

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038061**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.30

(21) Номер заявки
201991053

(22) Дата подачи заявки
2017.10.27

(51) Int. Cl. **A61Q 19/00** (2006.01)
A61K 8/99 (2017.01)

(54) СПРЕЙ-АЭРОЗОЛЬ, СОДЕРЖАЩИЙ ЖИЗНЕСПОСОБНЫЕ ШТАММЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

(31) **2016/5812**

(32) **2016.10.28**

(33) **BE**

(43) **2019.09.30**

(86) **PCT/EP2017/077547**

(87) **WO 2018/078067 2018.05.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЙЮН НВ; УНИВЕРСИТЕЙТ
АНТВЕРПЕН (BE)**

(72) Изобретатель:
**Хенкенс Тим, Кикенс Филип, Лебер
Сара, Клас Ингмар (BE)**

(74) Представитель:
Носырева Е.Л. (RU)

(56) ARAKATSU S.: "Nyusankin o Riyoshita Kinosei Keshohin Shokuhin no Kaihatsu Kenkyu Doko /THE DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL COSMETICS AND FOOD USING LACTIC ACID BACTERIA", SHOKUJIN-SHOKUJIN-TENKABUTSU-KENKYUSHI = FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN, FFI JANARU HENSHU IINKAI, TOYONAKA, JP, vol. 209, no. 9, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 780-792, XP003007238, ISSN: 0919-9772 the whole document

DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 1 December 2008 (2008-12-01), "Moisture Milk", XP002776772, Database accession no. 1033516 the whole document

DATABASE GNPD [Online] MINTEL; 1 December 2010 (2010-12-01), "Milk fresh", XP002776773, Database accession no. 1460102 the whole document

US-A1-2005196480

US-A1-2016008412

US-A1-2012328586

Schrezenmeir J.: "Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition", Am J. Clin Nutr 2001; 73(suppl), 31 December 2001 (2001-12-31), pages 361S-364S, XP55364468, Retrieved from the Internet: URL: <http://ajcn.nutrition.org/content/73/2/361s.full.pdf> [retrieved on 2017-04-12] the whole document

Daniel Bonner: "Introduction to Aerosols SATA Aerosol 101 CONTENT", 18 March 2015 (2015-03-18), XP055435894, Retrieved from the Internet: URL: <https://southernaerosol.com/wp-content/uploads/2015/06/7-A101-Propellants-Use-Safety.pdf>

(57) Изобретение направлено на спрей-аэрозоль, содержащий один или более жизнеспособных штаммов молочнокислых бактерий, один или более летучих силоксанов и углеводородный газ-вытеснитель под давлением, подходящий для применения указанных одного или более жизнеспособных штаммов молочнокислых бактерий по отношению к поверхности или окружающей среде.

B1**038061****038061****B1**

Область техники

Настоящее изобретение направлено на спрей-аэрозоль, содержащий один или более жизнеспособных видов бактерий и один или более летучих силоксанов, подходящий для применения указанного одного или более жизнеспособных видов бактерий по отношению к поверхности или окружающей среде.

Уровень техники

Спреи-аэрозоли являются хорошо пригодными для применения различных средств по отношению к поверхности или окружающей среде, и это будет интересным путем составления живых видов бактерий. Однако, в общем, спреи-аэрозоли содержат водный компонент, который несовместим с составом на основе живых видов бактерий. В частности, присутствие воды обычно также требует присутствия консерванта для предотвращения роста вредных патогенов и для контроля роста микроорганизмов. Консерванты вредны для выживания совместно составленных микроорганизмов. Кроме того, даже ограниченные количества воды в совместном составе достаточны для активации покоящихся форм бактерий, за счет чего значительно снижается срок хранения данных композиций. Таким образом, типичные спреи-аэрозоли являются неподходящими для составления живых видов бактерий, и целью настоящего изобретения было обеспечение композиции аэрозоля, которая решает эти проблемы в отношении составления и обеспечения длительного хранения живых видов бактерий.

Кроме того, неожиданно обнаружили, что спрей-аэрозоли, содержащие по меньшей мере один летучий силоксан, являются хорошо пригодными для указанной цели.

Силиконовые жидкости и, в частности, силоксаны, часто используют в спреях, содержащих продукты для защиты растений, репелленты, гигиенические косметические средства и другие средства личной гигиены. Чаще всего используемые силиконовые жидкости представляют собой диметиконы, циклометиконы и фенилтриметиконы.

При включении в продукт эти силиконовые жидкости являются очень подходящими маслами-носителями с большим рядом преимуществ, таких как улучшенное скольжение, снижение липкости и придание мягкости. Несмотря на низкую растворимость и вязкость циклометиконов, эти силиконовые жидкости рассматриваются как особенно пригодные при их составлении в виде спреев-аэрозолей, поскольку они, как правило, обеспечивают вышеуказанные преимущества без придания жирности или маслянистости. Кроме того, известно, что циклометикон имеет относительно высокую летучесть и чрезмерно не блокирует антиперспирантное активное средство в дезодорантах. Наконец, циклометиконы являются превосходными диспергирующими и лиофилизирующими средствами, они обычно бесцветные, как вода, имеют слабый запах, являются летучими и устойчивы к химическому и окислительному разложению.

Несмотря на их широкое применение в спреях-аэрозолях, эти силиконовые жидкости обычно рассматривают как имеющие противомикробные свойства в отношении большого ряда (аэробных) бактерий, и, таким образом, их дополнительно не исследовали для составления с бактериями. Несмотря на это, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что силиконовые жидкости и, в частности, летучие силоксаны, такие как циклометиконы, можно использовать для длительного хранения (покоящихся форм молочнокислых) бактерий в спреях-аэрозолях. Было обнаружено, что на такие покоящиеся формы бактерий не воздействуют летучие силоксаны и, таким образом, они остаются стабильными при хранении. После распыления покоящиеся формы бактерий становятся активными из-за контакта с водой или паром, и к тому времени входящие в состав летучие силоксаны испаряются и больше не влияют на выживаемость активированных бактерий.

Краткое описание изобретения

В первом аспекте настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, содержащий 1-20 вес.% одного или более жизнеспособных штаммов пробиотических бактерий, один или более летучих силоксанов и газ-вытеснитель под давлением.

В конкретном варианте осуществления указанный один или более жизнеспособных видов бактерий, более конкретно жизнеспособных пробиотических штаммов, относятся к покоящимся формам видов бактерий, более конкретно покоящимся формам молочнокислых бактерий.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения указанный один или более силоксанов выбраны из списка, включающего линейные силоксаны, такие как диметиконы, диметиконолы, фенилтриметиконы и их производные; или циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные; более конкретно циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные.

В другом конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, содержащий смесь одного или более жизнеспособных (предпочтительно покоящихся форм) видов бактерий и один или более летучих силоксанов, причем указанная смесь находится в форме порошка, суспензии или эмульсии; причем спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может дополнительно содержать газ-вытеснитель.

Указанный газ-вытеснитель (под давлением), в частности, выбран из списка, включающего сжиженный газ, более конкретно один или более углеводородов, таких как метан, этан, пропан, изопропан, бутан, н-бутан, пентан и н-пентан; в качестве альтернативы газ-вытеснитель может быть постоянно сжатым и/или растворимым газом, таким как азот, диоксид углерода, сжатый воздух или газообразный оксид

одновалентного азота.

В еще одном варианте осуществления спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может дополнительно содержать средство против осаждения и/или против агломерации. Указанные средства против осаждения и/или против агломерации, в частности, выбраны из списка неорганических полимеров, таких как гели на основе органоглин, содержащие бентонит или гекторит; и/или виды пирогенного диоксида кремния, такие как Aerosil.

В другом конкретном варианте осуществления спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может дополнительно содержать одно или более смягчающих средств, суспендирующих средств, увлажняющих средств, антиоксидантов, увлажнителей, эмульгаторов, модификаторов вязкости, ароматизирующих веществ и/или других вспомогательных веществ.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль; причем его состав предусматривает или включает по меньшей мере 50% газа-вытеснителя, 1-20% силоксанов, 1-20% молочнокислых бактерий и 0,1-10% средств против осаждения и/или против агломерации.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль; причем его состав предусматривает или включает по меньшей мере 75% газа-вытеснителя, 5-10% циклометикона, 1-10% молочнокислых бактерий и 0,1-5% геля Bentone. В качестве альтернативы настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, содержащий или состоящий по меньшей мере из 75% газа-вытеснителя, 5-10% циклометикона, 1-10% молочнокислых бактерий и 0,1-5% Aerosil.

В конкретном варианте осуществления спрей-аэрозоль согласно настоящему изобретению практически не содержит воды и консервантов.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение обеспечивает применение спрея-аэрозоля согласно настоящему изобретению для применения указанного одного или более жизнеспособных видов бактерий; в частности указанных жизнеспособных штаммов пробиотических бактерий, по отношению к поверхности или окружающей среде.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, определенный в данном документе, для применения в восстановлении и/или поддержании здоровой микробиоты кожи. Таким образом, настоящее изобретение также обеспечивает применение спрея-аэрозоля согласно настоящему изобретению для восстановления и/или поддержания здоровой микробиоты кожи.

Краткое описание графических материалов

Посредством конкретной ссылки на фигуры подчеркивается, что показанные подробности приведены лишь в качестве примера и в целях иллюстративного рассмотрения различных вариантов осуществления настоящего изобретения. Они приведены по причине представления того, что считается наиболее применимым и легко доступным описанием идей и концептуальных аспектов настоящего изобретения. В связи с этим не предпринимается попытка показать структурные детали настоящего изобретения подробнее, чем это необходимо для фундаментального понимания настоящего изобретения. Описание, взятое совместно с графическими материалами, поясняет специалистам в данной области техники, как можно реализовать на практике несколько форм настоящего изобретения.

Фиг. 1 - стабильность самостоятельно культивируемых (невысушенных) Lac 4 и Lac 7 относительно коммерческого лиофилизированного штамма LGG, суспендированного (1/10 мас./мас.%) в силиконовом масле CF 1406-ОН в течение 1 года. На данном чертеже ясно показано, что лиофилизация пробиотиков и их суспендирование в безводной силиконовой смеси является идеальным путем для предотвращения быстрого снижения жизнеспособности жизнеспособных бактерий. Суспендирование лиофилизированных бактерий в смеси силиконов, содержащей диметикон и диметиконол, обеспечивает длительное хранение этих видов молочнокислых бактерий.

Фиг. 2 - стабильность самостоятельно культивируемых (невысушенных) Lac 4 и Lac 7 относительно коммерческого лиофилизированного штамма LGG, суспендированного (1/10 мас./мас.%) в силиконовом масле CF 6570-DM в течение 1 года. На данном чертеже ясно показано, что лиофилизация пробиотиков и их суспендирование в безводной силиконовой смеси является идеальным путем для предотвращения быстрого снижения жизнеспособности жизнеспособных бактерий. Суспендирование лиофилизированных бактерий в смеси силиконов, содержащей диметикон, дисилоксан и циклопентасилоксан, обеспечивает длительное хранение этих видов молочнокислых бактерий.

Фиг. 3 - кривые выживаемости суспендированного лиофилизированного L.Plantarum в различных составах (F1-F8), при хранении в емкости под давлением с углеводородными газами-вытеснителями при комнатной температуре (20°C). После небольшого начального снижения жизнеспособности в течение первого месяца жизнеспособность остается довольно постоянной в течение следующих месяцев, подтверждая то, что хранение в емкости под давлением является подходящим способом для длительного выживания пробиотиков.

Фиг. 4 - Стабильность на шестой месяц для лиофилизированного L.Plantarum в различных составах относительно таких же составов, хранящихся в емкостях под давлением. Через 6 месяцев хранения существует статистически значимая разница в выживаемости для составов, хранящихся с газом-вытеснителем в емкости под давлением, и составов, хранящихся без газа-вытеснителя. Выживаемость была лучше у всех 8 протестированных составов, доказывая, что суспендирование лиофилизированных бактерий в си-

ликоновом масле, хранящихся с газом-вытеснителем, является лучшим способом для обеспечения длительной стабильности, чем простое суспендирование лиофилизированных бактерий в силиконовом масле.

Фиг. 5 - стабильность лиофилизированных LAC_15 в различных силиконах и смесях силиконов через 3 месяца. Хотя отмечали небольшую разницу, большинство было признано незначительными. По-видимому, существует тенденция, если смесь различных силиконовых масел обеспечивает лучшую стабильность, чем один или два компонента, представляющих собой масла. Это может указывать на то, что более низкая концентрация различных силиконовых масел нейтрализует негативное влияние компонентов-силиконов с более высокой разовой концентрацией.

Подробное описание изобретения

В первом аспекте настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, содержащий 1-20 вес.% одного или более жизнеспособных штаммов пробиотических бактерий, один или более летучих силоксанов и газ-вытеснитель под давлением.

В более общем смысле настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, содержащий смесь одного или более жизнеспособных (предпочтительно покоящихся форм) видов бактерий и один или более летучих силоксанов, причем указанная смесь находится в форме порошка, суспензии или эмульсии. В конкретном варианте осуществления указанный один или более жизнеспособных видов бактерий относятся к покоящимся формам видов бактерий, более конкретно покоящимся формам молочнокислых бактерий.

В контексте настоящего изобретения выражение "спрей-аэрозоль" означает тип дозирующей системы, который создает аэрозоль в виде тумана. Его используют с баллоном или бутылкой, которая содержит смесь по настоящему изобретению и предпочтительно газ-вытеснитель под давлением. Когда клапан контейнера открыт, смесь выталкивается из емкости через клапаны и появляется в виде аэрозоля или тумана. По мере того как небольшое количество газа-вытеснителя расширяется с вытеснением смеси, большое количество газа-вытеснителя остается внутри баллона для поддержания постоянного давления. Снаружи баллона газ-вытеснитель быстро испаряется.

В контексте настоящего изобретения термин "смесь" обозначает систему, состоящую из двух или более различных веществ, которые смешаны, но не объединены химически, такую как комбинация летучих силоксанов и покоящихся форм видов бактерий. В такой смеси отдельные виды компонентов сохраняются, и их смешивают в форме растворов, суспензий, эмульсий, коллоидов или порошков.

В контексте настоящего изобретения термин "порошок" обозначает сухое, объемное твердое вещество, состоящее из большого количества очень мелких частиц, которые могут свободно течь при встряхивании или наклоне. Порошки представляют собой специальный подкласс гранулированных материалов, хотя термины порошок и гранулы иногда используют для различения отдельных классов материала.

В контексте настоящего изобретения термин "покоящиеся формы" означает, что живые/жизнеспособные бактерии находятся в таком состоянии, при котором рост, развитие, размножение и т.д. временно прекращено. Они находятся в метаболическом состоянии покоя, в котором метаболические процессы замедляются до такой степени, что они больше не дают значительные количества метаболитов. Многие виды бактерий могут выживать в неблагоприятных условиях, таких как низкая температура, путем образования (эндо)спор, цист, конидий или состояний сниженной метаболической активности с отсутствием специальных клеточных структур. После попадания в "нормальные" условия покоящиеся формы бактерий могут повторно активироваться, например, после того, как они контактируют с водой или подвергаются определенной температуре или вибрации. В контексте настоящего изобретения бактерии можно ввести в состояние покоя с помощью известных в данной области методик, таких как лиофилизация, высушивание распылением, вакуумное высушивание, высушивание в псевдооживленном слое, криовысушивание в азоте и т.д. Предпочтительно бактерии по настоящему изобретению лиофилизированы.

В контексте настоящего изобретения термин "летучий" используют в отношении раскрытых силоксанов для указания того, что они имеют склонность к испарению. Летучесть непосредственно относится к давлению пара вещества. При заданной температуре вещество с более высоким давлением пара испаряется легче, чем вещество с более низким давлением пара. Иными словами, вещества с более низкой теплотой парообразования (кДж/кг) будут испаряться быстрее при заданной температуре, чем вещества с более высокой теплотой парообразования. Термин в первую очередь написан для применения по отношению к жидкостям; однако его можно использовать для описания процесса сублимации, который связан с твердыми веществами, такими как сухой лед (твердый диоксид углерода), которые могут изменяться непосредственно из твердого состояния в парообразное, не становясь жидкостью. Давление пара вещества представляет собой давление, при котором его газовая фаза находится в равновесии с его конденсированными фазами (жидкой или твердой). Это мера склонности молекул и атомов покидать жидкость или твердое вещество. Чем выше давление пара жидкости при заданной температуре, тем выше летучесть и ниже нормальная температура кипения жидкости. Предпочтительно давление пара летучих силоксанов по настоящему изобретению составляет менее 2500 кДж/кг при комнатной температуре (25°C), более предпочтительно менее 1000 и еще более предпочтительно менее 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300,

200 кДж/кг.

Циклометиконы представляют собой группу метилсилоксанов, класс жидких силиконов (полимеры на основе циклических полидиметилсилоксанов), которые характеризуются низкой вязкостью и высокой летучестью, а также являются смягчающими средствами для кожи и при определенных условиях являются пригодными очищающими растворителями. В отличие от диметиконов, которые являются линейными силоксанами, которые не испаряются быстро, циклометиконы являются циклическими, обе группы состоят из полимера, содержащего мономерный остов из одного атома кремния и двух атомов кислорода, связанных вместе, но вместо очень длинного "линейного" скелета, окруженного рядом метильных групп (которые обеспечивают прозрачную химически неактивную нелетучую жидкость с вязкостью в диапазоне от водянистой до густой), циклометиконы имеют короткие остовы, которые создают закрытые или почти закрытые кольца или "циклы" с их метильными группами, придавая им многие свойства, подобные диметиконам, но делая их намного более летучими. Таким образом, в зависимости от необходимой степени испарения можно выбрать более летучий силоксан, такой как пиклометикон, или вместо этого силоксан, который менее летучий, такой как диметикон. Однако предпочтительными являются более летучие силоксаны, такие как пиклометикон и его производные.

Силиконы обычно используют в промышленности по производству продуктов личной гигиены (и многих других) и ощущаются при контакте с кожей как однородные, густые, нежирные и нелипкие (Handbook of Cosmetic Science and Technology Fourth Edition 2014; New York CRC Press; 204 AD. Pg. 321-329). Они характеризуются низкой поверхностной энергией, являются стойкими к влаге и температуре, биосовместимыми, летучими и проницаемыми, нетоксичными и не вызывающими раздражение. Силиконы представляют собой полимеры, полученные из кремния (Si), углерода, кислорода и водорода, и могут быть линейными, циклическими или органо-функциональными. Самый распространенный силикон (диметикон) имеет неорганический остов из оксида Si с органическими (2х метильными) боковыми группами на Si. Силиконовый полимер содержит момеры в количестве в диапазоне от 2 до нескольких тысяч и характеризуется значениями вязкости, которые могут находиться в диапазоне от 0,65 сСт (гексаметилдисилоксан) до + 1 миллиона сСт, сП. Жидкости с высокой вязкостью могут образовывать защитную пленку, тогда как жидкости с низкой вязкостью могут быть эмульгированы и иметь лучшую растворимость с другими ингредиентами. Органические группы можно модифицировать с обеспечением поверхностно-активных свойств. Связи Si-О являются очень подвижными (энергия вращения Si-О составляет 0,2 ккал/моль; энергия вращения С-С составляет 3,3 ккал/моль), характеризуются сильной энергией связывания (сила связи Si-О составляет 117 ккал/моль; сила связи С-С составляет 85 ккал/моль), и они являются плоскими и длинными (угол Si-О равняется 130°, длина составляет 0,163 нм; связь С-С характеризуется углом 112° и длиной 0,154 нм). Это все делает остов очень гибким и сильным. Полидиметилсилоксан (PDMS) также характеризуется очень низким поверхностным натяжением 20 мН/м по сравнению с этанолом (50 мН/м) и водой (72 мН/м).² Это обеспечивает полное покрытие поверхности и превосходное лиофилизирующее средство, оба свойства являются полезными при составлении аэрозоля. Низкомолекулярные силиконы характеризуются высокой летучестью, не оставляя остатка и обеспечивая легкое ощущение на коже. Из-за их низкой теплоты парообразования (на грамм) они не требуют большого количества тепла от кожи для испарения и, следовательно, не ощущаются холодными по сравнению с продуктами на основе воды или этанола (см. табл. 1).

Таблица 1

Теплота парообразования для некоторых летучих жидкостей, используемых в косметических средствах

<i>Жидкость</i>	<i>Теплота парообразования, кДж/кг</i>
PDMS, циклический (DP = 4)	172
PDMS, циклический (DP = 5)	157
Гексаметилдисилоксан	192
Этанол	840
Вода	2257

Полимеры PDMS демонстрируют высокую проницаемость в отношении газов, которая связана с растворимостью и коэффициентом диффузии (см. табл. 2).

Таблица 2

Данные в отношении проницаемости для некоторых летучих жидкостей, используемых в косметических средствах

<i>Жидкость</i>	<i>Проницаемость в отношении водяных паров, г/м²/ч.</i>
PDMS, циклический (DP = 5)	155,7
PDMS, линейный (12,500 сСт)	107,4
Ненаполненный силиконовый каучук	148,6
Силиконовая смола	110,5
Минеральное масло	98,0
Алкилметилсилоксан (C30+)	1,4
Петролатум	1,3

Эта высокая скорость диффузии газов обеспечивает способность "дыхания" кожи, и она описана как такая, которая не образует непроницаемую пленку на поверхности кожи. Циклические силиконы (циклометикон, D4-D5-D6) являются очень хорошими растворителями, не оставляющими пятен, бесцветными, без запаха и с высокой летучестью. Их чаще всего используют в продуктах, представляющих собой антиперспиранты, в качестве средства доставки для активных ингредиентов. Они не ощущаются холодными на коже из-за их низкой теплоты парообразования и приятно ощущаются на коже и являются выбираемой суспендирующей средой для емкостей с аэрозолями под давлением. Они также могут предотвращать образование агломератов на клапанах из-за смазывающих свойств силиконов. Другие суспендирующие среды, обычно используемые в антиперспирантах, представляют этанол, воду и минеральные масла.

В контексте настоящего изобретения термин "силоксаны" означает молекулы, содержащие функциональные группы со связью Si-O-Si. Исходные силоксаны включают олигомерные и полимерные гибриды с формулами $\text{H}(\text{OSiH}_2)_n\text{OH}$ и $(\text{OSiH}_2)_n$. Силоксаны также включают разветвленные соединения, отличительным признаком которых является то, что каждая пара кремниевых центров разделена одним атомом кислорода. Силоксановая функциональная группа образует остов силиконов. Подходящие летучие силоксаны в контексте настоящего изобретения можно выбрать из списка, включающего линейные силоксаны, такие как диметиконы, диметиконолы, фенилтриметиконы и их производные; или циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные; более конкретно циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что путем создания давления в баллонах с аэрозолем достигали даже улучшенной стабильности по сравнению с композициями, находящимися под нормальным давлением. Таким образом, в другом конкретном варианте осуществления спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может дополнительно содержать газ-вытеснитель.

В контексте настоящего изобретения термин "газ-вытеснитель" означает сжатый газ, который используют для обеспечения движения жидкости или порошка. В частности, они просто являются жидкостями (или газами), которые могут легко испаряться. Холодные газы-вытеснители можно использовать для заполнения дозирующих систем под давлением, таких как спрей-аэрозоли, для проталкивания материала через сопло. В баллонах со спреем-аэрозолем газ-вытеснитель обычно представляет собой сжатый газ в равновесии с его жидкостью или порошком (при его давлении насыщенного пара). Поскольку некоторая часть газа выходит, чтобы вытеснить полезное вещество, больше жидкости испаряется, поддерживая равномерное давление. Подходящий газ-вытеснитель, пригодный в контексте настоящего изобретения, можно выбрать из списка, включающего сжиженный газ, более конкретно один или более углеводородов, таких как метан, этан, пропан, изобутан, бутан, н-бутан, пентан и н-пентан; или постоянно сжатый и/или растворимый газ, такой как азот, диоксид углерода, сжатый воздух или газообразный оксид одновалентного азота. Другие сжиженные газы, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, представляют собой DME (диметиловый эфир) и HFC (гидрофторуглероды), такие как 1,1,1,2-тетрафторэтан и 1,1-дифторэтан.

В еще одном варианте осуществления спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может дополнительно содержать средство против осаждения и/или против агломерации.

В контексте настоящего изобретения термин "средство против осаждения" означает вещества, которые предотвращают выпадение в осадок частиц в суспензии из жидкости, в которой они находятся, и осаждение их на барьере, таком как дно баллона с аэрозолем. Хорошее средство против осаждения будет иметь свойства, обеспечивающие образование пористой, объемной и легко ресуспендируемой суспензии, необходимой для равномерного дозирования. В контексте настоящего изобретения термин "средство против агломерации" означает вещества, которые предотвращают спекание или агломерацию компонентов. Подходящие средства против осаждения и/или против агломерации в контексте настоящего изобретения можно выбрать из списка, включающего неорганические полимеры, такие как гели на основе органических глинистых минералов, содержащие бентонит или гекторит; и/или виды пирогенного диоксида кремния, такие как Aergosil®. Aergosil® могут быть химически модифицированы для получения лучшей 3D структурной сети в выбранном силоксановом носителе. Aergosil обычно представляют собой гидрофильные виды пирогенного диоксида кремния (SiO_2). Более подходящими для настоящего изобретения являются виды гидрофобного диоксида кремния, обычно виды диоксида кремния, обработанные гидрофобными веществами, такими как, без ограничения диметилдихлорсилан, полидиметилсилоксан, органосилан, гексадецилсилан, октаметилциклотетрасилоксан, метакрилсилан, силиконовое масло, аминосилан и их производные.

В другом конкретном варианте осуществления спрей-аэрозоль по настоящему изобретению может содержать любые дополнительные вещества, которые могут быть пригодны в контексте настоящего изобретения. Такие дополнительные вещества включают без ограничения одно или более из смягчающих средств, увлажняющих средств, антиоксидантов, увлажнителей, суспендирующих средств, эмульгаторов, модификаторов вязкости, средств для изменения полярности, ароматизирующих веществ, электролитов, средств для изменения цвета и других вспомогательных веществ. Подходящими антиоксидантами могут являться без ограничения ВНТ, ВНА, пропилгаллат, аскорбиновая кислота и метабисульфит натрия. Подходящими модификаторами вязкости могут быть без ограничения различные коллоиды, силиконо-

вые смолы, пропиленгликоль, органогели, Aerosil и т.д.

Подходящий дополнительный компонент в спреях-аэрозолях по настоящему изобретению, например, представляет собой Tegosoft®, т.е. бутиловый эфир полипропиленгликоля или бутиловый эфир ppg-14. Tegosoft® представляет собой легкое косметическое масло с очень хорошими способностями в отношении растекания, которое часто используют в качестве смягчающего средства в продуктах для ухода за кожей, таких как крема, лосьоны, масла для ванн и т.д. Он также имеет превосходные суспендирующие свойства для активных ингредиентов в составах аэрозолей. Ингредиенты на основе бутилового эфира PPG в косметических составах улучшают внешний вид сухой или поврежденной кожи путем снижения шелушения и восстановления упругости.

Если в контексте настоящего изобретения указаны значения процентного содержания, они подразумевают процентное содержание в вес./вес. относительно всей композиции. Например, 80% газа-вытеснителя означает, что присутствует 80 г газа-вытеснителя при общем весе композиции 100 г.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 10% газа-вытеснителя, 10-40% силоксанов, 10-40% молочнокислых бактерий, 0-5% средств против осаждения и/или против агломерации и 0-5% других добавок.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 50% газа-вытеснителя, 1-20% силоксанов, 1-20% молочнокислых бактерий, 0,1-5% средств против осаждения и/или против агломерации и 0-5% других добавок.

Предпочтительно спрей-аэрозоли по настоящему изобретению содержат 1-20% молочнокислых бактерий; более предпочтительно 1-10%; еще более предпочтительно приблизительно 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1% молочнокислых бактерий.

Кроме того, спрей-аэрозоли по настоящему изобретению предпочтительно содержат небольшое количество средств против осаждения, как, например, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2%, менее 1% или даже не содержат средства против осаждения и/или против агломерации, если возможно.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 75% газа-вытеснителя, 5-10% силоксанов, 1-10% молочнокислых бактерий и 0-5% средств против осаждения и/или против агломерации.

В другом конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 80% газа-вытеснителя, 1-8% силоксанов, 1-8% молочнокислых бактерий и 0-4% средств против осаждения и/или против агломерации.

В другом конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 90% газа-вытеснителя, 1-4% силоксанов, 1-4% молочнокислых бактерий и 0-2% средств против осаждения и/или против агломерации.

В конкретном варианте осуществления композиций, определенных выше в данном документе, средство против осаждения и/или против агломерации выбрано из геля Bentone и Aerosil®.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 75% газа-вытеснителя, 5-10% циклометикона, 1-10% молочнокислых бактерий и 0-5% геля Bentone. В качестве альтернативы настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, состав которого содержит или состоит по меньшей мере из 75% газа-вытеснителя, 5-10% циклометикона, 1-10% молочнокислых бактерий и 0-5% Aerosil.

Очевидно, что в составе на основе покоящихся форм бактерий вредных продуктов, таких как консерванты и активирующие вещества, такие как вода, предпочтительно избегают, чтобы обеспечить длительное хранение композиции. Таким образом, в конкретном варианте осуществления спрей-аэрозоль согласно настоящему изобретению практически не содержит воды и консервантов. Термин "практически не содержит" означает менее 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2%, предпочтительно менее 1%. Если используют спрей-аэрозоль с несколькими камерами, при этом камера, содержащая бактерии, предпочтительно практически не содержит воды и консервантов.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение обеспечивает применение спрея-аэрозоля согласно настоящему изобретению для применения указанного одого или более живых видов бактерий по отношению к поверхности или окружающей среде. В контексте настоящего изобретения термин "поверхность" следует понимать в его самом широком смысле, т.е. он может включать поверхности объекта, однако он может также включать кожу людей или животных. Таким образом, спрей-аэрозоли по настоящему изобретению могут также быть спреями-аэрозолями для местного применения, причем термин "местный" означает местную доставку в определенное место на теле, в частности применение по отношению к конкретному месту на или в теле. В частности, он включает применение по отношению к слизистым оболочкам посредством аэрозолей.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает спрей-аэрозоль, определенный в данном документе, для применения в восстановлении и/или поддержании здоровой микробиоты кожи. Таким образом, настоящее изобретение также обеспечивает применение спрея-аэрозоля

согласно настоящему изобретению для восстановления и/или поддержания здоровой микробиоты кожи.

Примеры

Введение к примерам.

Эпидермофитию стоп и другие микозы кожи в настоящее время лечат противогрибковыми средствами, такими как миконазол, которые препятствуют синтезу эргостерина. Хорошо известный коммерческий продукт, содержащий миконазол, представляет собой спрей Daktarin®, предпочтительный из-за простоты его использования. Известно, что как для антибиотиков, так и для противогрибковых средств присутствует тенденция к развитию устойчивости к их действию. Таким образом, альтернативные способы лечения, такие как использование пробиотиков для местных заболеваний, будут полезны для пациентов. Большинство пробиотиков оказывают полезное влияние на хозяина (человека) путем предупреждения инвазии и колонизации патогенов. Некоторые пробиотики, такие как виды *Lactobacillus*, могут бороться с этими патогенами путем выделения органических кислот, пероксида водорода и антимикробных пептидов в окружающую среду. Обычные грибковые инфекции кожи, такие как дермофития стоп, вызваны различными видами, такими как *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum* и *Candida*. В данном исследовании изучали, является ли аэрозоль (в емкости под давлением) подходящим составом для консервации и длительной стабильности пробиотиков.

Как уже было доказано, пробиотики обладают намного лучшей длительной стабильностью при правильном высушивании в отличие от невысушенных бактерий (Morgan et al., 2006 - Preservation of micro-organisms by drying; a review - Journal of microbiological Methods 66 (2006) 183-193). Процесс высушивания приводит пробиотики в метаболически неактивное состояние (т.е. покоя). Активность оставшейся воды (A_w) в порошке, а также условия хранения (температура, кислород, свет) будут главным образом определять стабильность порошка.

Пример 1. Стабильность пробиотических бактерий в силиконах.

В этом примере авторы настоящего изобретения исследовали длительную стабильность жизнеспособных пробиотических бактерий в различных смесях силиконов/силоксанов.

Материал и способы.

Исследование стабильности.

В данном исследовании стабильности применяли три штамма:

самостоятельно культивируемый *L. Pentosus* (т.е. Lac 4 или Lp);

самостоятельно культивируемый LGG (т.е. Lac 7 или LGG);

приобретенный лиофилизированный LGG (Dupont® LR-32).

Две различные среды для суспензии на основе силикона для консервации бактерий тестировали при комнатной температуре ($\pm 20^\circ\text{C}$).

Силиконы.

Косметическая жидкость 1406-ОН (диметиконол и диметикон) - Chemsil®.

Косметическая жидкость 6570-DM (дисилоксан, циклопентасилоксан и диметикон) - Chemsil®.

Образцы получали в предварительно заданные моменты времени:

T0 = перед суспендированием в среде для суспензии,

T1 = 1 день после суспендирования,

T2 = 1 неделя после суспендирования,

T3 = 2 недели после суспендирования,

T4 = 1 месяц после суспендирования,

T5 = 2 месяца после суспендирования,

T6 = 6 месяцев после суспендирования,

T7 = 12 месяцев после суспендирования.

Все применяемые материалы стерилизовали перед применением посредством автоклавирования.

Все применяемые компоненты, ингредиенты и т.д. автоклавировали по возможности, и в ином случае фильтровали в стерильных условиях перед суспендированием бактерий.

Определение КОЕ в момент T0.

Lac 4 и Lac 7 культивировали в жидкой среде MRS (Мана, Рогозы и Шарпа, Carl Roth) (37°C) до завершения роста. Среду центрифугировали в течение 10 мин при 2780 G. Супернатант удаляли и осадок бактерий применяли далее.

100 мг взвешивали и разбавляли физиологическим раствором (0,85% NaCl) с получением общего объема, составляющего 10 мл. Из трех штаммов (Lac 4, Lac 7 и LGG) получали серии разбавлений (10-кратные серийные разбавления) и чашечный подсчет проводили согласно методу равномерного посева на чашке (полученному из методов 2.6.12 и 2.6.13 фармакопей). (Европейская фармакопея 8.0). Измерения проводили в трех повторностях. Результаты представлены как КОЕ/грамм порошка.

Суспендирование бактерий в среде для суспензии.

С полученными бактериальными массами получали гомогенное разбавление 1/10 (мас./мас.%) с различными безводными средами для суспензии на основе силикона. 1 г указанной суспензии взвешивали в пробирке Falcon и герметизировали в алюминиевом пакете ($RH = 20\%$). При этом каждый образец

содержал 100 мг бактерий для дальнейшего тестирования. Алюминиевые пакеты открывали через определенные интервалы времени для тестирования жизнеспособности.

Тестирование после истечения времени хранения.

Герметичные пакеты открывали в определенные моменты времени для тестирования стабильности. Пробирку Falcon, содержащую 1 г безводного вещества, дополнительно обрабатывали путем добавления 1 г смеси эмульгаторов (состоящей из полисорбата 80 и сорбитансесквиолеата) и 8 г физиологического раствора. Полученное образовывало эмульсию, с помощью которой бактерии могли вступать в контакт с водой и повторно активироваться. Дальнейшее получение образца и чашечный подсчет проводили, как описано выше и как представлено в методе 2.6.12 фармакопеи (8.0): микробиологическое исследование нестерильных продуктов: тесты подсчета микробов и 2.6.13: микробиологическое исследование нестерильных продуктов: тест для определенных микроорганизмов.

Результаты и обсуждение.

Стабильность лиофилизированного порошка была значительно более высокой, как и предполагалось, по сравнению со стабильностью нелиофилизированных штаммов. Спустя всего 1 месяц и независимо от типа используемой смеси силиконов (фиг. 1: CF1406; фиг. 2: CF6570) было в среднем зафиксировано 3-кратное логарифмическое снижение, тогда как отсутствовало обнаруживаемое значительное снижение для лиофилизированного штамма (фиг. 1 и 2). При этом доказано, что важно начинать составление с надлежащим образом лиофилизированным (или высушенным с помощью другого метода высушивания) порошком, чтобы обеспечить стабильный состав на основе жизнеспособных микроорганизмов с течением времени. Со стабильным высушенным порошком пробиотика легче обращаться для дальнейших целей составления.

Результаты в отношении стабильности для смесей силиконов (фиг. 1 и 2) показывают, что они являются подходящими в качестве суспендирующей среды. Хотя было зафиксировано в среднем 1-кратное логарифмическое снижение для стабильности через 1 год для безводной силиконовой среды, оно оставляет достаточно жизнеспособных микроорганизмов для местного нанесения и оказывает благоприятный эффект на кожу.

При этом доказано, что работая с надлежащим образом лиофилизированным порошком, суспендированным в безводной силиконовой среде, можно получать суспензию со стабильными пробиотиками.

Пример 2. Стабильность пробиотических бактерий в составе аэрозоля, находящегося под давлением.

В этом примере авторы настоящего изобретения исследовали длительную стабильность жизнеспособных пробиотических бактерий, составленных в композицию аэрозоля, находящуюся под давлением.

Материал и способы.

Леофилизированный штамм *L. Plantarum* (ТНТ®-лиофилизированный с мальтодекстрином) просеивали с получением фракции порошка с размером частиц <50 мкм, для облегчения прохождения через клапан и сопло и для предотвращения блокирования. Бактерии суспендировали в Mirasil CM5® (декамтициклопентасилоксане), летучем циклометиконе и/или Tegosoft PBE® (пропоксильированном спирте - бутиловый эфир ррг-14), все выступали в качестве суспендирующей среды. Представляющий собой органоглину компонент, гель Bentone vs5 PC V® (циклопентасилоксан, дистеардимония гекторит и пропиленкарбонат), использовали в качестве средства против осаждения и против агломерации.

Всего получали 8 составов (концентратов) с различными концентрациями (см. табл. 3) перед заполнением газа-вытеснителя в емкости с аэрозолем.

Таблица 3

Составы различных составов
Концентратом заполняли емкости (20%), после чего добавляли 80% газа-вытеснителя, получая 5-кратное разбавление концентрата

Образец	Ингредиенты	% в концентрате	% в емкости	Образец	Ингредиенты	% в концентрате	% в емкости
1	<i>L. Plantarum</i>	5	1	5	<i>L. Plantarum</i>	5	1
	Гель Bentone	5	1		Гель Bentone	0	0
	Mirasil	90	18		Mirasil	95	19
	Tegosoft	0	0		Tegosoft	0	0
2	<i>L. Plantarum</i>	5	1	6	<i>L. Plantarum</i>	5	1
	Гель Bentone	25	5		Гель Bentone	5	1
	Mirasil	70	14		Mirasil	90	18
	Tegosoft	0	0		Tegosoft	0	0
3	<i>L. Plantarum</i>	25	5	7	<i>L. Plantarum</i>	5	1
	Гель Bentone	5	1		Гель Bentone	0	0
	Mirasil	70	14		Mirasil	47,5	9,5
	Tegosoft	0	0		Tegosoft	47,5	9,5
4	<i>L. Plantarum</i>	20	4	8	<i>L. Plantarum</i>	5	1
	Гель Bentone	20	4		Гель Bentone	0	0
	Mirasil	60	12		Mirasil	0	0
	Tegosoft	0	0		Tegosoft	95	19

* Ситовую фракцию <30 мкм использовали для образца 6, в отличие от всех остальных образцов состава, которые имели фракцию порошка <50 мкм.

Емкости оценивали в отношении жизнеспособности бактерий, а также в отношении характеристик распыления и свойств относительно образования остатка и осаждения суспендированного порошка. Слишком сильное осаждение может приводить к спеканию и, следовательно, к неспособности высвободить продукт или может приводить к частым блокировкам сопла. Емкости заполнены на 20% составом и на 80% газом-вытеснителем. Используемый газ-вытеснитель представляет собой смесь LPG (пропан/бутан/изобутан - 29/69/2) и бутана (55/45). Под давлением ($\pm 2-4$ бар) он существует как сжиженный газ-вытеснитель.

Эталонные фракции (1 г) различных составов сохраняли в герметичных алюминиевых пакетах при комнатной температуре ($T = 20^{\circ}\text{C}$) для определения КОЕ. КОЕ, полученные для емкостей с аэрозолем, которые также хранили при комнатной температуре (20°C), сравнивали с эталонами для оценки эффекта заполнения и хранения. Определение бактериальной нагрузки для порошка проводили непосредственно перед получением состава и заполнением в емкости, что обеспечивало $5, 9,0 \text{ E}+11$ КОЕ/г порошка бактерий в качестве исходной концентрации. Дальнейший отбор образцов происходил через 1, 2, 3, 4, 6 и 12 месяцев хранения. Результаты рассчитывали как КОЕ/г порошка бактерий.

Определение КОЕ для составов проводили путем добавления 1 г смеси эмульгаторов (70% tween 80/30% span 83) и 8 г физиологического раствора, встряхивали до растворения и последующим 10-кратным серийным разбавлением. Посев на чашках Петри проводили согласно методу "Копакабана" (равномерный посев со стеклянными шариками) с последующим подсчетом КОЕ через 3 дня инкубации при 37°C . Все используемые материалы и жидкости были стерилизованы посредством автоклавирования.

Определение КОЕ для емкостей с аэрозолем проводили путем распыления 5 г из емкости и выдерживания (± 1 ч) пока весь газ-вытеснитель не испарится. Затем 1 г состава оставался в приемнике. Дальнейшее получение образцов проводили, как описано выше.

Все образцы тестировали в 3 биологических повторностях (3 образца) и 3 технических повторностях (чашечный подсчет) перед расчетом среднего и отклонения с помощью следующей формулы:

$$\frac{\text{КОЕ}}{\text{г}} \text{ порошка} = \left(\frac{\text{КОЕ} \times \text{фактор разведения}}{\text{г (мл) на чашке}} \right) \times \left(\frac{\text{г порошка в образце} + \text{г среды разведения}}{\text{г порошка}} \right)$$

Дополнительный набор емкостей с каждым составом выдерживали закрытыми при 20°C , опорожняли (после встряхивания) через 6 месяцев и их оценивали в отношении характеристик распыления и образования остатка в емкости после опорожнения.

Результаты и обсуждение.

Кривые выживаемости *L. Plantarum* в заполненных емкостях показали в среднем 1-кратное логарифмическое снижение стабильности при хранении в течение 1 месяца (фиг. 3). Это указывает на небольшое ухудшение жизнеспособности непосредственно после или в течение заполнения емкостей. Существует несколько вероятных объяснений этого явления. Газ-вытеснитель поддерживают под его парциальным давлением (± 4 бар) перед заполнением. При слегка повышенном давлении жидкость заполняют в емкость, где она смешивается с составом по настоящему изобретению, таким образом присутствующие бактерии испытывают резкое изменение давления. Другое объяснение может состоять в том, что при использовании емкости путем открытия клапана сопла образование аэрозоля совмещается с высокими усилиями сдвига для выпуска порошка бактерий из емкости. Последнее объяснение может состоять в том, что эндотермическая реакция вместе с испарением газа-вытеснителя вызывает внезапное падение температуры оставшегося состава. Все три стресса (резкое изменение давления, усилия сдвига и резкое изменение температуры) подробно описаны в литературе как вредные для бактерий, влияя на жизнеспособность.

С другой стороны, в интервале времени от 1 до 4 месяцев после заполнения жизнеспособность в заполненных емкостях остается практически постоянной, с максимальным 0,5-1-кратным логарифмическим снижением жизнеспособности. В интервале времени относительно стабильности от 4 до 6 месяцев жизнеспособность снижается логарифмически в пару раз для некоторых составов. Снижение жизнеспособности от начала до конца хранения (6 месяцев) составляло 1-кратное логарифмическое снижение для емкости F3, 2-кратное логарифмическое снижение для емкостей F4 и F5, 3-кратное логарифмическое снижение для емкостей F8, F1 и F7 и 5-кратное логарифмическое снижение для емкостей F6 и F2. Эти данные показывают, что стабильность через 4 месяца может быть гарантирована для всех составов под давлением, и что в зависимости от необходимого времени сохранения стабильности, подходящий состав можно выбирать для обеспечения стабильности в течение периода 6 месяцев и больше. Из этих результатов понятно (фиг. 4), что включение составов в емкости с углеводородным газом-вытеснителем под давлением имеет положительное влияние на жизнеспособность *L. Plantarum* в составе. Это показывает стабилизацию состава после неизбежного исходного снижения жизнеспособности в течение первого месяца хранения. Гипотеза состоит в том, что смесь углеводородных газов-вытеснителей создает среду без воды и кислорода, поддерживая выживаемость лиофилизированных видов *lactobacillus*. В некоторых исследованиях в литературе описана улучшенная выживаемость бактерий *lactobacillus* при хранении в атмосфере инертных газов, таких как азот и диоксид углерода, или при хранении в вакууме. Однако еще не было опубликованных отчетов по выживаемости в углеводородных газах/жидкостях в среде на основе силоксанов.

Жизнеспособность *L. Plantarum* после хранения была самой высокой в составе 3 (25% пробиотиков), кроме того, состав 4 (20% пробиотиков) также показал хорошую жизнеспособность. Очевидно, составы с высокой концентрацией бактерий (F3, F4) имеют хорошую стабильность, даже с поправкой на исходный процент загрузки. Это может быть связано с эффектом взаимного экранирования от суровых условий внешней среды. При оценке влияния геля Bentone в емкостях под давлением (F5 относительно F1 и F2, при повышающихся концентрациях 0-5-25%) была показана небольшая разница логарифмического снижения между F5 (2,2[1,9-2,9]LOG) и F1 (2,8[2,6-3,1]log) и большая разница с F2 (5,5[5,3-5,9]log). Таким образом, можно сделать вывод, предпочтительно, чтобы составы не содержали средств против осаждения, таких как гель Bentone, или содержали только небольшое количество их.

Жизнеспособность в F1 (50 мкм) значительно (2-log) выше, чем F6 (30 мкм), указывая, что меньший размер частиц хуже для выживаемости. Меньший размер частиц приводит к большей площади поверхности, таким образом, больше отрицательного влияния от среды (состава) может вредить бактериям. Таким образом, составы по настоящему изобретению предпочтительно характеризуются размером частиц более 30 мкм.

Добавление пропоксилированного бутилового эфира ppg-14 (маслянистого, летучего средства для ухода за кожей и смягчающего средства), такого как Tegosoft® (F7 и F8), не имело отрицательного влияния на стабильность в заполненных емкостях (фиг. 3). Таким образом, можно сделать вывод, что такие компоненты можно добавлять без отрицательного влияния, но, например, для улучшения состава аэрозоля и содействия полному опорожнению аэрозоля.

На фиг. 4 показано сравнение различных составов как таковых или под давлением в заполненных емкостях. Эти данные явно показывают, что создание давления в составах значительно повышает жизнеспособность бактерий для всех составов в течение периода 6 месяцев.

В этом эксперименте было доказано, что состав на основе лиофилизированных бактерий, суспендированных в летучих силиконах, поддерживаемый под давлением с помощью углеводородного газа-вытеснителя, является подходящей системой доставки для длительного консервирования пробиотиков при комнатной температуре. После выпуска струи из емкости летучие компоненты (газ-вытеснитель и силиконы) испарятся, оставляя лиофилизированные бактерии на коже или поверхности, на которые их распыляли. В этом месте нанесения состав будет контактировать с кожей и окружающей средой. Гигроскопичный порошок бактерий будет поглощать воду из окружающей среды, и бактерии станут метаболически активными, способными выполнять свою полезную функцию.

Пример 3. Стабильность пробиотических бактерий в различных силиконах и смесях силиконов.

Целью этого примера было получение базы для скрининга, в которой оценивали влияние различных силиконов и смесей силиконов на жизнеспособность лиофилизированных *L. Plantarum*. Сравнения проводили для циклических относительно линейных молекул силиконов. Также длину цепи (число молекул силоксана ~ вязкость) сравнивали, поскольку более мелкие молекулы могут проникать в клетки больше, мешая метаболическим процессам, когда они снова становятся активными. Наконец, оценивали гипотезу о том, что смесь силиконов может компенсировать отрицательные эффекты различных отдельных силиконов, если отрицательные эффекты не накапливаются. Эти подробные сравнительные исследования стабильности позволят авторам настоящего изобретения составлять более стабильный состав аэрозоля, содержащий лиофилизированные виды *Lactobacillus*, суспендированные в силиконовых маслах, для местного применения.

Для этого эксперимента лиофилизированный порошок *L. Plantarum* суспендировали 1/25 (мас./мас.%) в различных силиконах или смесях силиконов (см. табл. 4), обычно используемых в антиперспирантах.

Таблица 4

Различные составы на основе силиконов, в которых суспендированы лиофилизированные *L. Plantarum* 1/25 (мас./мас.%)

Состав	Ингредиенты суспендирующей среды
1.	Диметикон, 1 сСт
2.	Диметикон, 5 сСт
3.	Mirasil® cm-5 (декаметилциклопентасилоксан)
4.	Dow corning® 345 (циклопентасилоксан, циклогексасилоксан 70/30, 6 сСт)
5.	Гексаметилдисилоксан (0,65 сСт)
6.	CF 6570-DM (дисилоксан, циклопентасилоксан и

	диметикон, 300 сСт)
7.	Диметикон, 5 сСт – Mirasil® Cm-5 (50/50)
8.	Диметикон, 5 сП - DC 345 (50/50)
9.	Диметикон, 5 сП - гексаметилдисилоксан (50/50)
10.	DC® 345 - гексаметилдисилоксан (50/50)
11.	Диметикон, 5 сСт - DC 345 - бутиловый эфир PPG-14 (40/40/20)
12.	Диметикон, 5 сСт - DC 345 – гексаметилдисилоксан (40/40/20)
13.	Диметикон, 1 сСт - диметикон, 5 сСт – Mirasil® cm5 – DC® 345 – гексаметилдисилоксан, бутиловый эфир 14-ppg (все в количестве 16,7%)

Силикон CF 6570 с высокой вязкостью использовали как эталонный силикон, поскольку эта смесь ранее использовалась для исследования стабильности в примере 1. Различные фракции в 1 г взвешивали в пробирках Falcon и хранили в многослойных алюминиевых пакетиках (Daklapack®-PET/ALU/NY/LDPE) для защиты от света, кислорода и относительной влажности и хранили при комнатной температуре (20°C). Определение в момент T0 порошка проводили до получения суспензий, и оно обеспечивало $(5,85 \pm 0,71)$ E+11 КОЕ/г. Дополнительный отбор образцов проводили через 1 неделю, 2 недели, 1, 3 и 6 месяцев. При отборе образцов 3 пробирки Falcon одного и того же образца отбирали и проводили подсчет чашечным методом в трех повторностях, как описано в 2.1. Холостые пробы (эталонные) хранили в виде 100 мг порошка (несуспендированного).

Результаты и обсуждение.

Из фиг. 5 ясно, что для всех составов высокая стабильность ($10^9 \log$ КОЕ/г) композиций достигалась в течение 3 месяцев хранения, с некоторыми оценками, несколько лучшими, чем другие, как, например, для эталонного порошка F11 и в меньшей степени F10. Различия были слишком незначительными, чтобы сделать твердый вывод относительно влияния циклических по сравнению с линейными силиконами и в зависимости от длины цепи силоксанов; что может указывать на то, что эти аспекты не очень существенны для силоксана, который пригоден в настоящем изобретении.

Компоненты, представляющие собой силиконы, в отдельности показаны на левой стороне фиг. 5, а более сложные смеси (3-5 компонентов) показаны с правой стороны. В общем, смеси силиконов на правой стороне на фиг. 5 показали лучшую выживаемость по сравнению с отдельными силиконами слева, указывая, что смесь различных компонентов (частично) компенсирует некоторый отрицательный эффект, наблюдаемый для отдельных компонентов, представляющих собой силиконы.

Tegosoft® (бутиловый эфир ppg-14) представляет собой биоразлагаемый и умеренно летучий н-бутиловый эфир пропиленгликоля, обычно присутствующий в антиперспирантах. У него нет отрицательного влияния на стабильность лиофилизированных бактерий в емкостях с аэрозолем под давлением по сравнению с циклопентасилоксаном (фиг. 3-4). Похоже, что он даже может иметь защитное влияние на выживаемость лиофилизированных бактерий при смешивании с другими силиконами (фиг. 5 - F11 и F13). Это в дополнение к его хорошим характеристикам в отношении суспендирования и распыления и низкому образованию остатка в емкости показывает, что добавление эфиров пропиленгликоля может быть ценным дополнительным ингредиентом при составлении аэрозоля на основе пробиотиков.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Спрей-аэрозоль, содержащий 1-20 вес.% одного или более жизнеспособных штаммов молочнокислых бактерий, один или более летучих силоксанов и углеводородный газ-вытеснитель под давлением.
2. Спрей-аэрозоль по п.1, где указанные один или более жизнеспособных штаммов молочнокислых бактерий относятся к покоящимся формам молочнокислых бактерий.
3. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1, 2, где указанные один или более летучих силоксанов выбраны из списка, включающего линейные силоксаны, такие как диметиконы, диметиконолы, фенилтриметиконы и их производные; или циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные; более конкретно циклические силоксаны, такие как циклометиконы и их производные.
4. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-3, где указанные штаммы бактерий и указанные летучие силоксаны образуют смесь в форме порошка, суспензии, эмульсии или раствора.
5. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-4, где указанный углеводородный газ-вытеснитель под давлением представляет собой сжиженный газообразный газ-вытеснитель, более конкретно один или более углеводородов, таких как метан, этан, пропан, изобутан, бутан, н-бутан, пентан и н-пентан.
6. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-5, где указанный спрей дополнительно содержит средство против осаждения и/или против агломерации.
7. Спрей-аэрозоль по п.6, где указанное средство против осаждения и/или против агломерации выбрано из списка, состоящего из неорганических полимеров, таких как гели на основе органоглин, содержащие бентонит или гекторит; и/или виды пирогенного диоксида кремния, такие как Aerosil.

8. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-7, где указанный спрей дополнительно содержит одно или более из смягчающих средств, суспендирующих средств, увлажняющих средств, антиоксидантов, увлажнителей, эмульгаторов, модификаторов вязкости, ароматизирующих веществ или других вспомогательных веществ.

9. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-8, где его состав включает по меньшей мере 50 вес.% углеводородного газа-вытеснителя, 1-20 вес.% силоксанов, 1-20 вес.% молочнокислых бактерий, 0,1-5 вес.% средств против осаждения и/или против агломерации и 0-5 вес.% других вспомогательных веществ, перечисленных в п.8.

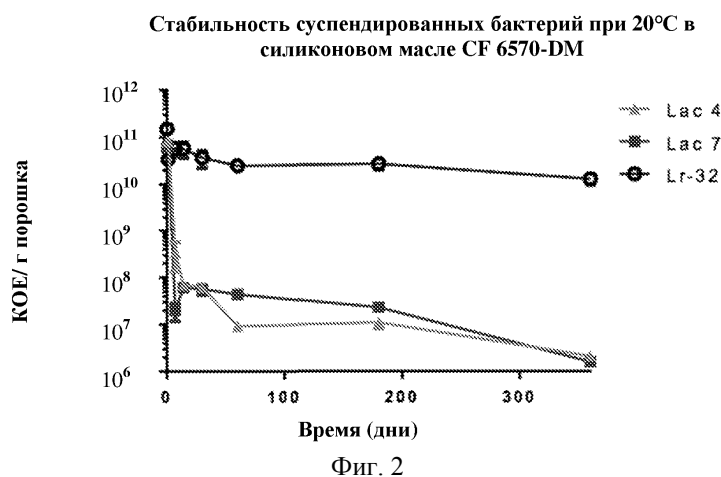
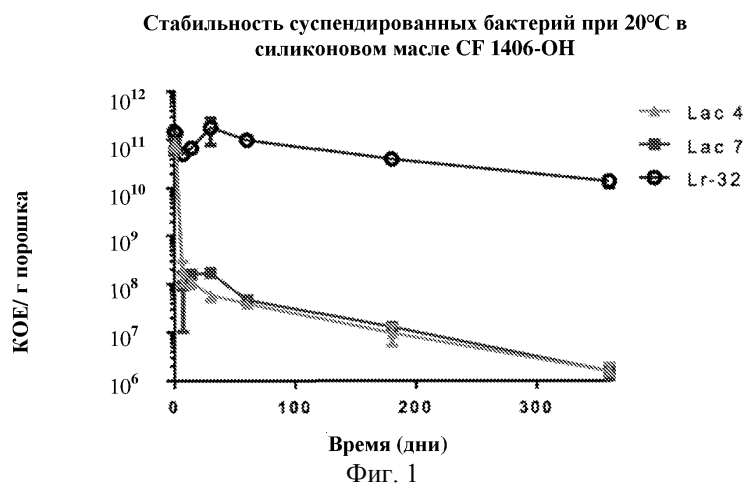
10. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-9, где его состав включает по меньшей мере 75 вес.% углеводородного газа-вытеснителя, 5-10 вес.% циклометикона, 1-10 вес.% молочнокислых бактерий и 0,1-5 вес.% геля Bentone.

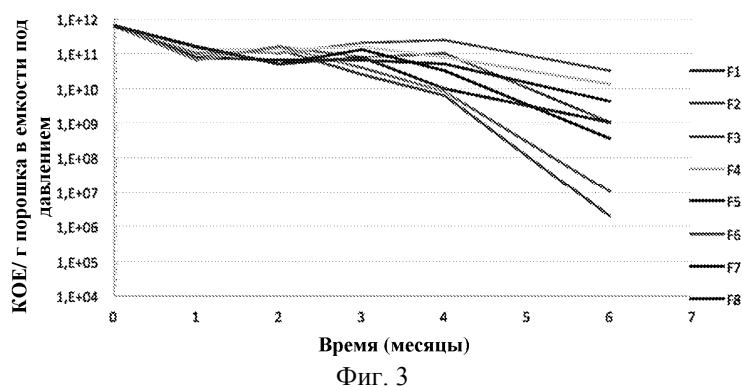
11. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-10, где его состав включает по меньшей мере 75 вес.% углеводородного газа-вытеснителя, 5-10 вес.% циклометикона, 1-10 вес.% молочнокислых бактерий и 0,1-5 вес.% Aerosil.

12. Спрей-аэрозоль по любому из пп.1-11, где указанный спрей практически не содержит воды и консервантов.

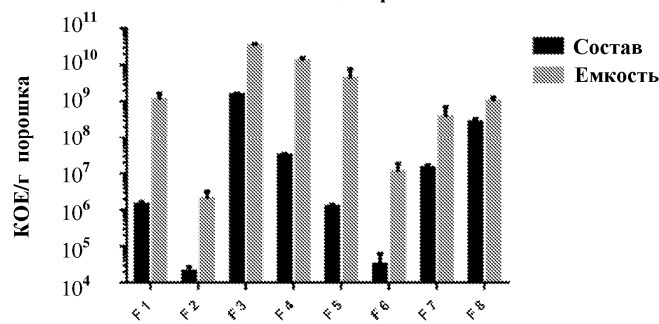
13. Применение спрея-аэрозоля по любому из пп.1-12 для применения указанных одного или более жизнеспособных штаммов молочнокислых бактерий по отношению к поверхности или окружающей среде.

14. Применение спрея-аэрозоля по любому из пп.1-12 для восстановления и/или поддержания здоровой микробиоты кожи.





Стабильность различных составов относительно емкости под давлением в течение 6 месяцев при 20°C



Жизнеспособность Лас 15 после суспендирования в течение 3 месяцев

