее изобретение предлагает технически более совершенные композиции, в которых ученые-разработчики могут уменьшить дозировку антимикробных липидов, имея, в то же время, основания заявлять об эффективной защите от микробов.

Полагают, что хотя антимикробные липиды, присутствующие в композициях по изобретению, дополняют или увеличивают соответствующие врожденные или присутствующие в природе аналоги в кожном сале или роговом слое, бифенол, полученный из *Magnolia spp*, синергически взаимодействует с этими липидами, делая их еще более эффективными.

Хотя рассматриваемые антимикробные липиды могут быть любыми липидами, которые обнаруживаются на или в кожном слое или роговом слое, предпочтительно, чтобы такой липид представлял собой по меньшей мере одно из следующих веществ: сапиеновая кислота, сфингозин, дигидросфингозин, фитосфингозин, 6-гидроксифитосфингозин или пальмитолеиновая кислота. Более предпочтительно композиции по изобретению включают липид, который представляет собой пальмитолеиновую кислоту, сапиеновую кислоту или фитосфингозин.

Сапиеновая кислота и пальмитолеиновая кислота обычно добавляются в противомикробные агенты

в очищенной форме. Эти жирные кислоты могут быть синтезированы химически или получены из природного источника и могут находиться в форме свободной жирной кислоты или в их этерифицированной форме, но предпочтительно, чтобы липиды были в их кислотной форме. Природные вещества, которые содержат эти жирные кислоты и их производные, могут поступать из животных или растительных источников, включая, но не ограничиваясь, экстракты семян растений, жир морских животных (рыбий жир), животные масла и микробные ферменты. В частности, сообщается, что сапиеновая кислота является основным компонентом масла семян *Thunbergia alata* (85% по массе в качестве триглицерида). Следовательно, сапиеновая кислота может быть добавлена в форме экстракта масла из семян, содержащего сапиеновую кислоту, так чтобы гарантировать, что сапиеновая кислота присутствует в композициях по настоящему изобретению в желаемой концентрации.

Сфингозин, фитосфингозин и дигидросфингозин являются сфингоидными основаниями, присутствующими в коже человека. Они могут быть синтезированы химически или получены с помощью подходящего биотехнологического процесса, который приводит к образованию сфингоидных оснований дрожжами из таких материалов, как сахар. Сфингоидные основания могут быть добавлены к противомикробной композиции в очищенной форме. В альтернативном варианте можно использовать ферментационный бульон, состоящий из больших количеств сфингоидных оснований, так чтобы гарантировать, что сфингоидные основания присутствуют в композициях по настоящему изобретению в желаемой концентрации.

Предпочтительно, чтобы количество липида в композициях по изобретению составляло от 0,01 до 10 мас.%. Более предпочтительно количество составляет от 0,01 до 5% от массы композиции и наиболее предпочтительно от 0,1 до 2%. Когда в композициях по изобретению присутствуют два или более противомикробных липидов, их общее количество является таким, как описано выше.

Бифенол из *Magnolia* spp.

Композиции в соответствии с изобретением дополнительно содержат бифенол, полученный от *Magnolia* spp. Предпочтительно, чтобы количество указанного бифенола, получаемого из *Magnolia* spp, составляло от 0,01 до 10 мас.%. Выражение "бифенол" используется для обозначения присутствия одного или нескольких соединений, относящихся к обобщенному классу соединений, имеющих основную структурную формулу бифенола.

Поскольку композиции содержат антимикробный липид и бифенол, предпочтительно, чтобы поддерживалось соотношение между количеством активных ингредиентов для достижения оптимальной эффективности. Предпочтительно отношение количества указанного липида к указанному бифенолу составляет от 0,003 до 125.

Предпочтительно композиции по изобретению содержат водный или водно-спиртовой экстракт коры магнолии, который, в свою очередь, содержит указанный бифенол. Отмеряемое количество экстракта выбирают таким образом, чтобы необходимое количество содержащегося в нем бифенола попало в состав композиции.

Предпочтительно, чтобы бифенол представлял собой по меньшей мере одно из магнолола, хонокиола, тетрагидромагнолола, тетрагидрохонокиола, пропилмагнолола, пропилхонокиола, изопропилмагнолола, изопропилхонокиола, бутилмагнолола и бутилхонокиола. Особенно предпочтительно, чтобы бифенол представлял собой по меньшей мере одно из хонокиола или магнолола. В альтернативном варианте и более предпочтительно композиция содержит хонокиол и магнолол. Предпочтительно, чтобы композиция содержала от 0,01 до 10 мас.% указанного хонокиола или от 0,01 до 10 мас.% указанного магнолола, при условии, что когда указанная композиция содержит и хонокиол, и магнолол, их совокупное количество составляет 0,01-10 мас.% указанной композиции.

В целом, магнолия представляет собой большой род около 210 видов цветковых растений в подсемействе Magnolioidae из семейства Magnoliaceae (магнолий). Экстракт магнолии можно получать из видов, входящих в семейство Magnoliaceae. Неограничивающие примеры этих видов включают *Magnolia acuminata*, *Magnolia ashei*, *Magnolia biondii*, *Magnolia cylindrica*, *Magnolia cambellii*, *Magnolia denudata*, *Magnolia paseri*, *Magnolia grandiflora*, *Magnolia hypoleuca*, *Magnolia kobus*, *Magnolia hliiflora*, *Magnolia loegneri*, *Magnolia macrophylla*, *Magnolia officinalis*, *Magnolia pyramidata*, *Magnolia sargentiana*, *Magnolia seiboldii*, *Magnolia soulangiana*, *Magnolia sprengeri*, *Magnolia stellata*, *Magnolia tripetala*, *Magnolia virginiana*, *Magnolia zenii*, и *Michelia figo*.

Экстракты магнолии, содержащие магнолол и/или хонокиол, коммерчески доступны из множества различных источников. Например, экстракт коры *Magnolia officinalis*, который содержит как хонокиол, так и магнолол, каждый в концентрации около 45% (общая концентрация хонокиола и магнолола, объединенных в экстракте, составляет 90%), доступен от HNSEA под торговым названием MagnoPro®. Отдельные соединения магнолола и хонокиола, выделенные из коры магнолии, доступны от H-NSEA под торговыми названиями "Магнолол 95%" и "Хонокиол 95%" соответственно. В альтернативном варианте специалист в данной области техники мог бы выделить экстракт магнолии из цветка магнолии, коры или конусного семени (seed cone) с использованием любого подходящего способа выделения и очистки, известного в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления экстракт магнолии может быть получен из высушенной коры растения магнолии и может быть получен любым известным или раз-

работанным в будущем способом в данной области техники.

Сумма фракционных ингибирующих концентраций ( $\Sigma$ FIC) широко используется в контексте комбинаций антимикробных ингредиентов. Это инструмент для определения того, оказывают ли противомикробные ингредиенты (при их использовании в комбинации) синергетический эффект или антагонистический эффект, или, если нет ни того, ни другого, аддитивный эффект. Авторы настоящего изобретения прибегли к тесту  $\Sigma$ FIC для оценки комбинированного действия хонокиола и магнолола (оба - бифенолы) с пятью различными AML (сапиеновой кислотой, пальмитолеиновой кислотой, сфингозином, фитосфингозином и дигидросфингозином) в отношении *M. furfur*, *S. aureus* и *P. acnes*.

Предпочтительно, чтобы композиция для местного нанесения по изобретению содержала сапиеновую кислоту и хонокиол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы хонокиола к массе сапиеновой кислоты составляло от 0,25 до 1 или от 0,008 до 2.

В альтернативном варианте композиция содержит сапиеновую кислоту и магнолол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы магнолола к массе сапиеновой кислоты составляло от 0,06 до 2, от 0,01 до 4 или от 0,25 до 1.

В альтернативном варианте композиция содержит сфингозин и хонокиол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы хонокиола к массе сфингозина составляло от 1,25 до 40, альтернативно от 0,8 до 25, альтернативно от 0,7 до 13.

В альтернативном варианте композиция содержит сфингозин и магнолол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы количества хонокиола к массе сфингозина составляло от 5 до 40, альтернативно от 1,5 до 25, альтернативно от 1,5 до 13.

В альтернативном варианте предпочтительно, чтобы композиция для местного нанесения по изобретению содержала дигидросфингозин и хонокиол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы хонокиола к массе дигидросфингозина составляло от 5 до 40, альтернативно от 0,8 до 12,5 и альтернативно от 0,2 до 6,5.

В альтернативном варианте композиция содержит дигидросфингозин и магнолол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы хонокиола к массе дигидросфингозина составляло от 5 до 80, альтернативно от 0,4 до 12,5, альтернативно от 0,7 до 6,5.

В альтернативном варианте предпочтительно, чтобы композиция для местного нанесения по изобретению содержала фитосфингозин и хонокиол. В этом случае предпочтительно, чтобы соотношение массы хонокиола к массе фитосфингозина составляло от 10 до 80, альтернативно от 0,4 до 12,5 и альтернативно от 0,2 до 3,2.

В альтернативном варианте композиция содержит фитосфингозин и магнолол. В этом случае предпочтительно, чтобы отношение массы хонокиола к массе фитосфингозина составляло от 10 до 320, альтернативно от 0,2 до 12,5 и альтернативно от 0,4 до 12,5.

В альтернативном варианте предпочтительно, чтобы композиция для местного нанесения по изобретению содержала пальмитолеиновую кислоту и хонокиол. В этом случае предпочтительно, чтобы отношение массы хонокиола к массе пальмитолеиновой кислоты составляло от 0,06 до 2, альтернативно от 0,008 до 2 и альтернативно от 0,06 до 1.

В альтернативном варианте композиция содержит пальмитолеиновую кислоту и магнолол. В этом случае предпочтительно, чтобы отношение массы магнолола к массе пальмитолеиновой кислоты составляло от 0,03 до 2, альтернативно от 0,008 до 2 и альтернативно от 0,1 до 4.

Другие ингредиенты.

Композиция по изобретению предпочтительно содержит косметически приемлемый наполнитель. Косметически приемлемый наполнитель таков, чтобы композицию можно было приготовить, например, в виде шампуня, кондиционера, средства для мытья тела, средства для мытья рук или умывания лица, крема, лосьона, геля, порошка, мази, средства для дезинфекции рук или мыла, и остальные ингредиенты варьируются соответственно.

В одном аспекте композиции для местного нанесения в соответствии с изобретением представляют собой композицию для ухода за волосами. Предпочтительно такая композиция представляет собой шампунь, кондиционер для волос, сыворотку для волос или масло для волос. Наиболее предпочтительно композиция для местного нанесения представляет собой композицию против перхоти, эффективную против по меньшей мере некоторых видов *Malessezia spp.*

Когда композиция по изобретению представляет собой шампунь, она предпочтительно содержит другие ингредиенты, которые обычно включают в такие композиции.

Шампунь предпочтительно содержит от 1 до 20 мас.%, более предпочтительно от 2 до 16 мас.%, более предпочтительно от 3 до 16 мас.% анионных поверхностно-активных веществ, например алкилсульфатного и/или этоксилированного алкилсульфатного поверхностно-активного вещества. Предпочтительными алкилсульфатами являются  $C_{8-18}$  алкилсульфаты, более предпочтительно  $C_{12-18}$  алкилсульфаты, предпочтительно в форме соли с солибилизирующим катионом, таким как натрий, калий, аммоний или замещенный аммоний.

Особенно предпочтительными алкилэфирсульфатами являются те, которые имеют формулу:

$RO(CH_2CH_2O)_nSO_3M$ ; где R представляет собой алкил или алкенил, имеющий от 8 до 18 (предпочтительно от 12 до 18) атомов углерода; n представляет собой число со средним значением, превышающим по меньшей мере 0,5, предпочтительно от 1 до 3, более предпочтительно от 2 до 3; и M представляет собой соллобилизирующий катион, такой как натрий, калий, аммоний или замещенный аммоний. Примером является сульфат лаурилового эфира натрия (SLES). SLES, имеющий среднюю степень этоксилирования от 0,5 до 3, предпочтительно от 1 до 3, особенно предпочтителен.

Композиции шампуней по изобретению могут содержать одно или несколько дополнительных анионных очищающих поверхностно-активных веществ, которые являются косметически приемлемыми и пригодны для местного нанесения на волосы. Примеры включают алкарилсульфонаты, алкилсукцинаты, алкилсульфосукцинаты, алкилэфирсульфосукцинаты, N-алкилсаркозинаты, алкилфосфаты, алкилэфирфосфаты и алкилэфиркарбоновые кислоты и их соли, особенно их натрий, магний, аммоний и моно-, ди- и соли триэтаноламина. Алкильные и ацильные группы обычно содержат от 8 до 18, предпочтительно от 10 до 16 атомов углерода, и могут быть ненасыщенными. Алкилэфирсульфосукцинаты, алкилэфирфосфаты и алкилэфиркарбоновые кислоты и их соли могут содержать от 1 до 20 единиц этиленоксида или пропиленоксида на молекулу.

Как правило, подходящие анионные поверхностно-активные вещества включают олеилсукцинат натрия, лаурилсульфосукцинат аммония, лаурилэфирсульфосукцинат натрия, додецилбензолсульфонат натрия, додецилбензолсульфонат триэтаноламина, карбоновую кислоту лаурилового эфира и N-лаурилат натрия. Подходящими предпочтительными дополнительными анионными очищающими поверхностно-активными веществами являются лауриловый эфир сульфосукцината натрия (n)EO, (где n равно от 1 до 3), лауриловый эфир карбоновой кислоты (n)EO (где n равен от 10 до 20).

Смеси любых из указанных выше анионных очищающих поверхностно-активных веществ также могут быть подходящими. Композиция шампуня по изобретению предпочтительно дополнительно содержит от 0,1 до 10 мас.%, более предпочтительно от 0,5 до 8 мас.% амфотерного поверхностно-активного вещества, предпочтительно бетаинового поверхностно-активного вещества, такого как поверхностно-активное вещество алкиламидопропилбетаин, например кокоамидопропилбетаин.

Показатель pH композиции предпочтительно равен 4,0 или выше, более предпочтительно в диапазоне от 5,0 до 10,0.

Предпочтительно, чтобы композиция шампуня дополнительно содержала от 0,1 до 3 мас.%, более предпочтительно от 0,1 до 1,5 мас.% соединения цинка. Считается, что присутствие цинка в композиции улучшает эффективность против перхоти. Подходящими соединениями цинка являются ZPTO, оксид цинка, цитрат цинка, малонат цинка, карбонат цинка или их комбинация.

Предпочтительно композиция шампуня дополнительно содержит от 0,01 до 2 мас.%, более предпочтительно от 0,025 до 0,75 мас.% коназольного фунгицида. Предпочтительно коназольным фунгицидом является кетоконазол или климбазол или их смесь. Считается, что присутствие коназольного фунгицида улучшает отложение пиритиона цинка (ZPTO).

Композиция шампуня дополнительно предпочтительно содержит суспендирующий агент. Подходящими суспендирующими агентами являются полиакриловые кислоты, сшитые полимеры акриловой кислоты, сополимеры акриловой кислоты с гидрофобным мономером, сополимеры мономеров, содержащих карбоновую кислоту, и сложные эфиры акриловой кислоты, сшитые сополимеры сложных эфиров акриловой кислоты и акрилата, гетерополисахаридные смолы и кристаллические длинноцепочечные ацильные производные. Ацильное производное с длинной цепью желательно выбирать из стеарата этиленгликоля, алканоламидов жирных кислот, имеющих от 16 до 22 атомов углерода, и их смесей. Дистеарат этиленгликоля и дистеарат полиэтиленгликоля являются предпочтительными длинноцепочечными ацильными производными, поскольку они придают перламутровый эффект композиции. Полиакриловая кислота коммерчески доступна как Carbopol® 420, Carbopol® 488 или Carbopol® 493. Также могут быть использованы полимеры акриловой кислоты, сшитые с полифункциональным агентом; они коммерчески доступны как Carbopol® 910, Carbopol® 934, Carbopol® 941 и Carbopol® 980. Примером подходящего сополимера карбоновой кислоты, содержащей мономер и эфиры акриловой кислоты, является Carbopol® 1342. Доступны все материалы Carbopol (товарный знак) из Goodrich.

Подходящими сшитыми полимерами акриловой кислоты и акрилатных эфиров являются Pemulen® TR1 и Pemulen® TR2. Подходящей гетерополисахаридной камедью является ксантановая камедь, например та, которая доступна как Kelzan.

Могут быть использованы смеси любого из вышеуказанных суспендирующих агентов. Предпочтительной является смесь сшитого полимера акриловой кислоты и кристаллического длинноцепочечного ацильного производного.

Суспендирующий агент, если он включен, обычно присутствует в количестве от 0,1 до 10 мас.%, предпочтительно от 0,5 до 6 мас.%.

Композиция по изобретению может содержать другие ингредиенты для повышения эффективности и/или приемлемости для потребителя. Такие ингредиенты включают ароматизаторы, красители и пигменты, агенты, регулирующие pH, перламутровые или матирующие средства, модификаторы вязкости,



консерванты и натуральные питательные вещества для волос, такие как растительные средства, экстракты фруктов, производные сахара и аминокислоты.

Предпочтительно, чтобы композиция шампуня была на водной основе. Он предпочтительно содержит от 70 до 95 мас.% воды.

Кондиционер для волос.

В альтернативном варианте композиция для местного нанесения по изобретению представляет собой кондиционер для волос.

Когда посредством использования композиции по изобретению необходимо обеспечить преимущества кондиционирования, композицию называют кондиционером для волос. Как правило, наиболее популярными кондиционирующими агентами, используемыми в композициях для ухода за волосами, являются нерастворимые в воде масляные материалы, такие как минеральные масла, встречающиеся в природе масла, такие как триглицериды и силиконовые полимеры. Выгода от кондиционирования достигается за счет того, что маслянистый материал осаждается на волосах, что приводит к образованию пленки, которая облегчает расчесывание волос во влажном состоянии и делает их более послушными в сухом состоянии. Особенно полезным кондиционирующим агентом является силикон, предпочтительно нелетучий силикон. Преимущественно композиции в данном документе могут включать один или несколько силиконов. Силиконы являются кондиционирующими агентами, находящимися в дисперсной или суспензированной форме частиц. Они предназначены для нанесения на волосы и остаются на волосах после промывания волос водой. Подходящие силиконовые масла могут включать полиалкилсилоксаны, полиарилсилоксаны, полиалкиларилсилоксаны, полиэфирсилоксановые сополимеры и их смеси. Аминосиликоны часто составлены в композиции шампуня. Аминосиликоны представляют собой силиконы, содержащие по меньшей мере одну первичную аминогруппу, вторичную аминогруппу, третичную аминогруппу или четвертичную аммониевую группу. Можно также использовать силиконовые смолы с высокой молекулярной массой (ненаполненный силиконовый каучук). Другим полезным типом являются сшитые силиконовые эластомеры, такие как кроссполимеры диметикон/винил/диметикон (например, Dow Corning 9040 и 9041).

Предпочтительно, чтобы композиция кондиционера для волос по изобретению содержала от 0,1 до 10 мас.%, более предпочтительно от примерно 0,1 до примерно 8 мас.% силикона. В альтернативном варианте кондиционер для волос не содержит силикона и содержит не более, чем 1 мас.% силикона. Предпочтительно, чтобы pH композиции был равен более, чем 4,0, более предпочтительно от 5,0 до 7,0.

Композиция кондиционера для волос по изобретению предпочтительно также может содержать от 0,5 до 10 мас.% жирного спирта. Полагают, что комбинированное использование жирных спиртов и катионных поверхностно-активных веществ в кондиционирующих композициях является особенно выгодным, поскольку это приводит к образованию слоистой фазы, в которой диспергировано катионное поверхностно-активное вещество.

Типичные жирные спирты содержат от 8 до 22 атомов углерода, более предпочтительно от 16 до 22. Жирные спирты обычно представляют собой соединения, содержащие алкильные группы с прямой цепью. Примеры подходящих жирных спиртов включают цетиловый спирт, стеариловый спирт и их смеси. Использование этих материалов также выгодно тем, что они способствуют общим кондиционирующим свойствам композиций по изобретению.

Смываемые или несмываемые композиции для кожи.

В другом аспекте противомикробная композиция по изобретению представляет собой противоугревную композицию, эффективную по меньшей мере против *P. acnes*. Кроме того, в альтернативном варианте композиция по изобретению представляет собой смываемую или несмываемую композицию, эффективную, по меньшей мере, против *S. aureus*.

Такие композиции могут быть использованы для ухода за кожей, например для ухода за телом, руками или лицом или в качестве моющей композиции для личного использования, такой как гель для душа. В альтернативном варианте эта композиция - дезинфицирующее средство для рук.

Предпочтительно, чтобы композиция по изобретению содержала от 5 до 80 мас.% поверхностно-активного вещества, которое представляет собой мыло или поверхностно-активное вещество без мыла, или их комбинацию. Природа поверхностно-активных веществ зависит от области применения. Предпочтительно поверхностно-активное вещество представляет собой неионогенное поверхностно-активное вещество, такое как  $C_8$ - $C_{22}$ , предпочтительно этоксилаты жирных  $C_8$ - $C_{16}$  спиртов, содержащие от 1 до 8 этиленоксидных групп, когда продукт находится в жидкой форме. В альтернативном варианте поверхностно-активное вещество представляет собой анионное поверхностно-активное вещество без мыла, выбранное из первичных алкилсульфатов, вторичных алкилсульфонатов, алкилбензолсульфонатов или этоксилированных алкилсульфатов. Композиция может дополнительно содержать анионное поверхностно-активное вещество, такое как алкилэфирсульфат, предпочтительно такое, которое имеет от 1 до 3 этиленоксидных групп, либо из природного, либо из синтетического источника, и/или сульфоновой кислоты. Особенно предпочтителен лауретсульфат натрия. Алкилполиглюкозид также может присутствовать в композиции, предпочтительно такой, который имеет длину углеродной цепи между  $C_6$  и  $C_{16}$ .

Особенно предпочтительно, чтобы поверхностно-активное вещество представляло собой мыло, бо-

лее предпочтительно от 5 до 90 мас.%, более предпочтительно от 10 до 85 мас.%. Мыло является подходящим поверхностно-активным веществом для личного применения при мытье. Предпочтительно мыло содержит мыло C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>, более предпочтительно мыло C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub> и наиболее предпочтительно мыло C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>. Катион мыла может быть щелочным металлом, щелочноземельным металлом или аммонием. Предпочтительно катион мыла представляет собой натрий, калий или аммоний. Более предпочтительно катион представляет собой натрий.

Типичная смесь жирных кислот состоит из 5-30% кокосовых жирных кислот и 70-95% жирных кислот. Жирные кислоты, полученные из других подходящих масел/жиров, таких как арахис, соя, сало, пальма или ядро кокосового ореха, также могут быть использованы в других желаемых пропорциях.

Предпочтительно противоугревая композиция, будь то смываемая или несмываемая композиция, включает другие известные ингредиенты, такие как отдушки, пигменты, консерванты, смягчающие средства, солнцезащитные средства, эмульгаторы, желирующие агенты и загустители. Выбор этих ингредиентов во многом будет зависеть от формата композиции.

Когда носителем является вода, предпочтительно, чтобы композиция содержала от 10 до 90 мас.% воды.

Неорганические материалы в виде частиц также могут быть подходящим носителем. Когда носителем является неорганический материал в виде частиц, противомикробные композиции по изобретению являются твердыми. Предпочтительно неорганический дисперсный материал представляет собой тальк. Когда неорганический материал в виде частиц представляет собой тальк, противомикробная композиция особенно полезна в качестве порошка талька для нанесения на лицо или тело.

Кроме того, в альтернативном варианте предпочтительным носителем может быть растворитель, отличный от воды. Хотя можно использовать любой подходящий и косметически приемлемый растворитель, спирты являются предпочтительными. Спирты с короткой цепью, в частности этанол и пропанол, особенно предпочтительны в качестве носителя для антимикробной салфетки или противомикробной дезинфицирующей композиции для рук. Композиция по настоящему изобретению может быть в форме салфеток, предназначенных для личной гигиены.

#### **Применение и способ в соответствии с изобретением**

В соответствии со вторым аспектом раскрыто применение композиции по первому аспекту в качестве противомикробной композиции для местного нанесения. Предпочтительно композиция для местного нанесения представляет собой композицию против акне, эффективную по меньшей мере против *P. acnes*. В альтернативном варианте композиция для местного нанесения представляет собой композицию против перхоти, эффективную против по меньшей мере некоторых видов *Malassezia* spp. Кроме того, в альтернативном варианте композиция для местного нанесения представляет собой смываемую или несмываемую композицию, эффективную по меньшей мере против *S. aureus*. Предпочтительно, чтобы применение по изобретению было предназначено для нетерапевтических целей. Предпочтительно нетерапевтическое назначение означает применение для косметических целей. В альтернативном варианте применение композиций в соответствии с изобретением имеет терапевтическую цель. Специалисты в данной области техники понимают разницу между терапевтическим и не терапевтическим применением композиций.

В соответствии с другим аспектом раскрыт способ обеспечения местного противомикробного действия, включающий этап нанесения безопасного и эффективного количества противомикробной композиции для местного нанесения по первому аспекту. Термин "безопасное эффективное количество" хорошо известен специалистам в данной области техники, и такие количества могут варьироваться в зависимости от формата продукта, например, указанное количество в случае композиции дезинфицирующего средства для рук может составлять от 1 до 2 мл для каждого применения, в то же время это количество может составлять от 5 до 10 мл для каждого применения в случае шампуней. Предпочтительно композиция для местного нанесения представляет собой композицию против акне, эффективную по меньшей мере против *P. acnes*.

В альтернативном варианте композиция для местного нанесения представляет собой композицию против перхоти, эффективную против по меньшей мере некоторых видов *Malassezia* spp. Кроме того, в альтернативном варианте композиция для местного нанесения представляет собой смываемую или несмываемую композицию, эффективную по меньшей мере против *S. aureus*. Предпочтительно, чтобы способ в соответствии с изобретением был предназначен для нетерапевтических целей. Предпочтительно нетерапевтическое назначение означает применение для косметических целей. В альтернативном варианте способ композиций в соответствии с изобретением имеет терапевтическую цель. Специалисты в данной области техники понимают разницу между терапевтическим и не терапевтическим использованием композиций.

В соответствии с еще одним аспектом раскрыта композиция для местного нанесения в качестве композиции против акне, эффективная по меньшей мере против *P. acnes*. В соответствии с еще одним аспектом раскрыта композиция против перхоти, эффективная против по меньшей мере некоторых видов *Malassezia* spp. В соответствии с еще одним аспектом раскрыта композиция для смывания или оставления, эффективная, по меньшей мере, против *S. aureus*.

Далее изобретение будет подробно описано с помощью следующих неограничивающих примеров.

Пример.

Антимикробная эффективность типичных композиций по изобретению определялась в отношении трех организмов; *M. furfur*, *S. aureus* и *P. acnes*.

Далее соответствующие процедуры будут кратко объяснены.

Метод:  $\Sigma$ FIC анализ на *M. furfur*, *S. aureus* и *P. acnes*.

Стадия 1: Микробная культура и подготовка.

*M. furfur* (CBS 1878) инокулировали в бульон Pityosporum (PB, раствор A) и инкубировали во встряхиваемом инкубаторе при 32°C в течение 2 дней. Затем суспензию, содержащую микроб, разбавляли в 10 раз PB и снова инкубировали при 32°C в течение еще 2 дней. Инокулят дополнительно разбавляли PB, чтобы получить около  $10^4$  клеток/мл.

*S. aureus* (ATCC 12600) инокулировали в триптонный соевый бульон (TSB, Oxoid: CM0129) и инкубировали во встряхиваемом инкубаторе при 37°C в течение 1 дня. Суспензию, содержащую микроб, затем разбавляли в 10 раз TSB и снова инкубировали при 37°C в течение еще 1 дня. Инокулят дополнительно разбавляли TSB, чтобы получить около  $10^5$  клеток/мл.

*Propionibacterium acnes* (ATCC 6919) инокулировали из морозильника в жидкую усиленную клостридиальную среду (RCM, HeroBio: HB0316) в течение 3 дней (анаэробные условия) роста при 37°C. Затем суспензию, содержащую микроб, разбавляли в 10 раз RCM и снова инкубировали при 37°C в течение еще 3 дней. Инокулят дополнительно разбавляли с помощью RCM, чтобы получить около  $10^4$  клеток/мл.

Приготовление раствора A:

Бульон Pityosporum (PB).

10 г Бактериологический пептон.

0,1 г Дрожжевого экстракта.

10 г Желчи крупного рогатого скота.

2,5 г Таурохолевой кислоты.

10 г Глюкозы.

1 л Деионизированной воды.

0,5 мл Твин 60.

1 мл Глицерина.

pH, доведенный до 6,2.

После стерилизации,

0,5 мл УВТ молока (ультрапастеризованного молока).

Стадия 2. Подготовка исходных растворов соответствующего ингредиента для исследования.

Хонокиол (напр. Sigma) 50 мг/мл в ДМСО (50000 ч./млн); Магнолол (напр. Sigma) 50 мг/мл в ДМСО (50000 ч./млн); Сапиеновая кислота (напр. Parchem, CAS # 17004-51-2) 100 мг/мл в 100% этаноле (100000 ч./млн); D-сфингозин (напр. Sigma S7049) 5 мг/мл в 50% этаноле (5000 ч./млн); D-эритродигидросфингозин (напр. Sigma D3314) 5 мг/мл в 50% этаноле (5000 ч./млн); Фитосфингозин (напр. Evonik) 5 мг/мл исходный раствор в 50% этаноле (5000 ч./млн); Пальмитолеиновая кислота (напр. Sigma 76169) 100 мг/мл в 100% этаноле (100000 ч./млн).

Все препараты проверяли на полное растворение перед разделением на аликвоты и хранили при -20°C для использования.

Стадия 3: Тест  $\Sigma$ FIC.

Тест  $\Sigma$ FIC проводили на основе принципа, ранее описанного в Hall MJ, Middleton RF, & Westmacott D (1983), The fractional inhibitory concentration (FIC) index as a measure of synergy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 11(5):427-433. Процедура выглядит следующим образом:

Двадцать (20) мкл соединения A (хонокиол или магнолол в зависимости от испытания) и 20 мкл соединения B (выбор различных AML в зависимости от испытания) смешивали в соответствующих лунках 96-луночного планшета. Количество 160 мкл микробной суспензии было распределено в каждую лунку и бульонную среду, взятую в качестве холостого контроля для сравнения результатов. Общий объем реакции в каждой лунке составлял 200 мкл.

После этого 96-луночные планшеты инкубировали в инкубаторе. В соответствии с протоколами испытаний, которые были соблюдены, *M. furfur* инкубировали аэробно при 32°C в течение 1 дня, *S. aureus* инкубировали аэробно при 37°C в течение 1 дня и *P. acnes* инкубировали анаэробно при 37°C в течение 4 дней. После этого в каждую лунку добавляли 20 мкл аламарского синего (0,1%) и процедуру инкубации (как указано выше) повторяли. Наконец, изменение цвета индикатора контролировалось для проверки видимых признаков роста микробов или торможения роста. Если цвет меняется на красный, это указывает на рост (микробов), а синий указывает на отсутствие роста или торможение роста.

После того, как все наблюдения были записаны и сведены в таблицу, была рассчитана концентрация фракционного ингибирования (FIC). Комбинированный эффект ингибирующих противомикробных препаратов широко изучается с использованием концепций фракционной концентрации (FC) и фракционной ингибирующей концентрации (FIC). Этот параметр определяется следующим образом:

$$\Sigma FIC = FIC (\text{компонент 1}) + FIC (\text{компонент 2})$$

Далее, вывод, который можно сделать из значения  $\Sigma FIC$ , обобщен в таблице ниже.

$\Sigma FIC = 1$	Аддитивная противомикробная активность	неприемлемая
$\Sigma FIC > 1$	Антагонистическая противомикробная активность	неприемлемая
$\Sigma FIC < 0,9$	Синергетическая противомикробная активность	изобретение

Конечная концентрация каждого ингредиента в миллионных долях (частей на миллион) после (10-кратного разбавления) была следующей. Каждая из этих концентраций была опробована для определения значения FIC для (любого из) хонокиола и магнолола в сочетании с одним из AML.

В отношении *M. furfur*:

Хонокиол - 5000, 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25, 78,13, 39,07, 19,53, 9,77, 4,88 и 0.

Магнолол - 5000, 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25, 78,13, 39,07, 19,53, 9,77, 4,88 и 0.

Сапиеновая кислота - 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312,5, 156,3 и 0

D-сфингозин - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81 и 0

D-эритро-дигидросфингозин - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81 и 0

Фитосфингозин - 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91 и 0.

Пальмитолеиновая кислота - 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312,5, 156,3 и 0

В отношении *S. aureus*:

Хонокиол - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,93, 0,98, 0,49 и 0

Магнолол - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,93, 0,98, 0,49 и 0

Сапиеновая кислота: 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,95 и 0.

D-сфингозин: 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63, 0,31 и 0

D-эритро-дигидросфингозин: 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63 и 0

Фитосфингозин: 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63 и 0

Пальмитолеиновая кислота: 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,95 и 0

В отношении *P. acne*:

Хонокиол - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,93, 0,98, 0,49 и 0

Магнолол - 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,93, 0,98, 0,49 и 0

Сапиеновая кислота - 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,95 и 0.

D-сфингозин - 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63, 0,31 и 0

D-эритро-дигидросфингозин - 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63 и 0

Фитосфингозин - 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63 и 0

Пальмитолеиновая кислота - 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,95 и 0

Результаты:

Было отмечено, что имел место синергетический эффект хонокиола и магнолола с AML против *M. furfur* (табл. 1 и 2), *S. aureus* (табл. 3 и 4) и *P. acnes* (табл. 5 и табл. 6).

Таблица 1

Влияние хонокиола и AML на *M. Furfur*

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma FIC$ составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения хонокиол/AML (мас./мас.), где $\Sigma FIC$ составила менее, чем 0,9
	хонокиол	AML	
Сапиеновая кислота	625-1250	625-2500	0,25-1
Сфингозин	312,5-1250	31,25-250	1,25-40
Дигидросфингозин	625-1250	31,25-125	5-40
Фитосфингозин	625-1250	15,63-62,5	10-80
Пальмитолеиновая кислота	312,5-1250	625-5000	0,06-2

Данные указывают на в значительной мере широкий диапазон концентраций хонокиола и соответствующего антимикробного липида, имеющийся в распоряжении ученых, которые могут использовать эти вещества в своих интересах. Тот факт, что  $\Sigma FIC$  составляла менее 0,9 в широком диапазоне количеств хонокиола при использовании в сочетании с любым из пяти AML, подразумевает, что можно составить высокоэффективные противомикробные композиции, содержащие два активных ингредиента, с должным учетом того факта, что эксперименты проводились в тестовых условиях, и количество ингредиентов может не совпадать или не отражать практические количества в условиях использования, то есть таких композиций, как шампунь или крем для ухода за кожей.

Наблюдения и выводы, сделанные на основе данных в табл. 1, применимы *mutatis mutandis* к дан-

ным, приведенным в табл. 2-6.

Таблица 2

## Влияние магнолола и AMLs на M. Furfur

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения магнолол/AML (мас./мас.), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9
	магнолола	AML	
Сапиеновая кислота	312,5-1250	625-5000	0,06-2
Сфингозин	625-1250	31,25-125	5-40
Дигидросфингозин	625-1250	15,63-125	5-80
Фитосфингозин	625-1250	3,91-62,5	10-320
Пальмитолеиновая кислота	156,25-1250	625-5000	0,03-2

Таблица 3

## Влияние хонокиола и AML на S. aureus

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения хонокиол/AML (мас./мас.), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9
	хонокиол	AML	
Сапиеновая кислота	0,49-7,81	3,91-62,5	0,008-2
Сфингозин	0,98-7,81	0,31-1,25	0,8-25
Дигидросфингозин	1,95-7,81	0,63-2,50	0,8-12,5
Фитосфингозин	1,95-7,81	0,63-5,00	0,4-12,5
Пальмитолеиновая кислота	0,49-7,81	3,91-62,5	0,008-2

Таблица 4

## Влияние магнолола и AML против S. aureus

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения магнолол/AML (мас./мас.), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9
	магнолол	AML	
Сапиеновая кислота	0,49-7,81	1,95-31,25	0,01-4
Сфингозин	0,98-7,81	0,31-0,63	1,5-25
Дигидросфингозин	0,49-7,81	0,63-1,25	0,4-12,5
Фитосфингозин	0,49-7,81	0,63-2,50	0,2-12,5
Пальмитолеиновая кислота	0,49-7,81	3,91-52,5	0,008-2

Таблица 5

## Влияние хонокиола и AML против P. acnes

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения магнолол/AML (мас./мас.), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9
	хонокиол	AML	
Сапиеновая кислота	0,98-1,95	1,95-3,91	0,25-1
Сфингозин	0,98-3,91	0,31-1,25	0,7-13
Дигидросфингозин	0,49-3,91	0,63-2,50	0,2-6,5
Фитосфингозин	0,98-3,91	1,25-5,00	0,2-3,2
Пальмитолеиновая кислота	0,49-1,95	1,95-7,81	0,06-1

Таблица 6

## Влияние магнолола и AML против P. acnes

AML	Диапазон концентрации ингредиента (ppm), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9		Диапазон соотношения магнолол/AML (мас./мас.), где $\Sigma$ FIC составила менее, чем 0,9
	магнолол	AML	
Сапиеновая кислота	0,98-1,95	1,95-3,91	0,25-1
Сфингозин	1,95-3,91	0,31-1,25	1,5-13
Дигидросфингозин	1,95-3,91	0,63-2,50	0,7-6,5
Фитосфингозин	1,95-7,81	0,63-5,00	0,4-12,5
Пальмитолеиновая кислота	0,98-7,81	1,95-7,81	0,1-4

Таким образом, в целом, наблюдения, приведенные в табл. 1-6, четко указывают на то, что антимикробный липид, обнаруживаемый в кожном сале или роговом слое человека (кроме насыщенных жирных  $C_{8-18}$  кислот), синергетически взаимодействует с бифенолом, полученным из *Magnolia spp.* Было обнаружено, что их взаимодействие является синергетическим в широких диапазонах концентрации, и синергетическое взаимодействие было очевидно из факта, что  $\Sigma$ FIC была меньше, чем 0,9.

Все эксперименты, описанные выше, проводились в условиях *in vitro*, чтобы установить, является ли аддитивная комбинация антимикробного липида, обнаруживаемого в кожном сале или роговом слое человека, кроме насыщенных жирных кислот  $C_{8-18}$ , и бифенола, получаемого из *Magnolia spp.*, синергической, аддитивной или антагонистической через их индивидуальную активность в отношении соответствующего микроба. Что касается экспериментов, концентрации ингредиентов были выбраны так, чтобы

они попадали в допустимые пределы в соответствующих испытаниях, в которых можно было зарегистрировать технические эффекты. Следовательно, концентрации, при которых проводились испытания, могут не соответствовать диапазону, в котором такие ингредиенты обычно используются в косметических композициях (обычно в мас.%).

Композиции по изобретению могут быть составлены в виде эмульсии или геля с другими обычными ингредиентами, которые могут влиять на концентрацию желаемых активных веществ в масляной фазе и в водной фазе. Такие композиции могут также иметь различный набор физических и гидродинамических свойств, таких как коэффициенты разделения, скорости диффузии, скорости конвективного переноса и реологические свойства. Поэтому ожидается, что концентрации, которые будут использоваться при составлении композиции, могут отличаться от концентраций на клеточных уровнях, на которых проводились эксперименты, и обычно используемые концентрации лежат на порядки выше.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Противомикробная композиция для местного нанесения, содержащая антимикробный липид, обнаруживаемый в каждом сале или роговом слое человека, отличающийся от насыщенных C<sub>8-18</sub> жирных кислот, где

(i) указанная композиция содержит бифенол, получаемый из *Magnolia* spp., где

(ii) указанный липид представляет собой по меньшей мере одно из сапиеновой кислоты, сфингозина, дигидросфингозина, фитосфингозина, 6-гидроксифитосфингозина или пальмитолеиновой кислоты, где

(iii) количество указанного липида составляет от 0,01 до 10 мас.%, и где

(iv) количество указанного бифенола, получаемого из *Magnolia* spp., составляет от 0,01 до 10 мас.%.

2. Композиция по п.1, содержащая водный или водно-спиртовой экстракт коры *Magnolia* spp, который, в свою очередь, содержит указанный бифенол.

3. Композиция по п.1 или 2, в которой указанный бифенол представляет собой по меньшей мере один из хонокиола или магнолола.

4. Композиция по п.3, которая содержит хонокиол и магнолол.

5. Композиция по любому из пп.1-4, которая содержит от 0,01 до 10 мас.% указанного хонокиола или от 0,01 до 10 мас.% указанного магнолола, при условии, что когда указанная композиция содержит и хонокиол, и магнолол, их суммарное количество составляет от 0,01 до 10 мас.% указанной композиции.

6. Применение композиции по любому из пп.1-5 в качестве противомикробной композиции для местного нанесения.

7. Применение по п.6, где указанная композиция для местного нанесения представляет собой композицию против акне, эффективную по меньшей мере в отношении *P. acnes*.

8. Применение по п.6, где указанная композиция для местного нанесения представляет собой композицию против перхоти, эффективную по меньшей мере в отношении некоторых видов *Malassezia* spp.

9. Применение по п.6, где указанная композиция для местного нанесения является смываемой или несмываемой композицией, эффективной по меньшей мере в отношении *S. aureus*.

10. Применение по любому из пп.6-9, где указанное применение предназначено для нетерапевтических целей.

11. Применение по п.10, где указанная нетерапевтическая цель означает косметическое назначение.

12. Способ обеспечения местного противомикробного эффекта, включающий этап нанесения безопасного и эффективного количества противомикробной композиции для местного нанесения по любому из пп.1-5.

