

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2022/203538 A1

(43) Дата международной публикации
29 сентября 2022 (29.09.2022)

(51) Международная патентная классификация:

A61K 8/18 (2006.01) A61K 36/61 (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01) A61Q 17/00 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01) A61Q 19/10 (2006.01)

(21) Номер международной заявки: PCT/RU2021/000272

(22) Дата международной подачи:
28 июня 2021 (28.06.2021)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:
2021108187 26 марта 2021 (26.03.2021) RU

(71) Заявитель: "СКАЙЛАБ АГ" (SKYLAB AG)
[CH/CH]; Нюшелерштрассе, 31 Цюрих, , 8001, Zurich
(CH).

(72) Изобретатели: БЕЛОУС, Елена Юрьевна (BELOUS,
Elena Yur'evna); ул. Большая Филевская, д. 17, кв. 100,
Москва, 121309, Moscow (RU). ФИЛАТОВ, Виктор
Андреевич (FILATOV, Viktor Andreyevich); ул. Гага-
рина, д. 4, к. 1, кв. 5, Пермский край, г. Чайковский,
617762, g. Chaykovskiy (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN,
KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,

NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,
SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

— касающаяся права заявителя подавать заявку на
патент и получать его (правило 4.17 (ii))
— об авторстве изобретения (правило 4.17 (iv))

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(54) Title: BIOLOGICALLY ACTIVE QUADROCOMPLEX FOR REGULATING THE BIODIVERSITY OF SKIN MICROBIOTA

(54) Название изобретения: БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ КВАДРОКОМПЛЕКС ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ
БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОТЫ КОЖИ

(57) Abstract: The present invention can be used in the manufacture of cosmetic skin care agents for the hands and/or body, as well as household cleaning agents. The claimed biologically active complex is intended for use in cosmetic agents and/or household cleaning agents and consists of: a) essential oil of tea tree (*Melaleuca alternifolia*), b) alpha-bisabolol, c) 1,8-cineole obtained from leaves of eucalyptus *Eucalyptus spp.*, d) an aqueous solution of citric acid and silver citrate, where said aqueous solution contains 19-23 wt% citric acid and 2280-2640 parts per million of silver citrate, and where the mass ratio of the ingredients a:b:c:d is (0.1-0.5):(0.05-0.3):(0.05-0.35):(0.01-0.2). The quadrocomplex can be used for regulating skin microbiota by, inter alia, inhibiting the growth of a population of opportunistic pathogens, including bacteria and fungi, maintaining the stability of resident microflora, exerting a pronounced antibacterial effect on transient microflora, and breaking down biofilms of opportunistic pathogens.

(57) Реферат: Настоящее изобретение может быть использовано при изготовлении парфюмерно-косметических средств для ухода за кожей рук и/или тела, а также средств бытовой химии. Биологически активный комплекс предназначен для использования в парфюмерно-косметических средствах и/или бытовой химии и состоит из: а) эфирного масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), б) альфа-бисаболола, в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus spp.*, г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра, где указанный водный раствор содержит 19-23% масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра и где массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,1-0,5):(0,05-0,3):(0,05-0,35):(0,01-0,2) соответственно. Квадрокомплекс может применяться для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибов, поддержание устойчивого состояния резидентной микрофлоры, выраженное антибактериальное воздействие на транзиторную микрофлору, разрушение биопленок условно-патогенных микроорганизмов.

WO 2022/203538 A1

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ КВАДРОКОМПЛЕКС ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОТЫ КОЖИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение может быть использовано при изготовлении парфюмерно-косметических средств для ухода за кожей рук и/или тела, а также средств бытовой химии. Биологически активный комплекс предназначен для использования в парфюмерно-косметических средствах и/или бытовой химии и состоит из: а) эфирного масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), б) альфа-бисаболола, в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus spp.*, г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра, где указанный водный раствор содержит 19-23% масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра и где массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,1-0,5):(0,05-0,3):(0,05-0,35):(0,01-0,2) соответственно. Квадрокомплекс может применяться для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, поддержание устойчивого состояния резидентной микрофлоры, выраженное антибактериальное воздействие на транзитную микрофлору, разрушение биопленок условно-патогенных микроорганизмов

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Ежедневно человек соприкасается с большим количеством поверхностей в общественных местах и доме. Для того чтобы обезопасить себя от бактерий, необходимо заботиться о гигиене рук, поскольку именно чистота рук является залогом здоровья и, соответственно, высокого качества жизни людей. В связи с частым контактом рук с наиболее патогенными микроорганизмами, в частности золотистым стафилококком *Staphylococcus aureus*, кишечной палочкой *Escherichia coli*, бациллами *Bacillus spp.*, энтерококками *Enterococcus spp.* и синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa*, гигиена остается самым надежным способом обезопасить себя от бактериально-ассоциированных заболеваний по рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения [https://www.who.int/patientsafety/information_centre/Last_April_version]

HH_Guidelines%5B3%5D.pdf].

По оценкам специалистов, здоровье кожи является одной из основополагающих основ общего здоровья человека. Инфекционные заболевания кожи в значительной мере влияют на качество жизни людей, социальные аспекты и обуславливают развитие других серьезных заболеваний. Так, мытье рук мылом значительно снижает вероятность развития острых респираторных инфекций и заболеваний из группы диарей [Curtis V & Cairncross S (2003) Effect of washing hands with soap on diarrhoea risk in the community: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases* 3, 275–281.; Rabie T & Curtis V (2006) Handwashing and risk of respiratory infections: a quantitative systematic review. *Tropical Medicine & International Health* 11, 258–267.; Aiello AE, Coulborn RM, Perez V & Larson EL (2008) Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. *American Journal of Public Health* 98, 1372–1381.]. Несмотря на широкую распространенность санитайзеров, мытье рук мылом после остается важной мерой для профилактики заболеваний, передающихся фекально-оральным путем из окружающей среды, путем контакта с продуктами питания и источниками воды [Curtis V, Cairncross S & Yonli R (2000) Domestic hygiene and diarrhoea – pinpointing the problem. *Tropical Medicine & International Health* 5, 22–32.]. Кроме заболеваний из группы диарей, мытье рук предотвращает передачу возбудителей пневмонии, гриппа, гельминтозных болезней, трахомы, инфекций плода, ВИЧ-ассоциированных инфекций и заболеваний желудочно-кишечного тракта [Aiello AE, Coulborn RM, Perez V & Larson EL (2008) Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. *American Journal of Public Health* 98, 1372–1381; Blencowe H, Cousens S, Mullany LC et al. (2011) Clean birth and postnatal care practices to reduce neonatal deaths from sepsis and tetanus: a systematic review and Delphi estimation of mortality effect. *BMC Public Health* 11 (Suppl. 3), S11.; Ejemot RI, Ehiri JE, Meremikwu MM & Critchley JA (2012) Hand washing for preventing diarrhoea. *Cochrane Database Systematic Review* CD004265]. Гигиена рук является достаточной мерой для защиты передачи инфекций с пищей в учреждениях здравоохранения, детских садах, образовательных учреждениях [Roberts L, Jorm L, Patel M, Smith W, Douglas RM & McGilchrist C (2000) Effect of infection control measures on the frequency of diarrheal episodes in child care: a randomized, controlled trial. *Pediatrics*, 105 (pt 1), 743–746.; Bowen A, Ma H, Jianming O et al. (2007) A cluster-randomized controlled trial evaluating the effect of a handwashing-promotion program in Chinese primary schools. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76, 1166–1173]. Ранее проведенные исследования подтверждают, что использование средств гигиены рук является одной из самых эффективных мер для предотвращения глобальных эпидемий как с

эпидемиологической, так и с экономической точки зрения [Cairncross S & Valdmanis V (2006) Water supply, sanitation, and hygiene promotion. In: Disease Control Priorities in Developing Countries, 2nd edn (eds DT Jamison, JG Breman, AR Measham, G Alleyne, M Claeson, DB Evans, P Jha, A Mills & P Musgrove) World Bank, Washington, DC, Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11755/> (Accessed 13 December 2013)].

Гигиена рук является наиболее привычной, эффективной, простой и недорогой мерой для предотвращения распространения инфекционных заболеваний, связанных со здоровьем всего человечества (HAIs) [Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Higienização das mãos em serviços de saúde [Internet]. [acesso 24 ago 2012]. 2007. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/higienizacao_maos.pdf]. Эффективная гигиена рук не только снижает микробную контаминацию рук как антисептические средства, но и, при соблюдении соответствующих мер, не оказывает негативного воздействия на кожу. Рекомендуется, чтобы продукты гигиены были одобрены регуляторными органами и хорошо переносились кожей во избежание повышения чувствительности и раздражения [Centers for Disease Control and Prevention (USA). Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Health Care Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. 2002 [Internet]. [acesso 27 ago 2012] Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5116a1.htm>]. По результатам мета-анализов и интервенционных исследований по всему миру, было показано, что регулярная гигиена рук позволяет снизить риск развития заболеваний группы диарей на 33% ($p < 0.05$). Использование мыла с антибактериальными компонентами позволяет добиться снижения показателя на 40% [Freeman, M. C., Stocks, M. E., Cumming, O., Jeandron, A., Higgins, J. P. T., Wolf, J., Curtis, V. (2014). Systematic review: Hygiene and health: systematic review of handwashing practices worldwide and update of health effects. *Tropical Medicine & International Health*, 19(8), 906–916. doi:10.1111/tmi.12339].

В настоящее время необходимость использования средств гигиены для обработки рук ни у кого не вызывает сомнений. Однако только треть населения в мире моет руки с мылом после посещения туалета, а ежегодный ущерб от пренебрежения правилами гигиены, по данным Европейского центра контроля и профилактики заболеваний, достигает 30 миллиардов долларов. Мытье рук с мылом остается самым эффективным способом профилактики инфекций, от которых в мире ежегодно умирает более 1,4 миллиона детей. Установлено, что, если родители часто моют руки, смертность новорожденных от респираторных инфекций снижается на 20%, а от кишечных на 50%. Только 19% людей всего мира моет руки после контакта с загрязненными

поверхностями. Особенно стоит отметить, что на использование мыла для мытья рук влияет экономическое благосостояние стран. В частности, в странах с низким и средним уровнем дохода лишь 13-17% людей моют руки соответственно, а в развитых странах данный показатель достигает 42-49%. Жители Республики Кореи и Израиля имеют самый низкий уровень мытья рук с мылом по сравнению с высоко развитыми странами мира. Самый высокий показатель приверженности гигиене зафиксирован в Новой Зеландии (72%), Великобритании (52%), Нидерландах (50%) и США (49%) [Freeman, M. C., Stocks, M. E., Cumming, O., Jeandron, A., Higgins, J. P. T., Wolf, J., Curtis, V. (2014). Systematic review: Hygiene and health: systematic review of handwashing practices worldwide and update of health effects. *Tropical Medicine & International Health*, 19(8), 906–916. doi:10.1111/tmi.12339]. Таким образом, разработка новых продуктов с антибактериальным эффектом будет поддерживать стратегию развития гигиены во многих странах мира, поскольку низкая приверженность и высокий уровень заболеваемости инфекционными заболеваниями во всем мире создают условия для возникновения эпидемий. Согласно литературным данным, использование мыла с антибактериальным эффектом в перспективе позволит снизить количество смертей на более 299 тысяч человек во всем мире [Pruss-Ustun A, Bartram J, Clasen T et al. (2014) Burden of diarrhoeal disease from inadequate water, sanitation and hygiene in low- and middle-income settings: a retrospective analysis of data from 147 countries. *Tropical Medicine & International Health*. doi: 10.1111/tmi.12329]. Просвещение людей в области гигиены и рекомендации по использованию антибактериальных средств позволили снизить заболеваемость респираторными инфекциями на 21% во всех странах мира без учета уровня жизни населения, поскольку проблема гигиены рук является глобальной [Aiello AE, Coulborn RM, Perez V & Larson EL (2008) Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. *American Journal of Public Health* 98, 1372–1381].

В 2019 году в Российской Федерации зафиксировано более 300 вспышек инфекционных заболеваний, возникших как «болезни грязных рук». Около 85% пострадавших являются детьми. Это не только кишечные, но и воздушно-капельные инфекции с тяжелым течением. Возбудители инфекционных процессов локализуются в верхних дыхательных путях, но также длительное время сохраняются на объектах внешней среды и руках человека. Энтеновирусы, риновирусы, аденовирусы, вирусы гриппа достаточно долго сохраняются на различных поверхностях, поэтому мытье рук остается важнейшей гигиенической процедурой, предупреждающей распространение возбудителей и заражение людей. Тщательное мытье рук с мылом надежно очищает

кожу от патогенов. После мытья на поверхности кожи сохраняется около 8% патогенных бактерий, таких как энтерококки *Enterococcus spp.*, представителей группы кишечной палочки *Escherichia spp.*, сальмонеллы *Salmonella enterica* и другие бактерии.

Для профилактики инфекций рекомендуется мыть руки с мылом не менее 20 секунд, однако так поступают лишь 5% людей во всем мире. Примерно треть людей просто ополаскивают руки водой после посещения уборной, а 10% руки не моют вообще. Такие выводы сделали ученые Мичиганского университета (США) на основе наблюдений за 3749 добровольцами. Перед приготовлением и приемом пищи многие люди также не обращают внимание на изначальную чистоту рук. В эксперименте американских ученых всего 3% волонтеров (из 383) правильно мыли руки перед едой – по специальной методике, с сохранением временного интервала. Большинство добровольцев мыли руки меньше 20 секунд или не вытирали мокрые руки полотенцем. В результате у 81 % добровольцев в мазках с кожи ладоней изолированы патогенные бактерии, способные вызывать тяжелые респираторные и кишечные инфекции.

Различия в поведении, влияющие на эффективность мытья рук, включают использование перчаток, лака для ногтей, ювелирных изделий, лосьона для рук и соответствие стандартам, установленным на рабочем месте. В то время как обычное мыло работает путем связывания загрязнений и органических веществ, антисептические мыла содержат специфические бактерицидные ингредиенты, которые уничтожают как патогенные бактерии, так и бактерии-комменсалы. В рамках одного из частных экспериментов была продемонстрирована незначительная разница между мытьем рук обычным туалетным и антибактериальным мылом. Исследователи в Корее сравнили действие двух видов мыла на 20 штаммов кишечной палочки *Escherichia coli*, стрептококков *Streptococcus spp.* и стафилококков *Staphylococcus spp.* Оказалось, что 0,3% антибактериального триклозана в мыле не успевает нейтрализовать бактерии за 20 секунд, а некоторые виды, например, *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus* лучше элиминируются обычным туалетным мылом. Вместе с тем, антибактериальное мыло сохраняет длительное антимикробное действие, а через девять часов на коже рук было выявлено меньше бактерий, чем после использования обычного мыла, благодаря изменению естественного биоразнообразия микробиоты кожи.

В результате многочисленных обсуждений Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США опубликовало решение, согласно которому безрецептурные антисептические моющие средства, содержащие определенные активные ингредиенты, больше не могут быть введены в гражданский оборот, поскольку производители средств подобного рода не доказали, что ингредиенты

безопасны для длительного ежедневного использования и более эффективны, чем обычное мыло и вода, в отношении предотвращения ряда заболеваний и распространения определенных инфекций. Среди таких ингредиентов отмечены: Cloflucarban, Fluorosalan, Hexachlorophene, Hexylresorcinol, Iodophors (Iodine-containing ingredients), Iodine complex (ammonium ether sulfate and polyoxyethylene sorbitan monolaurate), Iodine complex (phosphate ester of alkylaryloxy polyethylene glycol), Nonylphenoxy (ethyleneoxy) ethaniodine, Poloxamer—iodine complex, Povidone-iodine 5 to 10 percent, Undecoylium chloride iodine complex, Methylbenzethonium chloride, Phenol (greater than 1.5 percent), Phenol (less than 1.5 percent), Secondary amyltr cresols, Sodium oxychlorosene, Tribromsalan, Triclocarban, Triclosan, Triple dye. (<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-issues-final-rule-safety-and-effectiveness-antibacterial-soaps>). В этой связи запрос потребителей на создание эффективного антибактериального моющего средства, подходящего для обработки и нанесения на кожу различных участков тела, и соответствующего современным регуляторным стандартам является весьма актуальным.

С точки зрения анатомии, кожа человека является самым большим органом, составляющим 1/6 от всей массы тела и участвующим в поддержании барьерной функции, защиты от патогенных микроорганизмов, химических веществ и токсикантов, вредного избыточного UV излучения, температурных колебаний и сухости. С самого начала онтогенеза кожа является стерильным органом, однако после рождения микроорганизмы окружающей среды быстро колонизируют роговой слой эпидермиса с формированием особой экосистемы бактерий – микробиоты. Стоит отметить, что бактериальный покров кожи является уникальным для каждого человека и изменяется в различные возрастные периоды его жизни [Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:11971–11975; Capone KA, Dowd SE, Stamatas GN, Nikolovski J. Diversity of the human skin microbiome early in life. *J Invest Dermatol* 2011; 131:2026–2032.]. По оценкам ученых, на коже обитает более 100 различных видов микроорганизмов, составляющих в общей сложности 1×10^7 микроорганизмов на 1 см^2 кожи человека [Grice EA, Kong HH, Renaud G, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res* 2008; 18:1043–1050]. Разнообразие микробиоты определяется различными факторами: колонизацией нерезидентными микроорганизмами, генетическими предпосылками, образом жизни, демографическими характеристиками и условиями окружающей среды региона проживания, а также соблюдением правил гигиены [Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, et al. The interpersonal

and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:1204–1208; Rosenthal M, Goldberg D, Aiello A, et al. Skin microbiota: microbial community structure and its potential association with health and disease. *Infect Genet Evol* 2011; 11:839–848.].

Согласно теории П. Б. Прайса, сформированной в 1938 году, микрофлора кожи состоит из 2х групп: резидентной микрофлоры, постоянно присутствующей на коже, и транзиторной флоры, временно присутствующей в поверхностных слоях кожи. Резидентная микрофлора является нормальной, комменсальной микробиотой, поддерживающей гомеостаз других микроорганизмов и обеспечивающей здоровье кожи [Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infections of the skin. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2001; 6:170–174.]. Разнообразие транзиторной и резидентной микрофлоры кожи определяется топографическими особенностями региона кожи и его свойствами (рН, степень увлажнения, содержание минеральных веществ и себума), а также может варьировать от внутренних факторов (генотип, возраст и пол) и внешних индивидуальных факторов (образ жизни, использование гигиенических парфюмерно-косметических средств) человека [Fierer N, Lauber CL, Zhou N, et al. Forensic identification using skin bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:6477–6481]. Функцией резидентной микрофлоры является препятствие колонизации кожи другими, потенциально патогенными видами бактериями, например, *Staphylococcus aureus*, которые способствуют развитию воспалительных заболеваний кожи, развитию дерматологических заболеваний (атопический дерматит, экзема) и ухудшают качество жизни человека [Iwase T, Uehara Y, Shinji H, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465:346–349]. Другой важной функцией резидентных микроорганизмов является модуляция иммунной системы кожи, представленной макрофагами, Т-лимфоцитами и клетками Лангерганса [Lai Y, Di NA, Nakatsuji T, et al. Commensal bacteria regulate Toll-like receptor 3-dependent inflammation after skin injury. *Nat Med* 2009; 15:1377–1382; Wanke I, Steffen H, Christ C, et al. Skin commensals amplify the innate immune response to pathogens by activation of distinct signaling pathways. *J Invest Dermatol* 2011; 131:382–390]. Таким образом, поддержание нормальной микрофлоры является благотворным фактором для обеспечения здоровья кожи человека [Blaser M. Antibiotic overuse: stop the killing of beneficial bacteria. *Nature* 2011; 476:393–394.].

«Гипотеза гигиены», сформированная в 1989 году, постулирует, что избыточное использование агрессивных моющих средств и синтетических антисептических веществ в их составе способствует более быстрому распространению атопических заболеваний

кожи благодаря выраженному, не свойственному естественному изменению биоразнообразия микробиоты кожи [Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299:1259–1260]. На данный момент выявляется все больше случаев аллергических и хронических воспалительных заболеваний кожи вследствие выраженных изменений микробиоты кожи с преобладанием транзитной микрофлоры [Ehlers S, Kaufmann SH. Infection, inflammation, and chronic diseases: consequences of a modern lifestyle. *Trends Immunol* 2010; 31:184–190]. Нарушение взаимосвязей между резидентной и транзитной микрофлорой является одним из движущих факторов в развитии бактериальных воспалительных заболеваний кожи [Kuo IH, Yoshida T, De Benedetto A, Beck LA. The cutaneous innate immune response in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131:266–278]. Считается, что наличие золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus*, который обнаруживается у более чем 90% пациентов с атопическим дерматитом, способствует развитию патогенеза данного дерматологического заболевания кожи [Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol Rev* 2011; 242:233–246], а снижение колонизации *Staphylococcus aureus* и увеличение резидентных штаммов микрофлоры обеспечивает снижение тяжести атопического дерматита у пациентов [Huang JT, Abrams M, Tloutan B, et al. Treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis decreases disease severity. *Pediatrics* 2009;123: e808–e814]. В последнем исследовании было обнаружено, что резидентный микроорганизм – *Staphylococcus epidermidis* – селективно ограничивает избыточное размножение *Staphylococcus aureus* [Iwase T, Uehara Y, Shinji H, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465:346–349], а после уменьшения количества золотистого стафилококка повышается количество благотворных видов родов *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium spp.* и *Corynebacterium spp.* [Kong HH, Oh J, Deming C, et al. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res* 2012; 22:850–859]. Таким образом, устранение условно-патогенных микроорганизмов и безопасное влияние на резидентные микроорганизмы позволяет регулировать биоразнообразие микробиоты и поддерживать здоровье кожи человека.

Кожа рук является местом для обмена микроорганизмами окружающей среды и тела. На руках обитают патогенные штаммы бактерий, включающих метициллин-резистентные стафилококки *Staphylococcus aureus* или кишечную палочку *Escherichia coli* [Scott E., Bloomfield S. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J. Appl. Bacteriol.* 1990; 68: 271-278]. Регулярное использование

антисептических продуктов нарушает микробиоту кожи рук, с преобладанием патогенных микроорганизмов. Более частое мытье рук, чем это необходимо, не только удаляет патогенные микроорганизмы, но резидентную микрофлору. В одном из частных исследований было установлено, что патогенные микроорганизмы преобладают у людей, кто моет руки чаще 4х раз в день [Larson E. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches? Clin. Infect. Dis. 1999; 29: 1287-1294]. Установлено, что мытье рук с мылом, подаваемым из открытых дозаторов многократного использования, повышает уровень условно-патогенных микроорганизмов на руках детей в начальной школе [Zarka C., Campbell E., Maxwell S., Gerba C., Dolan M., Arbogast J., Macinga D. Bacterial hand contamination and transfer after use of contaminated bulk-soap-refillable dispensers. Appl. Environ. Microbiol. 2011; 77: 2898-2904]. Тем не менее, в клинических исследованиях отмечают положительное влияние мытья рук с мылом и/или использования спиртовых антисептиков на снижение количества патогенных бактерий [Fendler E., Ali Y., Hammond B. et al. The impact of alcohol hand sanitizer use on infection rates in an extended care facility. Am. J. Infect. Control. 2002; 30: 226-233; White C., Kolble R., Carlson R. et al. The effect of hand hygiene on illness rate among students in university residence halls. Am. J. Infect. Control. 2003; 31: 364-370].

Поскольку руки являются основным носителем микроорганизмов между окружающей средой и телом, динамика микробных сообществ и влияющих на них факторов имеет большое значение для обеспечения здоровья людей [Lax S., Smith P. Longitudinal analysis of microbial interactions between humans and the indoor environment. Sci. Mag. 2014; 345: 1048]. Руки редко рассматриваются на источник полезных микроорганизмов, обеспечивающих здоровую микрофлору, что подчеркивает важность рук как критического вектора в динамике микробиома.

Бактерии составляют более 90% микроорганизмов кожи рук, в то время как количество вирусов и грибов менее 5% [J. Oh, A. Byrd, D. Deming, S. Conlan, H. Kong, J. Segre, Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome, Nature 514 (2014) 59–64.]. В ходе 11 клинических исследований было установлено, что на коже рук обитает от 8 до 24 семейство бактерий, которые объединены в 4 крупные таксономические группы: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* (более 94%) и *Bacteroides* [N. Fierer, M. Hamady, C. Lauber, R. Knight, The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria, PNAS 105 (2008) 17994– 17999]. Наиболее распространенные микроорганизмы относятся к семействам *Staphylococcaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Streptococcaceae*. Представители рода *Corynebacteriaceae* (тип *Actinobacteria*), в частности

Corynebacterium xerosis и *Corynebacterium jeikeium*, являются безвредными резидентными микроорганизмами, частью нормальной микрофлоры кожи, предупреждающей скопление патогенных микроорганизмов, и составляют от 2,1 до 23,6% микрофлоры кожи рук. Другие резидентные микроорганизмы – *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus hominis* (тип *Firmicutes*) – препятствуют закреплению патогенных микроорганизмов и образуют защитные биопленки, в частности от *Staphylococcus aureus*, и составляют от 1,7 до 28,2% микрофлоры кожи рук. Также на коже в количестве от 3,1 до 47,8% всегда присутствуют резидентные бактерии *Propionibacterium spp.* (тип *Actinobacteria*), регулирующие pH кислотной мантии и выделяющие натуральные антимикробные вещества – бактериоцины и пропионовую кислоту. Стрептококки *Streptococcus spp.* представлены в количестве от 3,7 до 49%. Таким образом, наиболее распространенными видами нормальной микрофлоры человека являются грамположительные бактерии семейств *Staphylococcaceae*, *Corynebacteriaceae* и *Propionibacteriaceae*.

Патогенные и условно-патогенные виды представлены бактериями семейств *Bacteroidaceae* (1,6-5,3%), *Enterobacteriaceae* (от 1,2%), *Pseudomonadaceae* (1,1-3,8%), *Porphyromonadaceae* (1,1-2,0%), *Prevotellaceae* (1,0-5,6%), *Flavobacteriaceae* (1,0-10,8%), *Bacillaceae* (1,0-9,7%), *Veillonellaceae* (1,6-5,5%), *Nocardiaceae* (до 12,4%), *Rhodobacteriaceae* (до 21,0%) и *Brucellaceae* (до 4,0%), большинство из которых являются грамотрицательными микроорганизмами. Среди грибов наиболее распространены представители родов *Malassezia spp.* и *Aspergillus spp.* [K. Findley, J. Oh, J. Yang, S. Conlan, C. Deming, J. Meyer, D. Schoenfeld, E. Nomicos, M. Park, H. Kong, J. Segre, Human skin fungal diversity, Nature 498 (2013) 367– 370].

На данный момент представлено ограниченное количество исследований, в которых оценивали влияние гигиенических средств на микробиоту кожи рук, что обуславливает необходимость изучения данной тематики. В одном из исследований было установлено, что медицинские работники, регулярно использующих спиртовые средства гигиены и сообщающих о более чем 40 случаях мытья рук с антибактериальным мылом за смену, имели меньшее общее биоразнообразие в отличие от остальной части населения [Rosenthal M., Aiello A., Larson E., Chenoweth C., Foxman B. Healthcare workers' hand microbiome may mediate carriage of hospital pathogens. Pathogens. 2014; 3: 1-13]. Продолжительность времени, прошедшего с момента последнего мытья рук, повлияла на биоразнообразие микробиоты рук. Так, бактерии *Propionibacteria*, *Neisseriales* и *Pasteurellaceae*, были более обильными после мытья рук спустя >2 часов, а *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae* и *Lactobacillaceae* более обильными на недавно (<2

ч) вымытых руках [Fierer N., Hamady M., Lauber C., Knight R. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. PNAS. 2008; 105: 17994-17999]. Со временем, прошедшим с момента последнего мытья рук, наблюдались изменения биоразнообразия микробиоты кожи рук. Особенно стоит отметить, что применение пероральных антибиотиков оказало значительное влияние на микробиом рук, причем наибольший сдвиг наблюдался примерно во время использования [Flores G., Caporaso G., Henley J., Rideout J., Domogala D., Chase J., Leff J., Vázquez-Baeza Y, Gonzalez A., Knight R., Dunn R., Fierer N. Temporal variability is a personalized feature of the human microbiome. Genome Biol. 2014; 15: 531].

Значительные различия также основываются на образе жизни человека. Люди, проживающие в одном доме, имеют более сходный микробиом рук, чем люди, проживающие в разных домах; а пары и их маленькие дети имеют больше бактериальных таксонов, чем неродственные соседи по комнате [Lax S., Smith P. Longitudinal analysis of microbial interactions between humans and the indoor environment. Sci. Mag. 2014; 345: 1048]. Более того, владение домашним животным привело к значительному увеличению условно-патогенных микроорганизмов на коже, и микробиота рук человека стала похожа на лапы их собственного питомца, чем на лапы домашнего животного в другом домашнем хозяйстве. В целом владение домашними животными увеличивает общее разнообразие бактерий на руках [Song S., Lauber C., Costello E., Lozupone C., Humphrey G., Berg-Lyons D., Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. eLife. 2013; 2: e00458].

Взаимодействие с неодушевленными предметами является еще одним источником изменчивости микробиоты рук. Дом колонизируется микробиотой его обитателя, и для большинства образцов рук биоразнообразие микроорганизмов может быть сопоставлено с выключателями света в домах, что указывает на то, что руки являются ключевым вектором микробного загрязнения поверхностей внутри дома [Lax S., Smith P. Longitudinal analysis of microbial interactions between humans and the indoor environment. Sci. Mag. 2014; 345: 1048].

Для защиты от чрезмерного роста патогенных микроорганизмов и поддержания гомеостаза резидентной микрофлоры в коже необходимо использовать средства гигиены с антибактериальными веществами, которые не нарушают популяции свойственных человеку микроорганизмов. Но на данный момент существует проблема наличия *superbugs* — бактерий, устойчивых к большинству антибактериальных средств, используемых человечеством. Предпосылками антибиотикорезистентности послужило ежедневное и неконтролируемое использование синтетических и полусинтетических

антибактериальных веществ в составе жидких и твердых мыл, бытовой химии, продуктов по уходу за полостью рта. По мнению Агентства по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов FDA, использование триклозана, триклокарбана, хлороксиленола и бензалкония хлорида возможно после оценки безопасности и эффективности компонентов при долговременном применении [<https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/antibacterial-soap-you-can-skip-it-use-plain-soap-and-water>]. Эффективность данных компонентов может снижаться при длительном применении, поскольку к ним вырабатывается устойчивость у бактерий кожи рук, что напрямую влияет на безопасность средств с данными компонентами и в целом определяет необходимость их использования. Еще для 19 компонентов необходима дополнительная оценка безопасности при регулярном использовании в составе дезинфицирующих и косметических средств [<https://www.federalregister.gov/documents/2016/09/06/2016-21337/safety-and-effectiveness-of-consumer-antiseptics-topical-antimicrobial-drug-products-for>].

Важным параметром оценки антибактериального действия компонентов является способность предотвращать образование биопленок устойчивых бактерий совместно с резидентной микрофлорой. Микробиота является гармоничной системой, поэтому важно поддерживать баланс микроорганизмов как на коже, так и на поверхностях. В частности, золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* совместно с другими оппортунистическими микроорганизмами способен образовывать стабильные биопленки из экзополисахаридного матрикса и способствовать развитию дерматологических заболеваний, в частности атопического дерматита. Стоит отметить, что не все антисептические гели и антибактериальные мыла для рук показывают выраженный антибактериальный эффект из-за распространенности бактериальных биопленок на поверхности кожи рук. Даже продукты на основе этилового спирта, изопропилового спирта и триклокарбана показывают незначительный антибактериальный эффект в *in vitro* исследованиях по зоне задержки роста микроорганизмов [Khalid Ahmed, Hamza Ahmed, Fasih Ali Ahmed, Alisha Akbar Ali, Jehangir Akbar, Junaid Rana, Uroosa Tariq, Syed Hani Abidi. Analysis of anti-microbial and anti-biofilm activity of hand washes and sanitizers against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. J Pak Med Assoc. 2020 Jan;70(1):100-104. doi: 10.5455/JPMA.2776.]. Это связано с тем, что эталонные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* являются наиболее резистентными микроорганизмами благодаря генетическим перестройкам и образованию защитных биопленок как одного из факторов патогенности бактерий. Таким образом, существует необходимость в антибактериальном комплексе, который

мог бы разрушать биопленки патогенных микроорганизмов на коже и контаминированных поверхностях, глубоко проникать внутрь бактериальных колоний, уничтожать условно-патогенные микроорганизмы без развития резистентности у них, при этом изменяя биоразнообразие в сторону резидентных микроорганизмов.

Согласно заявлению главы Всемирной организации здравоохранения Маргарет Чан, мир находится на этапе пост-антибиотиковой эры [<https://biomolecula.ru/articles/evoliutsiia-naperegonki-ili-pochemu-antibiotiki-perestaiut-rabotat>]. Самым доступным способом остановить рост антибиотикорезистентности может стать применение эфирных масел и основных биологически активных компонентов из них. Научные исследования подтвердили, что многие виды эфирных масел и их основных компонентов обладают выраженной антимикробной активностью, а их комбинации обладают эффективностью в борьбе с патогенными микроорганизмами без угнетения популяций резидентных микроорганизмов.

Эфирное масло чайного дерева обладает известными антисептическими свойствами [Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(1):50-62]. По результатам научного обзора, данное эфирное масло не только снижает колонизацию метициллин-резистентного золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* на поверхностях, но и обладает противогрибковым [Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J Appl Microbiol.* 2003;95(4):853-900] и противовоспалительным эффектами [Brand C, Ferrante A, Prager RH, Riley TV, Carson CF, Finlay-Jones JJ, et al. The water soluble components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) suppress the production of superoxide by human monocytes, but not neutrophils, activated in vitro. *Inflamm Res.* 2001;50(4):213-9].

Механизм антибактериального действия данного эфирного масла обусловлен химическими компонентами терпеноидной структуры и высокой липофильностью компонентов. Компоненты эфирного масла способствуют увеличению проницаемости клеточных мембран бактерий благодаря образованию липосомальных структур [Cox, S. D., C. M. Mann, J. L. Markham, H. C. Bell, J. E. Gustafson, J. R. Warmington, and S. G. Wyllie. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88:170–175], что обуславливает увеличение проницаемости для ионов и вызывает лизис клеток. Дополнительно компоненты эфирного масла блокируют действие дыхательных ферментов, связывают ионы калия K^+ и повышают чувствительность бактерий к хлориду натрия и консервантам [C. F. Carson, K. A. Hammer, and T. V. Riley. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of

Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan. 2006, Vol. 19, No. 1, p. 50–62. doi:10.1128/CMR.19.1.50–62.2006].

Также эфирное масло чайного дерева благодаря высокому содержанию терпинен-4-ола (более 38%) борется с наиболее резистентными штаммами бактерий, в частности золотистым стафилококком *Staphylococcus aureus* [Loughlin, B.F. Gilmore, P.A. McCarron, M.M. Tunney. Comparison of the cidal activity of tea tree oil and terpinen-4-ol against clinical bacterial skin isolates and human fibroblast cells, *Lett. Appl. Microbiol.* 46 (2008) 428]. Есть данные, что эфирное масло чайного дерева предотвращает проникновение вирусов гриппа в клетки-хозяина ввиду нарушения целостности и блокировки ферментов оболочки, что помогает предотвратить репликацию вируса и развитие заболевания [Li X, Duan S, Chu C, Xu J et al (2013) *Melaleuca alternifolia* Concentrate Inhibits in Vitro Entry of Influenza Virus into Host Cells *Molecules*, 18: 9550-66]. В клиническом исследовании было показано, что жидкое мыло с 0,3% эфирного масла чайного дерева эффективнее 0,3% триклозана в отношении патогенных микроорганизмов кожи рук [Gnatta JR, Pinto FMG, Bruna CQM, Padoveze MC, Graziano KU, Silva MJPD. 2015. Comparison of hand hygiene antimicrobial efficacy: *Melaleuca alternifolia* essential oil versus triclosan versus chlorhexidine. *Antimicrob Resist Infect Control* 4: 1212–1219].

В in vitro исследованиях установлено, что эфирное масло чайного дерева обладает более выраженным действием в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, чем против резидентных представителей нормальной микробиоты. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) в отношении болезнетворных бактерий составляет 1,0% и менее, в то время как в отношении комменсальных бактерий родов *Staphylococcus spp.* и *Micrococcus spp.* составляет более 2% [C. F. Carson, K. A. Hammer, and T. V. Riley. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*, Jan. 2006, Vol. 19, No. 1, p. 50–62. doi:10.1128/CMR.19.1.50–62.2006]. Так, есть данные о минимальной концентрации эфирного масла чайного дерева для ингибирования роста следующих патогенных микроорганизмов, ассоциированных с заболеваниями кожи, желудочно-кишечного тракта и дыхательной системы: *Bacillus cereus* (0,3%), *Bacteroides spp.* (0,06-0,50%), *Enterococcus faecalis* (>0,5%), *Escherichia coli* (0,08-2,00%), *Klebsiella pneumoniae* (0,25-0,30%), *Pseudomonas aeruginosa* (1-8%), метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (0,04-0,35%), *Streptococcus pyogenes* (0,12-2,00%). Стоит отметить, что в отношении представителей нормальной резидентной микрофлоры данные значения выше: *Corynebacterium spp.* (>2%), *Micrococcus luteus* (0,25-6%), *Lactobacillus spp.* (1-2%), *Staphylococcus epidermidis* (>4%) и *Staphylococcus hominis* (4%). Таким образом,

эфирное масло чайное дерево обладает направленной антибактериальной активностью именно в отношении болезнетворных микроорганизмов, чем представителей нормальной микрофлоры кожи.

1,8-цинеол (прежнее название эвкалиптол) является основным компонентом эфирного масла эвкалипта шаровидного *Eucalyptus globulus*, известного своими антибактериальными и противовирусными свойствами [Dhakad, A. K., Pandey, V. V., Beg, S., Rawat, J. M., & Singh, A. (2017). Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 833–848. doi:10.1002/jsfa.8600]. По химической структуре 1,8-цинеол — это окись ментана, моноциклический терпен с кислородным фрагментом, благодаря которому приобрел способность проникать через гидрофобные мембраны различной природы. Липофильная природа монотерпена определяет то, что он преимущественно переносится из водной фазы в мембранные структуры, что приводит к повышению проницаемости мембраны, повышению её текучести, нарушению работы строенных в мембрану белков, а также изменению процессов переноса ионов и молекул (осмотического баланса) внутрь бактериальных клеток [Sikkema, J.; de Bont J.A.M.; Poolman, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 8022–8028; Sikkema, J.; de Bont J.A.M.; Poolman, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 1995, 59, 201–222.].

Обнаружено, что комбинация 1,8-цинеола и эфирного масла чайного дерева позволяет снизить концентрацию компонентов в 2 раза с сохранением высокой эффективности комбинации в защите от бактерий *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*. 2014 Nov 3;19(11):17773-98. doi: 10.3390/molecules191117773]. Установлено, что терпинен-4-ол, основной компонент эфирного масла чайного дерева (>40%), не вызывает выраженный аутолиз резистентных *Staphylococcus aureus*, а комбинирование с 1,8-цинеолом обеспечивает высокий антибактериальный эффект благодаря увеличению проницаемости бактериальных биопленок и мембран. Так, 1,8-цинеол действует как проводник, способствуя более глубокому проникновению компонентов внутрь бактерий.

Таким образом, данное вещество является энхансером проникновения, то есть усиливает проникновение антибактериальных веществ через биопленки, клеточную стенку и мембраны бактерий, а также препятствует образованию биопленок микроорганизмов при совместном применении. 1,8-цинеол в комбинации с

антибактериальными веществами (терпинен-4-ол, альфа-терпинеол, хлоргексидина биглюконат и др.) обладает эффективным антибактериальным эффектом [Williams AC, Edwards HGM, Lawson EE et al. Molecular interactions between the penetration enhancer 1,8-cineole and human skin. *J Raman Spectrosc* 2006; 37: 361–6.]. Поскольку клеточные стенки и мембраны грамположительных и грамотрицательных бактерий отличаются по химическому составу, использование 1,8-цинеола для повышения проницаемости антибактериальных компонентов является одним из способов целенаправленного воздействия для повышения проникновения и, как следствие, антибактериального эффекта.

Также альфа-бисаболол является сесквитерпеновым спиртом, основным компонентом эфирного масла кандеи *Vanillosmopsis erythrorappa*, ромашки *Chamomilla recutita* и лаванды *Lavandula angustifolia*. Вещество обладает выраженной противовоспалительной и антибактериальной активностью в отношении микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Shigella shiga*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus spp* [Kazemi M. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria chamomilla*. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, Vol (3) January 2014: 148-153]. Высокая антибактериальная активность обусловлена амфифильной природой компонента: наличием двойных связей, обеспечивающих проникновение через липидную мембрану, и спиртового гидроксила, который взаимодействует с водой и способствует образованию пор для проникновения веществ, а также ингибирует ферментные системы микроорганизмов. Альфа-бисаболол действует на несформировавшиеся биопленки бактерий, а при совместном применении с энхансерами проникновения обладает эффективным антибактериальным действием [Robyn L. van Zyl. Sammy T. Seatlholo and Sandy F. van Vuuren. The Biological Activities of 20 Nature Identical Essential Oil Constituents. *J. Essent. Oil Res.*, 18, 129-133].

Другим направлением в гигиене кожи является использование ионов металлов, к которым не развивается резистентность, а его антибактериальный эффект стабилен. Ионы серебра имеют многовековую историю, поскольку использовалось для лечения бактериальных инфекций, заживления ран в период военных действий. Оказалось, что к ионам серебра, в отличие от большинства лекарственных веществ, у бактерий практически не вырабатывается антибиотикорезистентность [Simon Silver. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 27, Issue 2-3, June 2003, Pages 341–353, [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00047-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00047-0)]. Механизмы, с помощью которых ионы серебра оказывают свое действие на бактерии и вирусы, долго оставались не ясными.

Однако учёные из Арканзасского университета изучили действие ионов серебра на все молекулярные мишени бактериальной клетки [<https://aem.asm.org/content/86/6/e02479-19/article-info>]. При добавлении к бактериям *Escherichia coli*, ионы серебра ослабили связи между белками и молекулами ДНК, что привело к нарушению роста бактерий и их последующей гибели. Также ионы серебра вызывают оксидативный стресс в клетках [Xiangwen Liao, Fang Yang, Hongyan Li, Pui-Kin So, Zhongping Yao, Wei Xia, Hongzhe Sun. Targeting the Thioredoxin Reductase-Thioredoxin System From *Staphylococcus Aureus* by Silver Ions. *Inorg Chem.* 2017 Dec 18;56(24):14823-14830. doi: 10.1021/acs.inorgchem.7b01904. Epub 2017 Nov 28], изменяют структуру белковых молекул и мембрану бактериальных клеток [Anna Kędziora, Mateusz Speruda, Eva Krzyżewska, Jacek Rybka, Anna Łukowiak, Gabriela Bugla-Płoskońska. Similarities and Differences Between Silver Ions and Silver in Nanofoms as Antibacterial Agents. *Int J Mol Sci.* 2018 Feb 2;19(2):444. doi: 10.3390/ijms19020444]. Установлено, что ионы серебра предотвращают избыточный рост бактерий и формирование опасных биопленок на поверхностях, в том числе устойчивыми к антибиотикам бактериям. В марте 2020 года Агентство федерального правительства США по охране окружающей среды и защиты здоровья человека (EPA) опубликовало список веществ, борющихся с коронавирусом SARS-CoV-2. В него кроме спиртов, четвертичных аммониевых соединений, пероксида водорода и гипохлорита натрия, включены ионы серебра [<https://www.epa.gov/pesticide-registration/list-n-disinfectants-use-against-sars-cov-2>]. Научные данные подтверждают, что частицы серебра обладают противовирусными свойствами в отношении ВИЧ-1 [<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2005/CC/b510984a#!divAbstract>], вируса гепатита В [Lei Lu, Raymond Wai-Yin Sun, Rong Chen, Chee-Kin Hui, Chi-Ming Ho, John M Luk, George K K Lau, Chi-Ming Che. Silver Nanoparticles Inhibit Hepatitis B Virus Replication. *Antivir Ther.* 2008;13(2):253-62], респираторно-синцитиального вируса [P L Taylor, O Omotoso, J B Wiskel, D Mitlin, R E Burrell. Impact of Heat on Nanocrystalline Silver Dressings. Part II: Physical Properties. *Biomaterials.* 2005 Dec;26(35):7230-40. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.05.041] и вируса простого герпеса 1 типа [<https://nanoscalereslett.springeropen.com/articles/10.1007/s11671-008-9128-2>].

Важным параметром оценки антибактериального действия компонентов является способность предотвращать образование биопленок устойчивых бактерий совместно с микрофлорой. Микробиота является гармоничной системой, поэтому важно поддерживать баланс микроорганизмов как на коже, так и на поверхностях. В частности, золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* совместно с другими оппортунистическими микроорганизмами способен образовывать стабильные

био пленки из экзополисахаридного матрикса и способствовать развитию дерматологических заболеваний, в частности атопического дерматита. Стоит отметить, что не все антисептические гели и антибактериальные мыла для рук показывают выраженный антибактериальный эффект из-за распространенности бактериальных биопленок на поверхности кожи рук. Даже продукты на основе этилового спирта, изопропилового спирта и триклокарбана показывают незначительный антибактериальный эффект в *in vitro* исследованиях по зоне задержки роста микроорганизмов. Это связано с тем, что эталонные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* являются наиболее резистентными микроорганизмами благодаря генетическим перестройкам и образованию защитных биопленок как одного из факторов патогенности бактерий. Таким образом, существует необходимость в комплексе компонентов, которые могли бы разрушать био пленки патогенных микроорганизмов на коже и контаминированных поверхностях, глубоко проникать внутрь бактериальных колоний, уничтожать условно-патогенные микроорганизмы без развития резистентности у них.

В патентной заявке US20110244030A1 [MEDICA AVENUE (USA)] опублик. 06.10.2011 раскрыта композиция для местного применения и метод применения. Композиция имеет в составе пенообразующий компонент и носитель, а также, как минимум, один активный компонент. Пенообразующий компонент может быть катионным, анионным, амфотерным или неионогенным ПАВ. Активный компонент может быть в том числе эфирным маслом эвкалипта, эвкалиптолом, экстрактом ромашки, эфирным маслом ромашки лекарственной, эфирным маслом чайного дерева или частицами серебра. Наблюдения авторов показывают, что композиции с таким составом обладают наибольшей биодоступностью. Воплощение может представлять собой лосьон, гель или другую жидкую форму, а также аэрозоль для местного применения с антибактериальным эффектом.

Описанные выше композиции из патентной заявки US20110244030A1 имеют ряд компонентов, нежелательные для частого использования в средствах, непосредственно контактирующих с кожей рук. Анионные и катионные поверхностно-активные вещества имеют достаточную эффективность, однако заряженные остатки молекул обуславливают агрессивное воздействие на кожу рук, в частности повышение чувствительности рук при минимальном контакте и полное уничтожение микрофлоры. Антибактериальные компоненты используются по отдельности, в связи с чем возрастает риск появления мультирезистентных микроорганизмов.

Известен гигиенический спрей для рук «75% Alcohol & Silver Hand Sanitizing Spray» (<UPL:<https://www.skinprobiotics.net/products/70-alcohol-silver-hand-cleansing-gel?variant=31481204441145>>), содержащий в своем составе следующие компоненты: 75% изопропиловый спирт (w/w), сок алоэ вера, глицерин растительного происхождения, пероксид водорода, эфирное масло чайного дерева, эфирное масло эвкалипта, лимонная кислота, 10+ ppm ионы серебра.

Описанная выше композиция основана на 75% изопропиловом спирте, являющимся антисептическим веществом быстрого действия, удаляющим всю микрофлору с поверхности кожи рук. Отсутствие благоприятной микрофлоры после использования спиртовых растворов способствует быстрой колонизации патогенными микроорганизмами. Эфирные масла чайного дерева и эвкалипта являются ароматическими композициями, поскольку основной антибактериальный эффект определяется изопропиловым спиртом. Активная концентрация ионов серебра Ag⁺ для стойкого антибактериального эффекта составляет 2000-2500 ppm, поэтому в данном случае компонент выполняет маркетинговую функцию.

Известен крем после бритья «Beard Club After Shave Cream» (<URL:<https://1only.by/ukhod-za-kozhej/15649-krem-posle-britya-beard-club>>), содержащий в своем составе следующие компоненты (указаны INCI-наименования): Aqua (Water), Dicaprylyl Ether, Polyquaternium-37, Eucalyptol, Eucalyptus Globulus Leaf Oil, Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Oil, Pinus Sylvestris Leaf Oil, Glycyrrhetic Acid, Lavandula Angustifolia (Lavender) Oil, Citrus Aurantium Bergamia (Bergamot) Leaf Oil, Citrus Medica Limonum (Lemon) Peel Oil, Bisabolol, Cupressus Sempervirens Oil, Myrtus Communis Oil, Isobornyl Acetate, Origanum Majorana Leaf Oil, Origanum Vulgare Oil, Melaleuca Alternifolia (Tea Tree) Leaf Oil, Potassium Azeloyl Diglycinate, Thymus Vulgaris Oil, Borneol, Pelargonium Graveolens Flower Oil, Citrus Aurantium Dulcis (Orange) Peel Oil, Guaiazulene, Citrus Nobilis (Mandarin Orange) Peel Oil, Citrus Grandis (Grapefruit) Peel Oil, Eugenia Caryophyllus Leaf Oil, Cymbopogon Martini Oil, Citrus Aurantium Amara (Bitter Orange) Peel Oil, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, PPG-26-Buteth-26, Salicylic Acid, Eugenol, Limonene, Linalyl Acetate, Linalool, Citral, Citronellol.

Описанная выше композиция имеет в составе эвкалиптол, бисаболол, эфирное масло чайного дерева и другие компоненты для противовоспалительного эффекта, поскольку бритье кожи сопровождается раздражениями и покраснениями. Дополнительный антибактериальный эффект опосредован комбинацией эфирных масел. Однако данная композиция не предназначена для гигиены кожи рук и поддержания баланса микрофлоры. Благодаря большому спектру эфирных масел, содержащих

косметические аллергены (эвгенол, лимонен, линалил ацетат, линалоол, цитраль и цитронеллол), и салициловой кислоте в составе, композиция может вызывать неприятные дерматологические ощущения и имеет риск вызвать аллергическую реакцию у людей с чувствительной кожей, что не обеспечивает дерматологический комфорт у потребителей.

Известно косметическое мыло «Intimate Soap Camomile, Calendula & Tea Tree» (<URL:<https://www.ecco-verde.com/essentiq-for-you-from-nature/intimate-soap-camomile-calendula-tea-tree>>), содержащее в своем составе следующие компоненты (указаны INCI-наименования): Aqua (Water), Lauryl Glucoside, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower Water, Cocamidopropyl Betaine, Coco Glucoside, Glycerol Oleate, Chamomille Recutita (Matricaria) Flower Extract, Calendula Officinalis (Calendula) Flower Extract, Salvia Officinalis Leaf Extract, Capryloyl/caproyl Methyl Glucamide, Lauroyl/myristoyl Methyl Glucamide, Sodium Cocoyl Hydrolyzed Amaranth Protein, Lactic Acid, Citric Acid, Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower Oil, Citrus Paradisi (Grapefruit) Peel Oil, Melaleuca Alternifolia Leaf Oil, Dehydroacetic Acid, Potassium Sorbate, Benzyl Alcohol, Linalool, Limonene, Geraniol, Citral, Citronellol.

Описанное выше косметическое средство предназначено для гигиены интимной области, а не кожи рук. Учитывая тот факт, что микрофлора слизистых оболочек интимных областей и кожи рук заметно отличается по качественному и количественному составу, композиция не может применяться для гигиены кожи рук в целях профилактики антибактериальных проявлений. Эфирное масло чайного дерева выполняет функцию отдушки в данном составе, поскольку основное действие оказывает молочная и лимонные кислоты как мягкие антибактериальные регуляторы микрофлоры интимной области.

Объединение компонентов в настоящем изобретении позволяет добиться синергетического действия и сохранить эффективность при более низком проценте ввода каждого компонента. Инновационный комплекс, включающий эфирное масло чайного дерева *Melaleuca alternifolia oil*, бисаболол, 1,8-цинеол и ионы серебра, направлен на защиту от условно-патогенных микроорганизмов на коже и поверхностях благодаря неожиданно выявленному эффективному проникновению вглубь биопленок, что приводит к гибели бактериальных клеток. Комплекс не вызывает развитие резистентности у бактерий, что позволяет его регулярно применять в составе косметических продуктов для повседневного применения, товаров бытовой химии, дезинфицирующих средств и т.п.

Предлагаемая инновационная композиция содержит синергетическую комбинацию активных ингредиентов, демонстрирующую неожиданное сверхсуммарное действие в отношении патогенных и/или условно-патогенных микроорганизмов, с уменьшением их биоразнообразия в целом при одновременном сохранении полезной микрофлоры, например, на коже. Без привязки к какой-либо теории, авторы изобретения полагают, что основной эффект заключается в ингибировании ферментных систем и изменении структуры белковых молекул, ослаблении связей между цепями ДНК и появлении оксидативного стресса с последующим нарушением роста бактерий и препятствованием формированию устойчивых биопленок на различных поверхностях. Происходит более глубокое проникновение антибактериальных агентов через биопленки и даже внутрь бактерий, наблюдается энхансерное действие, а также усиление антибактериальной активности компонентов, что позволяет применять их в пониженных концентрациях, в т.ч. для минимизации риска развития резистентности у бактерий. За счет повышения проницаемости мембраны бактериальной клетки, повышения её текучести, нарушения работы встроенных в мембрану белков, а также изменения процессов переноса ионов и молекул происходит осмотический стресс, что вызывает гибель бактериальных колоний и еще больше увеличивает проникновение антибактериальных агентов. Может иметь место образование липосомальных структур, дополнительно нарушающих целостность мембраны бактериальной клетки и территориально разграничивающих бактериальные элементы, в том числе молекулы чувства кворума (QS molecules). В результате применения композиция по изобретению способствует образованию защитной пленки на поверхности, такой как, напр., поверхность кожи, для длительной защиты и поддержания гигиены. Таким образом, совместное применение компонентов композиции по изобретению приводит к мощному усилению антибактериального действия за счет подавления всех основных молекулярных мишеней и в последствии жизнедеятельности бактерий, а также позволяет обеспечить гомеостаз микробиоты, напр., кожи рук. Отличительной особенностью является и то, что компоненты в заявляемых концентрациях действуют только в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, что позволяет стимулировать рост резидентной микрофлоры для естественной защиты. Также отсутствует необходимость введения в состав комплекса агрессивных синтетических антибактериальных веществ, таких как триклозан, триклокарбан, бензалкония хлорид, цетилпиридиния хлорид и этиловый спирт.

Достижение заявленных технических результатов подробно проиллюстрировано в экспериментальной части настоящего документа. Такие достигаемые технические

результаты будут с легкостью понятны специалистам в данной области на основе представленных данных исследований. Кроме того, отдельно отмечается возможность применения квадрокомплекса по изобретению для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, поддержание устойчивого состояния резидентной микрофлоры, выраженное антибактериальное воздействие на транзиторную микрофлору, разрушение биопленок условно-патогенных микроорганизмов. Эти и другие достигаемые результаты находятся в рамках заявленного изобретения.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В первом аспекте изобретение относится к биологически активному комплексу, предназначенному для использования в парфюмерно-косметическом средстве и/или средстве бытовой химии, состоит из:

- а) эфирного масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*),
- б) альфа-бисаболола,
- в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus* spp.,
- г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра,

где указанный водный раствор содержит 19-23%масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра и где массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,1-0,5):(0,05-0,3):(0,05-0,35):(0,01-0,2) соответственно.

Во втором аспекте изобретение относится к жидкому мылу, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В третьем аспекте изобретение относится к гелю для душа, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В четвертом аспекте изобретение относится к косметическому средству для ухода за кожей головы, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В пятом аспекте изобретение относится к косметическому средству для ухода за кожей тела, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В шестом аспекте изобретение относится к косметическому гигиеническому средству, не содержащему этилового спирта, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В седьмом аспекте изобретение относится к средству для мытья поверхности, контактирующего с кожей рук, содержащему 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению.

В восьмом аспекте изобретение относится к применению биологически активного комплекса по изобретению для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, поддержание устойчивого состояния резидентной микрофлоры, выраженное антибактериальное воздействие на транзиторную микрофлору, разрушение биопленок условно-патогенных микроорганизмов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение может быть использовано при изготовлении парфюмерно-косметических средств для ухода за кожей рук и/или тела, а также средств бытовой химии.

В рамках изобретения находится биологически активный комплекс, предназначенный для использования (биологически активный комплекс для применения) в парфюмерно-косметических средствах и/или бытовой химии. Биологически активный комплекс может применяться в парфюмерных и/или косметических средствах, агентах, композициях, продуктах (парфюмерно-косметических средствах). Биологически активный комплекс может применяться в средствах, агентах, композициях, продуктах бытовой химии.

Биологически активный комплекс по изобретению содержит или состоит из:

- а) эфирного масла чайного дерева, такого как *Melaleuca alternifolia*,
- б) альфа-бисаболола,
- в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus spp.*,
- г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра.

В комплексе по изобретению указанный водный раствор содержит 19-23%масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра.

Указанный водный раствор может содержать около 19, 19,5, 20, 20,5, 21, 21,5, 22, 22,5 или 23%масс. лимонной кислоты либо 19, 19,5, 20, 20,5, 21, 21,5, 22, 22,5 или 23%масс. лимонной кислоты от массы комплекса по изобретению.

Указанный водный раствор может содержать около 2280, 2300, 2350, 2400, 2450, 2500, 2550, 2600 или 2640 частей на миллион цитрата серебра либо 2280, 2300, 2350, 2400, 2450, 2500, 2550, 2600 или 2640 частей на миллион цитрата серебра.

В комплексе по изобретению массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,1-0,5):(0,05-0,3):(0,05-0,35):(0,01-0,2) соответственно.

В указанном массовом соотношении эфирное масло чайного дерева может составлять около 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 либо 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5. Эфирное масло чайного дерева может составлять, %масс: около 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 либо, %масс: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 от массы комплекса по изобретению.

В указанном массовом соотношении альфа-бисаболол может составлять около 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 или 0,3 либо 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 или 0,3. Альфа-бисаболол может составлять, %масс: около 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 или 0,3 либо, %масс: 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 или 0,3 от массы комплекса по изобретению.

В указанном массовом соотношении 1,8-цинеол может составлять около 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3 или 0,35 либо 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3 или 0,35. 1,8-Цинеол может составлять, %масс: около 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3 или 0,35 либо, %масс: 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3 или 0,35 от массы комплекса по изобретению.

В указанном массовом соотношении водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра может составлять около 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09 или 0,1 либо 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,15 или 0,2. Водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра может составлять, %масс: около 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,15 или 0,2, либо, %масс: 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,15 или 0,2 от массы комплекса по изобретению.

Специалисту в данной области техники понятно, что технический результат достигается не только при точном значении количественного параметра, но и близи него в пределах ошибки измерения такого параметра, связанной с различными факторами. В связи с этим в рамках данного изобретения при указании «около» с каким-либо значением параметра подразумевается, что такая ошибка измерения или ошибка толкования учтена с определенной точностью, составляющей $\pm 10\%$ указанного значения количественного параметра. Иными словами, если использован термин «около 5», то он должен быть истолкован как ясный и однозначно понимаемый специалистом как на основании уровня техники, так и в рамках данного изобретения, относящийся к определенной численной характеристике, и охватывающий величины, находящиеся в интервале значений « $5 \pm 10\%$ », т.е. речь идет об интервале «от 4,5 до 5,5», включая граничные значения. Подобное толкование является традиционным в области патентного права, известным среднему специалисту в области техники, к которой относится изобретение, ясным и однозначным.

Предлагаемые к использованию виды эвкалипта включают *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. loxophleba*, *E. lecoxylon*, *E. smithii*, *E. maideni*, *E. bicostata*, *E. cineria* и другие допускающие содержание 1,8-цинеола не менее чем 70% (об./об.).

Биологически активный комплекс предпочтительно не содержит иных активных и/или вспомогательных веществ, таких как косметические активные агенты и/или косметически приемлемые вспомогательные вещества, но может и содержать их. Такие вещества могут представлять или представляют собой традиционно используемые в данной области агенты, хорошо знакомые специалистам. Добавление указанных агентов в состав комплекса по изобретению не отменяет достижение заявленных технических результатов, но может их улучшать.

В рамках изобретения находится такие парфюмерно-косметические продукты, как жидкое мыло, гель для душа, средство для ухода за кожей головы, напр., шампунь, кондиционер для волос и т.п., средство для ухода за кожей тела, напр., мыло жидкое или твердое, гель для тела (гель для душа), средства для интимной гигиены и т.п., косметическое гигиеническое средство, не содержащее спирта (этилового, изопропилового и т.п.), такое как любое косметическое гигиеническое средство, не содержащее спирта. Такой продукт может содержать около 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению, напр., около 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7%масс., либо 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7%масс. от массы продукта. Если это требуется согласно разрабатываемой рецептуре для конкретного парфюмерно-косметического продукта, такого как, напр., но без ограничения, средства для ухода за кожей головы, такой продукт может содержать повышенное количество комплекса по изобретению, напр.. вплоть до 2%масс. от массы продукта, что может быть определено квалифицированным специалистом. В этом случае продукт может содержать около 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5 или 2%масс., либо 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5 или 2%масс. от массы продукта.

В рамках изобретения находятся также средства бытовой химии, напр., но без ограничения, средства для мытья поверхности, контактирующей с кожей рук, такие как моющие средства, мыло жидкое или твердое, порошок и т.п. Такой продукт может содержать около 0,3-0,7%масс. биологически активного комплекса по изобретению, напр., около 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7%масс., либо 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7%масс. от массы продукта. Если это требуется согласно разрабатываемой рецептуре для конкретного средства бытовой химии, такого как, напр., но без ограничения, средства для мытья поверхности, контактирующей с кожей рук, такой продукт может содержать повышенное количество комплекса по изобретению, напр.. вплоть до 2%масс. от массы

продукта, что может быть определено квалифицированным специалистом. В этом случае продукт может содержать около 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5 или 2%масс., либо 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5 или 2%масс. от массы продукта.

Наиболее предпочтительным, но неограничивающим, воплощением биологически активного комплекса, является комплекс, состоящий из:

- а) эфирного масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*),
- б) альфа-бисаболола,
- в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus* spp.,
- г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра,

где указанный водный раствор содержит 19-23% масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра и где массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,09-0,11):(0,09-0,11):(0,019-0,021):(0,019-0,021) соответственно.

В рамках изобретения находится также применение биологически активного комплекса по изобретению для регуляции альфа и бета биоразнообразия микрофлоры и/или микробиоты кожи рук, для ингибирования роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибов, для поддержания устойчивого состояния резидентной микрофлоры кожи рук. Указанное действие всецело раскрыто материалами настоящей заявки.

Все массовые доли, массовые части, массовые проценты, равно как и объемные доли, объемные части, объемные проценты в настоящем раскрытии приведены по отношению к тому средству, агенту, композиции или продукту, к которым они относятся в указываемом контексте.

Биологически активный комплекс отличается тем, что эфирное масло чайного дерева является коммерчески доступным продуктом либо синтезированным (выделенным) на заказ продуктом и представляет собой субстанцию с регистрационным номером CAS 68647-73-4.

Биологически активный комплекс отличается тем, что альфа-бисаболол коммерчески доступным продуктом либо синтезированным (выделенным) на заказ продуктом и представляет собой субстанцию с регистрационным номером CAS 515-69-5/23089-26-1.

Биологически активный комплекс отличается тем, что 1,8-цинеол коммерчески доступным продуктом либо синтезированным (выделенным) на заказ продуктом и представляет собой субстанцию с регистрационным номером CAS 470-82-6.

Биологически активный комплекс отличается тем, что водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра коммерчески доступным продуктом либо синтезированным

(выделенным) на заказ продуктом и представляет собой субстанцию с регистрационным номером CAS 126-45-4.

В продуктах по изобретению вспомогательные косметически приемлемые вещества могут быть выбраны из (INCI), но без ограничения: Aqua, Sodium Coco-Sulfate, Sunfloweroyl Methylglucamide, Coco-Glucoside, Glycerin, D-panthenol, Cocamidopropyl Betaine, Lactic Acid, Citric acid, Benzyl Alcohol, Phenoxyethanol, Glyceryl Oleate, Parfum, Sodium Chloride, Tetrasodium Glutamate Diacetate, Benzoic Acid и/или Dehydroacetic Acid, каждый из которых является коммерчески доступным продуктом.

Композиция по изобретению может содержать, %масс.:

эфирное масло чайного дерева <i>Melaleuca alternifolia leaf oil</i>	0,10-0,50,
альфа-бисаболол <i>Bisabolol rac.</i>	0,05-0,30,
1,8-цинеол <i>Eucalyptol</i>	0,05-0,35,
водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра (<i>Aqua, Citric acid and Silver citrate</i>)	0,01-0,20.

Настоящее изобретение может быть использовано при изготовлении парфюмерно-косметических средств для ухода за кожей и относится к биологически активному комплексу, содержащему высокоэффективные компоненты: а) эфирное масло чайного дерева *Melaleuca alternifolia (Tea tree) oil*, б) альфа-бисаболол, полученный из эфирных масел или синтетическим путем, в) 1,8-цинеол, полученный из листьев эвкалипта *Eucalyptus spp.*, г) водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра, для поддержания гигиены кожи.

Эфирное масло чайного дерева *Melaleuca alternifolia (tea tree) oil* (INCI: *Melaleuca alternifolia leaf oil*) является хорошо известным специалистам в данной области коммерчески доступным ингредиентом косметических средств.

Альфа-бисаболол (INCI: *Bisabolol rac.*) является хорошо известным специалистам в данной области коммерчески доступным ингредиентом косметических средств.

1,8-цинеол (INCI: *Eucalyptol*) является хорошо известным специалистам в данной области коммерчески доступным ингредиентом косметических средств.

Водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра (INCI: *Aqua (and) Citric acid (and) Silver citrate*) является хорошо известным специалистам в данной области коммерчески доступным ингредиентом косметических средств.

В средстве по изобретению вспомогательные приемлемые вещества могут быть выбраны из списка, но без ограничения: Aqua, Sodium Coco-Sulfate, Sodium Laureth Sulphate, Decyl glucoside, Sunfloweroyl Methylglucamide, Coco-Glucoside, Cocamidopropyl Betaine, Alkylpolyglycoside C10-16, Alkyl polyglycoside C8-10, Caprylyl & Decyl Glucoside,

D-Glucopyranose, oligomeric, C10-16-alkyl glycosides, D-Glucopyranose, oligomers, decyl octyl glycosides, Polyalkylglycoside C8-16, Glyceryl Oleate, Glyceryl Stearate, Sodium Cocoamphoacetate, Sodium Myristoyl Sarcosinate, Sodium Lauryl Sarcosinate, Sodium C12-C18 alkyl sulfate, Potassium cocoate, Glycereth-6 Cocoate, Sodium Cocoyl Glutamate, Sodium 2-Ethylhexyl Iminodipropionate, Laureth-9 & Laureth-3, Polyethylene Glycol (7) Lauryl Ether, Lauryl glucoside, Polyglyceryl-6 Caprylate (and) Polyglyceryl-3 Cocoate (and) Polyglyceryl-4 Caprate (and) Polyglyceryl-6 Ricinoleate, Polyglyceryl-4 Laurate/Sebacate (and) Polyglyceryl-6 Caprylate/Caprate, Sodium Carboxymethyl Carbohydrate, Glycerin, D-panthenol, Xanthan gum, Gossypium herbaceum seed extract, Lactic Acid, Citric Acid, Glycolic Acid, Sodium hydroxide, Trisodium citrate dehydrate, Sodium sulphate, Sodium carbonate, Sodium bicarbonate, Benzyl Alcohol, Phenoxyethanol, Benzoic Acid, Dehydroacetic Acid, Potassium sorbate, Sodium benzoate, Methylisothiazolinone, Benzoisothiazolinone, Sodium Chloride, Tetrasodium Glutamate Diacetate, Trisodium salt of Methylglycinediacetic acid, Parfum, Eucalyptus essential oil, Citrus paradisi (Grapefruit) essential oil, Melissa officinalis (Melissa) oil, Mentha piperita (Peppermint) essential oil, Lavandula angustifolia (Lavender) essential oil, Citrus Nobilis (Tangerine) essential oil или Propionic Acid Bacteria Lysate, каждый из которых является коммерчески доступным продуктом.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Включенные в настоящее описание примеры не являются ограничивающими заявленное изобретение и приведены лишь с целью иллюстрации и подтверждения достижения ожидаемых технических результатов. Эти примеры являются одними из многих экспериментальных данных, полученных авторами изобретения, которые подтверждают эффективность средств, находящихся в пределах объема изобретения.

Были проведены исследования по оценке эффективности композиции по изобретению.

Пример 1.

Проводилось исследование антибактериальной активности жидкого мыла для рук с компонентами антибактериального биологически активного квадрокомплекса, а именно эфирным маслом чайного дерева *Melaleuca alternifolia (Tea tree) leaf oil*, альфа-бисабололом, 1,8-цинеолом и водным раствором лимонной кислоты и цитрата серебра.

В качестве базы для включения компонентов комплекса применялась смесь, состоящая из Aqua, Sodium Coco-Sulfate, Coco-Glucoside, Glycerin, Cocamidopropyl

Betaine, Lactic Acid, Benzyl Alcohol, Tetrasodium Glutamate Diacetate, Benzoic Acid, приведенная в Таблице №1.

Базу жидкого мыла для ухода за кожей рук изготавливали следующим образом: солюбилизатор глицерин и хелатирующий агент глутамат диацетат тетранатриевую соль смешивали с водой очищенной при перемешивании в обыкновенном смесителе до однородности смеси. Далее добавили поверхностно-активные вещества коко-сульфат натрия, коко-глюкозид, кокамидопропилбетаин. В самом конце добавили органическую кислоту для регулирования pH, консерванты бензиловый спирт и бензойную кислоту для сохранения микробиологической стабильности в течение срока годности. Ингредиенты смешивали до получения гомогенного прозрачного раствора.

Таблица № 1. Состав базы жидкого мыла

№ п/п	Компонент
1	Вода очищенная
2	Глицерин 99,5%
3	Коко-сульфат натрия
4	Коко-глюкозид
5	Кокамидопропилбетаин
6	Глутамат диацетат тетранатриевая соль
7	Бензиловый спирт и бензойная кислота

Методика анализа основана на методе серийных разведений и заключается в том, что готовят суспензию бактериальных клеток *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* по отдельности в концентрации 1×10^9 клеток/мл. Далее 0,2 мл взвеси бактериальных клеток *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus* вносят в 1,8 мл 5% раствора жидкого мыла, содержащего компоненты биологически активного квадрокомплекса. Через 30 минут по 1 мл полученной смеси вносят в пробирку с 9 мл стерильного физиологического раствора 0,9%. Еще через 15 минут готовят серию разведений на стерильном физиологическом растворе до концентрации 10^3 клеток/мл. По 0,1 мл раствора исходной концентрации и последовательных разведений вносят на поверхность чашек со специальной питательной средой для роста *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* по отдельности. Посевы инкубируют в течение 48 часов при температуре 37 градусов Цельсия и подсчитывают колонии стандартным методом.

Параметром для общей оценки антибактериальной активности биологически активного квадрокомплекса в составе жидкого мыла выступал подсчет количества выросших колоний (КОЕ/мл), определяемый микробиологом по результатам исследования. Показатель количества колониеобразующих единиц бактерий КОЕ/мл позволяет оценить выраженность антибактериальной активности в отношении выбранного штамма бактерий *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus* при ежедневном использовании биологически активного квадрокомплекса в составе жидкого мыла. Общая положительная тенденция применения жидкого мыла с заявляемым комплексом – уменьшение биоразнообразия патогенных штаммов *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* на поверхности кожи рук, что будет стимулировать рост полезной микрофлоры для поддержания гигиены и дерматологического комфорта.

По результатам оценки антибактериальной активности установлено, что исследуемый биологически активный квадрокомплекс в составе жидкого мыла обладает выраженным антибактериальным эффектом в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* по сравнению с контролем. Контрольная версия представляет собой взвесь бактериальных клеток *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus* в 1,8 мл 5% раствора жидкого мыла, не содержащего компоненты биологически активного квадрокомплекса.

По окончании исследования наблюдались выраженные изменения оцениваемого показателя антибактериальной активности в отношении кишечной палочки. Согласно динамике показателя, относительно исходной концентрации *E. coli*, концентрация бактерий снизилась на 99,97% в среднем при изучении различных разведений, что составляет коэффициент снижения обсемененности $4\log_{10}$. Контрольная версия также показала снижение количества патогенных бактерий *E. coli*, однако на меньшее значение.

Для сравнения результатов контрольной и экспериментальной групп была проведена статистическая обработка результатов. Для сравнения двух выборок с известным законом распределения применяют параметрический критерий t-Стьюдента для двух независимых выборок. Данный метод позволяет проверить гипотезу о том, что средние значения двух генеральных совокупностей, из которых извлечены две сравниваемые независимые выборки, отличаются друг от друга.

Значения t-критерий (практический) и t-критерий (0,95,f) составляют 8,04 и 4,31 соответственно. Таким образом, между выборкой 1 (контрольная версия) и выборкой 2 (экспериментальная версия) существуют статистически значимые различия в концентрации *E. coli* с вероятностью ошибки менее 5%. По результатам статистической

обработки данных, биологически активный квадрокомплекс в составе жидкого мыла обладает значительной антибактериальной активностью по сравнению с контрольным образцом в отношении кишечной палочки *Escherichia coli* как представителя патогенной грамотрицательной микрофлоры кожи рук (Таблица № 2).

Таблица № 2. Оценка антибактериальной активности в отношении *E. coli*

Концентрация <i>E.coli</i> , кл/мл	Тестируемые образцы		Динамика показателя, в %
	Контрольная версия	Экспериментальная версия	
10^7	Сплошной рост	1000 КОЕ	99,99%
10^6	Сплошной рост	439 КОЕ	99,96%
10^5	1330 КОЕ	83 КОЕ	99,92%
10^4	329 КОЕ	Нет роста	100%
10^3	31 КОЕ	Нет роста	100%
Среднее значение:			99,97%

Также по окончании исследования наблюдались выраженные изменения оцениваемого показателя антибактериальной активности в отношении золотистого стафилококка. Согласно динамике показателя, относительно исходной концентрации *S. aureus*, концентрация бактерий снизилась на 99,25% в среднем при изучении различных разведений, что составляет коэффициент снижения обсемененности $3 \log_{10}$. Контрольная версия также показала снижение количества патогенных бактерий *S. aureus*, однако на меньшее значение.

Для сравнения результатов контрольной и экспериментальной групп была проведена статистическая обработка результатов. Для сравнения двух выборок с известным законом распределения применяют параметрический критерий t-Стьюдента для двух независимых выборок. Данный метод позволяет проверить гипотезу о том, что средние значения двух генеральных совокупностей, из которых извлечены две сравниваемые независимые выборки, отличаются друг от друга.

Значения t-критерий (практический) и t-критерий (0,95,f) составляют 14,09 и 4,31 соответственно. Поскольку t-критерий (практический) > t-критерий (0,95,f). Таким образом, между выборкой 1 (контрольная версия) и выборкой 2 (экспериментальная версия) существуют статистически значимые различия в концентрации *S. aureus* с вероятностью ошибки менее 5%. По результатам статистической обработки данных, биологически активный квадрокомплекс в составе жидкого мыла обладает значительной

антибактериальной активностью по сравнению с контрольным образцом в отношении золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* как представителя резистентной патогенной грамположительной микрофлоры кожи рук, способной образовывать устойчивые биопленки на различных поверхностях (Таблица № 3).

Таблица № 3. Оценка антибактериальной активности в отношении *S. aureus*

Концентрация <i>S. aureus</i> , кл/мл	Тестируемые образцы		Динамика показателя, в %
	Контрольная версия	Экспериментальная версия	
10 ⁶	Сплошной рост	1010 КОЕ	99,90%
10 ⁵	2155 КОЕ	523 КОЕ	99,48%
10 ⁴	201 КОЕ	108 КОЕ	98,92%
10 ³	16 КОЕ	13 КОЕ	98,70%
Среднее значение:			99,25%

Микробиота является гармоничной системой, поэтому важно поддерживать баланс микроорганизмов как на коже, так и на поверхностях. В частности, кишечная палочка и золотистый стафилококк совместно с другими оппортунистическими микроорганизмами способна образовывать стабильные биопленки из экзополисахаридного матрикса и способствовать развитию различных заболеваний благодаря высвобождению токсинов [E. Scott, S. Bloomfield. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. J. Appl. Bacteriol. 68 (1990) 271-278].

База композиции жидкого мыла будет мягко очищать загрязнения кожи рук и увеличивать доступ биологически активных веществ (БАВ) квадрокомплекса в труднодоступные участки кожи, тем самым увеличивая эффективность БАВ против условно-патогенной микрофлоры. Исследование жидкого мыла с заявленным биологически активный квадрокомплексом привело к высокому антибактериальному эффекту в отношении условно-патогенных *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, являющихся причинным фактором развития дерматологических и желудочно-кишечных заболеваний и представителем транзитной микрофлоры кожи рук. Уменьшение альфа- и бета-биоразнообразия условно-патогенных штаммов, в частности *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, будет способствовать смещению альфа-биоразнообразия в сторону благотворной резидентной микрофлоры кожи рук и улучшению дерматологического состояния кожи в целом.

Поскольку композиция имеет в составе водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра, содержащий активные ионы серебра Ag^+ , и сесквитерпеновый спирт альфа-бисаболол с синергетическим антибактериальным действием за счет подавления несформировавшихся биопленок транзиторных патогенных бактерий кожи, то при длительном применении будет снижаться количество условно-патогенных микроорганизмов в верхних слоях кожи. Совместно водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра как носитель ионов серебра Ag^+ и альфа-бисаболол ингибируют ферментные системы микроорганизмов, обеспечивающих метаболизм и деление клеток. При совместном применении с энхансерами проникновения, как 1,8-цинеол, компоненты обладают синергетическим антибактериальным действием за счет улучшения проницаемости компонентов через липофильные мембраны бактерий и образованию липосомальных структур совместно с эфирным маслом чайного дерева. Компоненты эфирного масла чайного дерева блокируют действие дыхательных ферментов и связывают ионы калия K^+ , что вызывает осмотический шок и лизис бактериальных клеток.

Таким образом, объединение компонентов позволяет добиться синергетического действия в отношении условно-патогенных микроорганизмов за счет разрушения биопленок патогенных микроорганизмов и минимального риска развития резистентности у бактерий, что позволяет его регулярно применять в составе парфюмерно-косметических продуктов различной направленности, а также товаров бытовой химии.

Пример 2.

Проводилось исследование антибактериальной активности жидкого мыла для рук с компонентами антибактериального биологически активного квадрокомплекса, а именно эфирным маслом чайного дерева *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) leaf oil, альфа-бисабололом, 1,8-цинеолом и водным раствором лимонной кислоты и цитрата серебра.

В качестве базы для включения компонентов комплекса применялась смесь, приведенная в Таблице №1. Базу жидкого мыла для ухода за кожей рук изготавливали способом, описанным в Примере 1.

Методика анализа основана на МУК 4.2.801-99 «Методы микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции», метод серийных разведений. Были выбраны 5 патогенных тестовых микроорганизмов, широко представленных на коже рук и ответственных за различные бактериальные заболевания: золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, кишечная палочка *Escherichia coli* ATCC 25922,

бациллы *Bacillus cereus* ATCC 10702, синегнойная палочка *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, грибы кандиды *Candida albicans* ATCC 10231. Для оценки роста использовались следующие диагностические среды: буферный раствор для *Bacillus cereus* и *Candida albicans*, бульон Мак-Конки для *Escherichia coli*, солевой бульон для *Staphylococcus aureus*, мясопептонный бульон с глюкозой для *Pseudomonas aeruginosa*.

Метод разведений и заключается в том, что берут суспензию бактериальных клеток тестовых штаммов в определенной концентрации в качестве контроля. Параллельно делают разведение образца жидкого мыла 1:1000 с добавлением суспензии тест-микроорганизмов. Далее раствор исходной концентрации и раствор разведения вносят на поверхность чашек со специальной питательной средой для роста микроорганизмов. Посевы инкубируют в течение 48 часов при температуре 37 градусов Цельсия и определяют рост визуальным методом.

Параметром для общей оценки антибактериальной активности биологически активного квадрокомплекса в составе жидкого мыла выступало наличие или отсутствие роста тест-микроорганизмов, определяемый микробиологом по результатам исследования. Показатель роста бактерий позволяет оценить мгновенный антибактериальный эффект в отношении выбранного тестового штамма микроорганизмов при ежедневном использовании биологически активного квадрокомплекса в составе жидкого мыла. Общая положительная тенденция применения жидкого мыла с заявляемым комплексом – отсутствие роста условно-патогенных микроорганизмов на поверхности кожи, что будет стимулировать рост полезной микрофлоры для поддержания гигиены и дерматологического комфорта.

По результатам оценки антибактериальной активности установлено, что исследуемый биологически активный квадрокомплекс в составе жидкого мыла обладает выраженным антибактериальным эффектом в отношении 5 тест-микроорганизмов по сравнению с контролем. Контрольная версия представляет собой взвесь бактериальных клеток тест-микроорганизмов в растворе жидкого мыла, не содержащего компоненты биологически активного квадрокомплекса.

По окончании исследования наблюдались выраженные изменения оцениваемого показателя, а именно антибактериальной активности. Согласно динамике показателя, относительно исходной концентрации тестовых штаммов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*), концентрация всех тест-микроорганизмов снизилась на 99,90% в среднем при изучении различных разведений, что составляет коэффициент снижения обсемененности $3 \log_{10}$.

Контрольная версия показа рост тестовых микроорганизмов, т.е. отсутствие антибактериальной активности (Таблица № 4).

Таблица № 4. Оценка антибактериальной активности в отношении 5 тест-штаммов

Тест-микроорганизм	Тестируемые образцы	
	Контрольная версия (контроль культуры)	Экспериментальная версия (1:1000)
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702	+	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25992	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	+	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	+	-
Обозначения: «+» - сплошной рост-тест микроорганизмов как в контроле; «+» - замедленный или угнетенный рост; «-» - отсутствие роста.		

Микробиота является гармоничной системой, поэтому важно поддерживать баланс микроорганизмов как на коже, так и на поверхностях. В частности, условно-патогенные резистентные золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus*, кишечная палочка *Escherichia coli* и синегнойная палочка *Pseudomonas aeruginosa* совместно с другими оппортунистическими микроорганизмами, как *Candida albicans* и *Bacillus cereus*, способен образовывать стабильные биопленки из экзополисахаридного матрикса и способствовать развитию различных дерматологических и системных заболеваний. Особенность данных микроорганизмов в том, что они часто являются мультирезистентными, т.к. выработали лекарственную устойчивость ко многим антибактериальным веществам, что осложняет их ингибирование роста и гибель в современной эпидемиологической обстановке.

База композиции жидкого мыла будет мягко очищать загрязнения кожи рук и увеличивать доступ биологически активных веществ (БАВ) квадрокомплекса в труднодоступные участки кожи, тем самым увеличивая эффективность БАВ против условно-патогенной микрофлоры. Исследование жидкого мыла с заявленным биологически активный квадрокомплексом привело к высокому антибактериальному эффекту в отношении условно-патогенных штаммов, являющихся причинным фактором развития дерматологических и системных заболеваний и представителями транзитной

микрофлоры кожи рук. Уменьшение биоразнообразия условно-патогенных штаммов, в частности образующих стабильные биопленки, будет способствовать смещению альфа- и бета-биоразнообразия в сторону благотворной резидентной микрофлоры кожи и улучшению дерматологического состояния кожи в целом.

Поскольку композиция имеет в составе водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра, содержащий активные ионы серебра Ag^+ , и сесквитерпеновый спирт альфа-бисаболол с синергетическим антибактериальным действием за счет подавления несформировавшихся биопленок транзиторных патогенных бактерий кожи, то при длительном применении будет снижаться количество патогенных микроорганизмов в верхних слоях кожи. Совместно цитрат серебра как носитель ионов серебра Ag^+ и альфа-бисаболол ингибируют ферментные системы микроорганизмов, обеспечивающих метаболизм и деление клеток. При совместном применении с энхансерами проникновения, как 1,8-цинеол, компоненты обладают синергетическим антибактериальным действием за счет улучшения проницаемости компонентов через липофильные мембраны бактерий и образованию липосомальных структур совместно с эфирным маслом чайного дерева. Компоненты эфирного масла чайного дерева блокируют действие дыхательных ферментов и связывают ионы калия K^+ , что вызывает осмотический шок и лизис бактериальных клеток.

Таким образом, объединение компонентов позволяет добиться синергетического действия в отношении условно-патогенных микроорганизмов за счет разрушения биопленок патогенных микроорганизмов и минимального риска развития резистентности у бактерий, что позволяет его регулярно применять в составе парфюмерно-косметических продуктов различной направленности, а также товаров бытовой химии.

Пример 3.

Проводилось исследование антибактериальной активности образцов с компонентами антибактериального биологически активного квадрокомплекса, а именно эфирным маслом чайного дерева *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) leaf oil, альфа-бисабололом, 1,8-цинеолом и водным раствором лимонной кислоты и цитрата серебра.

В качестве базы для включения компонентов комплекса применялась смесь, состоящая из воды очищенной и 0,5% твина 80. Образцы изготавливали с помощью магнитной мешалки путем солюбилизации компонентов квадрокомплекса в твине 80 и постепенного введения в воду очищенную при 350 об/мин. Стабильность образцов

оценивали визуальным способом, по отсутствию расслоения жирной фазы из водного раствора.

Были выбраны 2 штамма микроорганизмов нормальной микрофлоры, широко представленных на коже рук: эпидермальный стафилококк *Staphylococcus epidermidis* и микрококк *Micrococcus luteus*. Также были выбраны микроорганизмы транзиторной условно-патогенной микрофлоры, представленных на коже рук: золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus*, кишечная палочка *Escherichia coli* и грибы рода *Candida albicans*. Микроорганизмы были получены путем смывов с кожи рук добровольцев или использовались стандартные штаммы, культивирования выделенных микроорганизмов и подсчета количества выросших колоний микроорганизмов.

Методика анализа основана на методе серийных разведений и заключается в том, что готовят суспензию бактериальных клеток выбранных микроорганизмов (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *S. epidermidis*, *M. luteus*) по отдельности в концентрации 1×10^9 клеток/мл. Далее 0,2 мл взвеси бактериальных клеток вносят в 1,8 мл 5% раствора антибактериальных компонентов. Через 30 минут по 1 мл полученной смеси вносят в пробирку с 9 мл стерильного физиологического раствора 0,9%. Еще через 15 минут готовят серию разведений на стерильном физиологическом растворе до концентрации 10^3 клеток/мл. По 0,1 мл раствора исходной концентрации и последовательных разведений вносят на поверхность чашек со специальной питательной средой для роста выбранных микроорганизмов по-отдельности. Посевы инкубируют в течение 48 часов при температуре 37 градусов Цельсия и подсчитывают колонии стандартным методом.

Параметром для общей оценки влияния биологически активного квадрокомплекса на рост представителей нормальной микрофлоры выступало наличие или отсутствие роста микроорганизмов, определяемый микробиологом по результатам исследования. Показатель роста бактерий позволяет оценить влияние на микроорганизмы микрофлоры и сделать вывод о собственном влиянии квадрокомплекса на микрофлору кожи рук. Общая положительная тенденция применения компонентов заявляемого квадрокомплекса – отсутствие негативного влияния на нормальную микрофлору кожи рук и выраженное антибактериальное воздействие на транзиторную микрофлору, что будет обеспечивать поддержание естественной непатогенной микрофлоры для дерматологического комфорта и гигиену кожи рук.

По результатам оценки влияния на рост представителей нормальной и транзиторной микрофлоры установлено, что исследуемый биологически активный квадрокомплекс и его компоненты не обладают антибактериальным эффектом в отношении представителей нормофлоры кожи рук. По окончании исследования

наблюдался рост бактерий штаммов *Staphylococcus epidermidis* и *Micrococcus luteus*. Однако компоненты комплекса по-разному воздействуют на транзиторную условно-патогенную микрофлору человека, обладая бактериостатическим действием на рост *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*. По отдельности компоненты способны замедлять рост условно-патогенных микроорганизмов или угнетать рост в большинстве зон посева, однако объединение позволяет добиться синергетического антибактериального эффекта для преобладающего отсутствия роста микроорганизмов (Таблица № 5).

Таблица № 5. Влияние антибактериальных базовых образцов на рост представителей микрофлоры кожи рук

Экспериментальный образец	Тест-штаммы микроорганизмов				
	<i>S. epidermidis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Эфирное масло чайного дерева 0,30%	-	-	±	+	±
Альфа-бисаболол 0,10%	-	-	±	±	-
1,8-цинеол 0,15%	-	-	-	±	-
Водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра 0,01%	-	-	-	±	-
Биологически активный квадрокомплекс	-	-	++	++	+
Спирт этиловый 96%	++	++	++	++	++
Перекись водорода 3%	+	+	+	+	+
Бензалкония хлорид 0,1%	++	++	++	++	++

Вода очищенная	-	-	-	-	-
<p>Обозначения:</p> <p>«++» - отсутствие роста;</p> <p>«+» - угнетенный рост в большинстве зон;</p> <p>«+» - замедленный рост в некоторых зонах;</p> <p>«-» - сплошной рост-тест микроорганизмов.</p>					

Микробиота является гармоничной системой, поэтому важно поддерживать баланс микроорганизмов как на коже, так и на поверхностях. В частности, *Staphylococcus aureus* совместно с другими оппортунистическими микроорганизмами, как *Escherichia coli*, способен образовывать стабильные биопленки из экзополисахаридного матрикса и способствовать развитию различных дерматологических заболеваний, в том числе атопического дерматита [E. Scott, S. Bloomfield. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. J. Appl. Bacteriol. 68 (1990) 271-278].

Компоненты биологически активного квадрокомплекса специфически влияют на рост условно-патогенных микроорганизмов, к которым быстро развивается устойчивость и которые образуют стабильные защитные биопленки, однако не оказывают негативного воздействия на резидентные микроорганизмы, что позволяет обеспечивать направленную защиту от развития условно-патогенных представителей и сохранять гармоничное биоразнообразие микрофлоры. Уменьшение биоразнообразия патогенных штаммов будет способствовать смещению альфа- и бета-биоразнообразия в сторону благотворной резидентной микрофлоры кожи рук и улучшению дерматологического состояния кожи в целом.

Поскольку композиция имеет в составе водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра, содержащий активные ионы серебра Ag^+ , и сесквитерпеновый спирт альфа-бисаболол с синергетическим антибактериальным действием за счет подавления несформировавшихся биопленок транзиторных патогенных бактерий кожи, то при длительном применении будет снижаться количество транзиторных микроорганизмов в верхних слоях кожи. При совместном применении с энхансерами проникновения, как 1,8-цинеол, компоненты обладают синергетическим антибактериальным действием за счет улучшения проницаемости компонентов через липофильные мембраны бактерий и образованию липосомальных структур совместно с эффективным эфирным маслом чайного дерева. Компоненты эфирного масла чайного дерева блокируют действие дыхательных ферментов и связывают ионы калия K^+ , что вызывает осмотический шок и выраженный лизис бактериальных клеток. Стоит отметить, что компоненты комплекса

по отдельности и вместе не обладают бактериостатическим действием на представителей резидентной микрофлоры кожи рук, что поддерживает биоразнообразие нормальной микрофлоры и обеспечивает естественную защиту кожи.

Таким образом, объединение компонентов в единый комплекс позволяет добиться синергетического действия в отношении условно-патогенных микроорганизмов (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*) и сохранения представителей нормальной микрофлоры (*S. epidermidis*, *M. luteus*), способной обеспечивать естественную защиту от избыточного роста транзитной флоры. Заявленный биологически активный квадрокомплекс обладает высоким антибактериальным эффектом в отношении условно-патогенных транзитных штаммов, являющихся причинным фактором развития дерматологических и системных заболеваний и представителями транзитной микрофлоры кожи рук. Уменьшение представленности условно-патогенных штаммов, в частности образующих стабильные биопленки, будет способствовать смещению альфа- и бета-биоразнообразия в сторону благотворной резидентной микрофлоры кожи рук и улучшению дерматологического состояния кожи в целом. Поскольку сохраняется нормальная микрофлора кожи в месте применения, то возможно применять в составе парфюмерно-косметических продуктов различной направленности и товаров бытовой химии на регулярной основе.

Пример 4.

Проводилось клинико-лабораторное исследование с участием здоровых добровольцев по оценке влияния антибактериального биологически активного квадрокомплекса, а именно эфирным маслом чайного дерева *Melaleuca alternifolia* (*Tea tree*) *leaf oil*, альфа-бисабололом, 1,8-цинеолом и водным раствором лимонной кислоты и цитрата серебра, на микрофлору кожи при однократном и регулярном использовании жидкого мыла как базового парфюмерно-косметического продукта.

В качестве базы для включения компонентов комплекса применялась смесь, состоящая из Aqua, Sodium Coco-Sulfate, Coco-Glucoside, Glycerin, Cocamidopropyl Betaine, Lactic Acid, Benzyl Alcohol, Tetrasodium Glutamate Diacetate, Benzoic Acid, приведенная в Таблице №1. Процесс изготовления жидкого мыла описан в Примере 1.

Для определения влияния биологически активного квадрокомплекса в составе жидкого мыла на микрофлору кожи, проведено открытое проспективное двойное слепое сравнительное исследование на 40 добровольцах. При проведении испытаний участники были разделены на 2 группы: экспериментальная группа из 20 добровольцев, использовавшая жидкое мыло с антибактериальным биологически активным

квадрокомплексом, и контрольная группа, использовавшая жидкое мыло без антибактериального биологически активного квадрокомплекса. Все включенные в исследование добровольцы мыли руки в теплой проточной воде в течение не менее 30 секунд с использованием 1,5 мл жидкого мыла, активно намыливая кожу рук до появления обильной пены. Добровольцы обеих групп использовали средство в соответствии с рекомендациями по применению, не реже 4-х раз в день. Общая продолжительность исследования для добровольцев составила 21 день, с промежуточными визитами на 1 и 7 дни исследования.

Для микробиологического исследования проводилось взятие материала с поверхности кожи рук с помощью стерильного тампона, протирая кожу ладоней в течение 30 сек. После этого тампоны погружали в стерильную транспортную питательную среду (среда Стюарта) и в течение часа доставляли для исследования в микробиологическую лабораторию. Посевы материала из жидкой транспортной среды проведены на дифференциально-диагностические плотные питательные среды.

Параметром для общей оценки влияния на микрофлору кожи рук выступало изменение биоразнообразия микрофлоры кожи рук (в количественных единицах), а именно количество выросших КОЕ микроорганизмов, полученных из смывов с кожи рук добровольцев. Общая положительная тенденция – уменьшение альфа- и бета-биоразнообразия микрофлоры на кожи рук, с преимущественным угнетением условно-патогенных микроорганизмов.

Для количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). Полученные данные обрабатывали с помощью программы MS Excel. Вероятность различий показателей средних в различные моменты времени определяли с использованием t -критерия Стьюдента при нормальном распределении в независимых и зависимых выборках. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты бактериологического исследования клинического материала, полученного с кожи рук добровольцев (Таблица №6) показали значительное снижение микробной обсемененности в основной группе по сравнению с контролем ($p < 0,05$) при долговременном использовании парфюмерно-косметического продукта. Несмотря на то, что в испытаниях участвовали здоровые добровольцы со здоровой кожей рукой, без видимых повреждений, по результатам сравнения динамики показателя, выявлено, что в ходе применения жидкого мыла с антибактериальным биологически активным квадрокомплексом наблюдалось статистически значимое изменение показателя ($p < 0,05$, t-Стьюдент для 2-х зависимых выборок). До начала применения жидкого мыла с

антибактериальными компонентами высевались преимущественно *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Micrococcus spp.*, другие грамположительные палочки, а также колонии условно-патогенных микроорганизмов. Через 3 часа после мытья кожи рук наблюдалось резкое снижение числа выросших колоний благодаря смывающему действию ПАВ в составе жидкого мыла и антибактериальным компонентам, входящим в состав биологически активного квадрокомплекса. Дальнейшее применение композиции в составе мыла показало достоверное снижение числа колоний по сравнению с первым днем. Присутствие стабильного незначительного количества колоний, выросших на 7 и 21 дни исследования, свидетельствует о выраженном бактериостатическом действии биологически активного квадрокомплекса в отношении условно-патогенных микроорганизмов и некоторых представителей резидентной микрофлоры, избыточно населяющей кожу рук. Учитывая тот факт, что добровольцы на входе демонстрировали хороший уровень микрофлоры и использовали гигиенические средства в период пандемии COVID-19, наблюдаемый эффект при большей обсемененности будет более заметным, а альфа- и бета-биоразнообразие микрофлоры значительно ниже.

У добровольцев в контрольной группе, применявших жидкое мыло без биологически активного квадрокомплекса, до начала исследования высевались преимущественно *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Micrococcus spp.*, а также колонии условно-патогенных микроорганизмов. Через 3 часа после мытья кожи рук наблюдалось резкое снижение числа выросших колоний благодаря смывающему действию ПАВ в составе жидкого мыла. При долговременном применении прослеживалась тенденция в снижении высеваемости культур, но менее выраженная чем в случае жидкого мыла с биологически активным квадрокомплексом. Присутствие стабильного значительного количества колоний, выросших на 7 и 21 дни исследования, свидетельствует об очень слабом бактериостатическом действии биологически активного квадрокомплекса в отношении условно-патогенных микроорганизмов и некоторых представителей резидентной микрофлоры, избыточно населяющей кожу рук.

Таблица № 6. Результаты микробиологических исследований микрофлоры кожи

Продукт	Показатель	Количество выросших колоний микроорганизмов на плотных питательных средах			
		До применения мыла	Через 3 часа после применения	Через 7 дней после применения	Через 21 день после применения
	M±SD	32,30±12,11*	1,30±2,41	6,75±5,87	7,00±4,92

Жидкое мыло с биологически активным квадрокомплексом	Сумма КОЕ у 20 субъектов	646	26	135	140
Жидкое мыло без биологически активного квадрокомплекса	M±SD	19,70±11,06	0,70±1,17	15,45±5,98	14,35±7,09
	Сумма КОЕ у 20 субъектов	394	14	309	287

По результатам испытаний было показано, что биологически активный квадрокомплекс в составе жидкого мыла изменяет микрофлору кожи рук при регулярном применении продукта, содержащего его. Применение жидкого мыла с заявленным биологически активным квадрокомплексом привело к выраженному изменению микрофлоры кожи рук, что свидетельствует об уменьшении разнообразия транзиторных условно-патогенных микроорганизмов, являющихся причинным фактором многих заболеваний человека в целом. Уменьшение биоразнообразия условно-патогенных штаммов способствовало смещению бета-биоразнообразия в сторону благотворной резидентной микрофлоры кожи и улучшению дерматологического состояния кожи в целом, что было отмечено всеми добровольцами.

Поскольку биологически активный квадрокомплекс содержит эфирное масло чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), альфа-бисаболол, 1,8-цинеола и водный раствор лимонной кислоты и цитрата серебра, с синергетическим действием компонентов за счет многофакторного действия на компартменты клеток микроорганизмов. База композиции мягко очищала загрязнения кожи рук и увеличивала доступ биологически активных веществ (БАВ) квадрокомплекса в труднодоступные участки кожи, тем самым увеличивая эффективность БАВ против условно-патогенной микрофлоры. Благодаря наличию активных ионов серебра Ag^+ и сесквитерпенового спирта альфа-бисаболол с синергетическим антибактериальным действием за счет подавления несформировавшихся биопленок транзиторных патогенных бактерий кожи, то при длительном применении будет снижаться количество условно-патогенных микроорганизмов в верхних слоях кожи. Совместно цитрат серебра как носитель ионов серебра Ag^+ и альфа-бисаболол ингибируют ферментные системы микроорганизмов, обеспечивающих метаболизм и деление клеток. При совместном применении с энхансером проникновения 1,8-цинеолом, компоненты обладают синергетическим бактериостатическим действием за счет улучшения проницаемости компонентов через

липофильные мембраны бактерий и образованию метастабильных липосомальных структур совместно с эфирным маслом чайного дерева.

Пример 5.

Способ получения композиции по изобретению включает следующие этапы, направленные на обеспечение высокой биодоступности биологически активных веществ композиции. При смешивании компонентов рекомендуется использовать коэффициент октанол-вода $\log P_{o/w}$, являющегося мерой липофильности веществ и определяющий сродство к липофильным структурам. Соблюдение правила смешивания компонентов с уменьшением $\log P$ позволит образовать стабильные липосомальные структуры, увеличить проникновение веществ через мембрану микроорганизмов и потенцировать биологическую активность для заявленных предназначений.

Например, было взято 25 массовых частей эфирного масла чайного дерева *Melaleuca alternifolia essential oil* со средним $\log P$ 4,13, обусловленного высоким содержанием терпинен-4-ола, γ - и α -терпинена, и смешано с 10 массовыми частями альфа-бисаболола с $\log P$ 3,80 посредством магнитной мешалки на 100 об/мин. Далее было добавлено 5 частей 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта *Eucalyptus spp.*, с $\log P$ 2,82. Далее была добавлена 1 массовая часть водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра, где указанный водный раствор содержит 19-23% масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра, с помощью гомогенизатора для эффективного распределения в композиции. Последовательное вхождение веществ в составе композиции позволяет достичь высокой стабильности, потенцирует биологическую активность за счёт наибольшего физико-химического сродства и совместного химически обусловленного проникновения компонентов композиции.

Приготовленная композиция может быть использована при изготовлении парфюмерно-косметических средств для ухода за кожей рук и/или тела, а также средств бытовой химии. Одним из вариантов внедрения является интеграция в парфюмерно-косметический продукт для мытья рук следующим образом: растворяют поверхностно-активные вещества в предварительно нагретой воде очищенной с помощью магнитной мешалки. Приготовленную ранее композицию добавляют в глицерин и солюбилизатор, перемешивают до однородности смеси. Далее добавили хелатирующий агент и консервант, активный при данном pH продукта, для поддержания микробиологической стабильности в течение срока годности, дополнительно обеспечиваемой данной композицией. Для придания определенного аромата можно ввести отдушку или иной компонент.

Данное средство может быть использовано для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, поддержания устойчивого состояния резидентной микрофлоры кожи рук, тела, скальпа головы, выраженного антибактериального воздействия на транзиторную микрофлору, разрушения биопленок условно-патогенных микроорганизмов.

Дополнительно композиция может быть введена в следующие типы средств при модификации базы поверхностно-активных веществ: жидкое косметическое мыло, жидкое крем-мыло, твердое косметическое мыло, гель для душа и/или ванны, пена для ванн, пена для умывания, косметическое средство для ухода за кожей головы от перхоти, например, шампунь для ежедневного применения, шампунь-бальзам, шампунь для душа, шампунь-кондиционер, бальзам, ополаскиватель, маска, жидкие средства гигиены полости рта, например, зубная паста, ополаскиватель,

Дополнительно композиция может быть введена в следующие типы средств при выборе эмульгирующих компонентов: косметическое средство для ухода за кожей тела, например, крем для рук, лосьон для рук, крем для тела, лосьон для тела, дезодорант, духи-дезодорант, духи-крем, твердые духи, косметический бальзам, косметический гель,

Дополнительно композиция может быть использована в составе пропитки для косметических салфеток, предназначенных для гигиены кожи рук.

Таким образом в материалах заявки было подтверждено достижение всех ожидаемых результатов, продемонстрирована высокая эффективность заявленного комплекса и его промышленная применимость.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Биологически активный комплекс, предназначенный для использования в парфюмерно-косметическом средстве и/или средстве бытовой химии, состоящий из:

- а) эфирного масла чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*),
- б) альфа-бисаболола,
- в) 1,8-цинеола, полученного из листьев эвкалипта (*Eucalyptus spp.*),
- г) водного раствора лимонной кислоты и цитрата серебра,

где указанный водный раствор содержит 19-23 %масс. лимонной кислоты и 2280-2640 частей на миллион цитрата серебра и где массовое соотношение компонентов а:б:в:г составляет (0,1-0,5):(0,05-0,3):(0,05-0,35):(0,01-0,2) соответственно.

2. Биологически активный комплекс по п. 1, где *Eucalyptus spp.* представляет собой *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. loxophleba*, *E. leocoxylon*, *E. smithii*, *E. maideni*, *E. bicostata* или *E. cineria*.

3. Биологически активный комплекс по п. 2, где *Eucalyptus spp.* содержит не менее чем 70% (об./об.) 1,8-цинеола.

4. Жидкое мыло, содержащее 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

5. Гель для душа, содержащий 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

6. Косметическое средство для ухода за кожей головы, содержащее 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

7. Косметическое средство для ухода за кожей тела, содержащее 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

8. Косметическое гигиеническое средство, не содержащее этилового спирта, содержащее 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

9. Средство для мытья поверхности, контактирующей с кожей рук, содержащее 0,3-0,7 %масс. биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3.

10. Применение биологически активного комплекса по любому из пп. 1-3 для регуляции микробиоты кожи, включая ингибирование роста популяции условно-патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибов, поддержание устойчивого состояния резидентной микрофлоры, выраженное антибактериальное воздействие на транзитную микрофлору, разрушение биопленок условно-патогенных микроорганизмов.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 2021/000272

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (see supplemental sheet) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K, A61Q Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PAJ, Espacenet, PatSearch, USPTO, PubMed, Google		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EA 200700579 A1 (PIUER BAIOSAINS) 26.10.2007, p.4-6, 9-13, 16, tables, the claims	1-10
Y	ASHOK K DHAKAD et al. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. J Sci Food Agric, 2018 Feb; 98(3):833-848. doi: 10.1002/jsfa.8600. Epub 2017 Sep 11, tables 60-62, the abstract	1-10
Y	HATICE ZENGİN et al. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. Molecules 2014, 19, 17773-17798; doi: 10.3390/molecules191117773, table 3, abstract	1-10
Y	MARCEL FORRER et al. The antimicrobial activity of alpha-bisabolol and tea tree oil against Solobacterium moorei a Gram-positive bacterium associated with halitosis. Archives of oral biology, 58 (2013). 10-16, table1, the abstract	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 03 November 2021 (03.11.2021)		Date of mailing of the international search report 02 December 2021 (02.12.2021)
Name and mailing address of the ISA/ RU		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/18 (2006.01)
A61K 8/9789 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 36/61 (2006.01)
A61Q 17/00 (2006.01)
A61Q 19/10 (2006.01)

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2021/000272

<p>А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (см. дополнительный лист)</p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>																	
<p>В. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">A61K, A61Q</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p style="text-align: center;">PAJ, Espacenet, PatSearch, USPTO, PubMed, Google</p>																	
<p>С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>EA 200700579 A1 (ПЬЮЭР БАЙОСАЙНС) 26.10.2007, с.4-6, 9-13, 16, таблицы, формула</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>ASHOK K DHAKAD et al. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. J Sci Food Agric, 2018 Feb; 98(3):833-848. doi: 10.1002/jsfa.8600. Epub 2017 Sep 11, таблицы 60-62, реферат</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>HATICE ZENGIN et al. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. Molecules 2014, 19, 17773-17798; doi:10.3390/molecules191117773, таблица 3, реферат</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>MARCEL FORRER et al. The antimicrobial activity of alpha-bisabolol and tea tree oil against Solobacterium moorei a Gram-positive bacterium associated with halitosis. Archives of oral biology, 58 (2013). 10-16, таблица 1, реферат</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	Y	EA 200700579 A1 (ПЬЮЭР БАЙОСАЙНС) 26.10.2007, с.4-6, 9-13, 16, таблицы, формула	1-10	Y	ASHOK K DHAKAD et al. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. J Sci Food Agric, 2018 Feb; 98(3):833-848. doi: 10.1002/jsfa.8600. Epub 2017 Sep 11, таблицы 60-62, реферат	1-10	Y	HATICE ZENGIN et al. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. Molecules 2014, 19, 17773-17798; doi:10.3390/molecules191117773, таблица 3, реферат	1-10	Y	MARCEL FORRER et al. The antimicrobial activity of alpha-bisabolol and tea tree oil against Solobacterium moorei a Gram-positive bacterium associated with halitosis. Archives of oral biology, 58 (2013). 10-16, таблица 1, реферат	1-10
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №															
Y	EA 200700579 A1 (ПЬЮЭР БАЙОСАЙНС) 26.10.2007, с.4-6, 9-13, 16, таблицы, формула	1-10															
Y	ASHOK K DHAKAD et al. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. J Sci Food Agric, 2018 Feb; 98(3):833-848. doi: 10.1002/jsfa.8600. Epub 2017 Sep 11, таблицы 60-62, реферат	1-10															
Y	HATICE ZENGIN et al. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. Molecules 2014, 19, 17773-17798; doi:10.3390/molecules191117773, таблица 3, реферат	1-10															
Y	MARCEL FORRER et al. The antimicrobial activity of alpha-bisabolol and tea tree oil against Solobacterium moorei a Gram-positive bacterium associated with halitosis. Archives of oral biology, 58 (2013). 10-16, таблица 1, реферат	1-10															
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы С. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>																	
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&” документ, являющийся патентом-аналогом</p> </td> </tr> </table>			<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&” документ, являющийся патентом-аналогом</p>													
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&” документ, являющийся патентом-аналогом</p>																
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p style="text-align: center;">03 ноября 2021 (03.11.2021)</p>		<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p style="text-align: center;">02 декабря 2021 (02.12.2021)</p>															
<p>Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>		<p>Уполномоченное лицо: Курильченко Е.М. Телефон № (8-499) 240-25-91</p>															

A61K 8/18 (2006.01)
A61K 8/9789 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)
A61K 36/61 (2006.01)
A61Q 17/00 (2006.01)
A61Q 19/10 (2006.01)