



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0049956

(51)^{2021.01} A61K 8/49; A61P 17/10; A61P 31/02; (13) B
A61Q 5/12; A61Q 19/10; A61Q 5/00;
A61Q 5/02; A61K 8/9789; A61Q 17/00

(21) 1-2022-04452

(22) 14/01/2021

(86) PCT/EP2021/050616 14/01/2021

(87) WO2021/144326 A1 22/07/2021

(30) PCT/CN2020/072838 17/01/2020 CN; 20157944.8 18/02/2020 EP

(45) 25/08/2025 449

(43) 26/12/2022 417A

(73) Unilever Global IP Limited (GB)
Merseyside CH62 4ZD

(72) CHU Chung-Ching (CN); PU Mingming (CN); WANG Zongxiu (CN).

(74) Công ty TNHH Trần Hữu Nam và Đồng sự (TRAN H.N & ASS.)

(54) CHẾ PHẨM BÔI NGOÀI DA CHỨA AXIT HYDROXAMIC,
ATRACTYLENOLID VÀ PHƯƠNG PHÁP PHI TRỊ LIỆU

(21) 1-2022-04452

(57) Sáng chế bộc lộ chế phẩm bôi ngoài da bao gồm: (i) hoạt chất kháng khuẩn, trong đó có ít nhất một trong số các axit hydroxamic hoặc dẫn xuất của axit hydroxamic; và (ii) hợp chất atractylenolit; trong đó tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất atractylenolit nói trên với chất hoạt chất kháng khuẩn nói trên ít nhất là 5:1. Sáng chế cũng bộc lộ phương pháp phi trị liệu để mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật, bao gồm bước dùng với một lượng an toàn và có hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn bôi ngoài da.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này đề cập đến chế phẩm kháng khuẩn bôi tại chỗ/cục bộ ngoài da, nhất là chế phẩm mỹ phẩm và cụ thể hơn nữa là chế phẩm mỹ phẩm chứa các hoạt chất có tương tác mang lại hiệu quả hiệp đồng kháng khuẩn, và ít nhất là hữu ích trong việc kháng một số vi khuẩn có liên quan đến tình trạng thâm mỹ như gàu và mụn trứng cá.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng khuẩn hữu ích để làm sạch và/hoặc chăm sóc bất kỳ bộ phận nào trên cơ thể nhưng đặc biệt thích hợp cho việc chăm sóc tóc và da đầu, vệ sinh tay hoặc chăm sóc và làm sạch da mặt.

Gàu là một vấn đề ảnh hưởng đến nhiều người trên thế giới. Tình trạng này được biểu hiện bằng việc da đầu bị bong tróc từng mảng tế bào chết. Chúng có màu trắng và dễ nhìn thấy do đó chúng làm cho ngoại hình khó ưa về mặt thẩm mỹ. Một nhân tố gây ra gàu là do một số chủng của loài nấm men *Malassezia*. Để xử lý chúng, hiện sẵn có nhiều chế phẩm trị gàu như dầu gội. Thông thường những loại dầu gội này có chứa chất hoạt động bề mặt và một hoặc nhiều chất chống gàu. Các chất chống gàu điển hình là pyrithion kim loại, ví dụ, pyrithion kẽm (ZPTO), octopirox (pirocton olamin), chất kháng khuẩn azole (ví dụ: cliozol), selen sulfít và các tổ hợp của chúng.

Mặc dù vấn đề về gàu đã được giảm đáng kể nhờ việc sử dụng các hoạt chất nêu trên trong các loại dầu gội đầu đó, nhưng vẫn cần các chế phẩm có hiệu quả hơn nữa.

Trứng cá, còn được gọi là mụn trứng cá, là tình trạng phổ biến xảy ra trên da làm ảnh hưởng đến gần như tất cả thanh thiếu niên và người trưởng thành. Tình trạng này có căn nguyên phức tạp, liên quan đến quá trình sừng hóa bất thường và việc tạo ra bã nhờn quá mức. Mụn trứng cá thường xuất hiện ở những vùng có nhiều tuyến bã nhờn như trên mặt, cổ và lưng. Loài vi khuẩn *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*, trước đây còn được gọi là *Propionibacterium acnes* hoặc *P. acnes*) cũng có liên quan đến sự xuất hiện của mụn trứng cá. Mụn trứng cá đã được xử lý bằng nhiều cách. Hầu hết các phương pháp xử lý đều mất vài tuần đến hàng tháng trước khi có sự thay đổi đáng kể. Benzoyl peroxid có tác dụng kháng khuẩn đã được sử dụng cho các trường hợp bị mụn trứng cá nhẹ và cũng được cho là có tác dụng ngăn ngừa việc hình thành thêm mụn mới. Trong những trường hợp bị mụn trứng cá rất nặng thì sử dụng thuốc kháng sinh như tetracyclin, erythromycin và clindamycin.

XP055720751 (Mingchen Cosmetics) bộc lộ loại dầu gội chăm sóc hạng sang chứa pirocton olamin và dịch chiết rễ cây *Atractylodes lancea*. Tuy nhiên, lại không bộc lộ tỷ lệ trọng lượng giữa thành phần pirocton olamin và dịch chiết rễ cây *Atractylodes lancea*.

CN 110693751A (Zhou Le) bộc lộ loại kem làm đẹp có chứa (i) axit capryl hydroxamic và (ii) bột của rễ cây *Atractylodes* và chất chiết xuất từ cây *Atractylodes chinensis* hoặc *Atractylodes lancea*. Tuy nhiên, cũng không tiết lộ tỷ lệ trọng lượng giữa thành phần axit capryl hydroxami, bột rễ cây và chất chiết xuất từ cây *Atractylodes chinensis* hoặc *Atractylodes lancea*.

CN 110787069A (Luo Xianyi) bộc lộ chất đắp mặt nạ có chứa (i) chất chiết xuất từ cây *Atractylodes macrocephalae* và (ii) axit capryloyl hoặc octanoyl hydroxamic. Tuy nhiên, cũng không bộc lộ tỷ lệ trọng lượng giữa (i) và (ii).

CN 109700733A (Zhangjiajie Chakunyuan Biotechnology Dev Co Ltd) bộc lộ chất đắp mặt nạ dưỡng da có chứa (i) chiết xuất từ cây

Atractylodes macrocephalae (như một thành phần của chất chiết xuất từ hạt cây *Ecommia*) và (ii) axit capryl/octyl/octanoyl hydroxamic. Tuy nhiên, cũng không bộc lộ tỷ lệ trọng lượng giữa (i) và (ii).

Do đó, mục đích của sáng chế này là đề xuất chế phẩm bôi ngoài da, thể hiện hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng nếu so với từng thành phần riêng biệt.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế này đã xác định được rằng khi hợp chất nhất định thường có trong thực vật tự nhiên được pha chế cùng với chất có hoạt tính kháng khuẩn điển hình, là axit hydroxamic hoặc dẫn xuất của axit hydroxamic, thì sự kết hợp đó mang lại hiệu quả cao trong việc kháng một số vi khuẩn có liên quan đến các tình trạng nhất định như bị gàu và mụn trứng cá. Điều đó cho phép các tác giả sáng chế này suy luận rằng các chế phẩm bao gồm tổ hợp nói trên có thể có hoạt tính chống gàu, mụn trứng cá và kháng khuẩn nói chung, và có thể thích hợp để sử dụng trong, ví dụ như dầu gội đầu, chế phẩm chăm sóc cơ thể và da mặt. Hợp chất cụ thể được đề cập ở đây là chất *atractylenolit*.

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế này, bộc lộ chế phẩm bôi ngoài da, gồm có:

(i) hoạt chất kháng khuẩn, trong đó có ít nhất một trong các axit hydroxamic hoặc dẫn xuất của axit hydroxamic; và

(ii) hợp chất *atractylenolit*; trong đó tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất *atractylenolit* nói trên với hoạt chất kháng khuẩn nói trên ít nhất là 5:1.

Theo khía cạnh thứ hai của sáng chế này, bộc lộ chế phẩm bôi ngoài da theo khía cạnh thứ nhất để mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật.

Theo khía cạnh thứ ba của sáng chế này, bộc lộ phương pháp phi tri liệu để mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của

cơ thể người hoặc động vật, bao gồm bước dùng một lượng an toàn và có hiệu quả chế phẩm kháng khuẩn bôi ngoài da theo khía cạnh thứ nhất.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các chế phẩm theo sáng chế này bao gồm chất mang, chất chuyên chở hoặc chất pha loãng được chấp nhận dùng để bôi ngoài da, và chúng có thể có nhiều dạng khác nhau. Chất mang được chấp nhận bôi ngoài da tốt nhất là không bị gây kích ứng. Do đó, "có thể chấp nhận dùng để bôi ngoài da" có nghĩa là chất mang phù hợp để bôi ngoài da mà không gây ra bất kỳ mối lo ngại không đáng có nào về độc tính hoặc độ an toàn. Nói cách khác, những chất mang này thích hợp để sử dụng trên da động vật có vú. Chất mang điển hình có thể ở dạng hệ thống rượu-hydro (ví dụ: chất lỏng và gel), hệ thống có gốc dầu khan hoặc silicon hay hệ thống nhũ tương, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong đó là ở các dạng nhũ tương dầu trong nước, nước trong dầu, nước trong dầu trong nước, và dầu trong nước trong nhũ tương silicon. Các nhũ tương có thể có nhiều loại, bao gồm kem dưỡng lớp mỏng (cũng có thể thích hợp là loại dùng ở dạng xịt hoặc phun sương), kem dưỡng da, kem loại nhạt và kem loại đậm. Nhũ tương cũng có thể bao gồm các hệ thống vi nhũ tương. Các chất mang dùng để bôi ngoài da thích hợp khác bao gồm các chất rắn khan và các chất bán rắn khan (như dạng gel và dạng thanh); và hệ thống bột tạo kiểu dạng nước. Các ví dụ không giới hạn về hệ thống chất mang bôi ngoài da hữu ích theo sáng chế này được mô tả dưới đây.

Khía cạnh này và những khía cạnh khác, các tính năng và ưu điểm sẽ trở nên rõ ràng đối với những người có kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật này khi đọc bản mô tả kỹ thuật này đi kèm các yêu cầu bảo hộ được đưa ra. Để tránh hiểu nhầm, bất kỳ dấu hiệu nào của một khía cạnh thuộc sáng chế này có thể được sử dụng trong bất kỳ khía cạnh nào khác của sáng chế này. Từ "bao gồm" ở đây có nghĩa là "bao hàm" nhưng không nhất thiết là "tạo thành từ" hoặc "cấu thành từ". Nói cách khác, các bước hoặc tùy chọn được liệt kê

không cần phải là đủ hết. Cần lưu ý rằng các ví dụ được đưa ra trong mô tả dưới đây nhằm làm rõ sáng chế và không nhằm mục đích giới hạn sáng chế vào các ví dụ đó. Tương tự, tất cả các tỷ lệ phần trăm là tỷ lệ trọng lượng trừ khi có chỉ dẫn khác đi.

Ngoại trừ trong các ví dụ vận hành và so sánh, hoặc trong trường hợp được chỉ dẫn khác đi một cách rõ ràng, tất cả các số liệu trong bản mô tả này là để chỉ lượng chất liệu hoặc các điều kiện phản ứng, tính chất vật lý của chất liệu và/hoặc việc sử dụng phải được hiểu là đã được điều chỉnh bởi từ “khoảng”. Phạm vi số liệu được biểu thị theo dạng “từ x đến y” được hiểu là bao gồm x và y. Đối với một dấu hiệu cụ thể, khi nhiều phạm vi được ưu tiên được mô tả theo dạng “từ x đến y”, phải hiểu rằng tất cả các phạm vi kết hợp các điểm cuối khác nhau cũng phải được tính đến. Các dấu hiệu khác nhau của sáng chế đã được đề cập trong các phần riêng lẻ ở trên vẫn phù hợp áp dụng cho các phần khác với những sửa đổi phù hợp. Do đó, các dấu hiệu được xác định trong phần này có thể được kết hợp với các dấu hiệu được quy định trong phần khác khi thích hợp. Bất kỳ tiêu đề phần nào được thêm vào là chỉ để làm thuận tiện và không nhằm hạn chế sự bộc lộ này dưới bất kỳ hình thức nào.

Chế phẩm bôi ngoài da có nghĩa là chế phẩm được dùng để bôi, thoa bên ngoài, dưới dạng chế phẩm được để lưu lại hoặc được rửa sạch đi, nhằm làm sạch hoặc khử trùng cho các vùng được bôi, thoa bên ngoài, ví dụ trên da và/hoặc tóc và/hoặc khoang miệng của động vật có vú, nhất là con người. Chế phẩm như vậy bao gồm bất kỳ sản phẩm nào được dùng cho cơ thể con người cũng còn làm cải thiện ngoại hình, làm sạch, kiểm soát mùi hoặc cho thẩm mỹ chung. Theo một khía cạnh của sáng chế này, các chế phẩm phù hợp là loại chế phẩm được rửa sạch đi sau khi dùng. Theo cách khác, đó là chế phẩm để lưu lại khi dùng. Các chế phẩm theo sáng chế này có thể ở dạng chất lỏng, nước thơm, kem, chất bột hoặc gel, hoặc nước cân bằng da, hoặc được dùng bằng dụng cụ hay thông qua mặt nạ, miếng đệm hoặc miếng dán.

"Da" như được sử dụng ở đây có nghĩa là bao gồm da trên mặt và trên cơ thể (ví dụ da trên cổ, ngực, lưng, cánh tay, nách, bàn tay, chân, mông và da đầu). Chế phẩm theo sáng chế cũng liên quan đến việc dùng chúng trên bất kỳ chất nền nào khác của cơ thể người ngoài da, ví dụ như tóc.

"Chế phẩm kháng khuẩn" như được sử dụng ở đây, có nghĩa là bao gồm các chế phẩm bôi ngoài da, lên trên da, tóc và/hoặc da đầu của động vật có vú, nhất là con người. Chế phẩm như vậy thường được dùng để bôi, thoa lên bề mặt mong muốn trên cơ thể trong khoảng thời gian vài giây đến tối đa 24 giờ. Khi khoảng thời gian dùng ngắn, tức là trong khoảng từ vài giây đến vài phút, và sau đó chế phẩm được rửa sạch đi bằng nước hoặc được lau đi, thì loại chế phẩm đó được gọi là loại chế phẩm làm sạch hoặc chế phẩm được rửa sạch đi khi dùng. Khi chế phẩm được sử dụng trong khoảng thời gian dài hơn, ví dụ từ vài phút đến tối đa 24 giờ và thường được rửa sạch đi trong quá trình làm vệ sinh cá nhân thông thường, thì loại chế phẩm như vậy được gọi là chế phẩm được để lưu lại. Tốt hơn là, chúng được dùng để ngăn ngừa hoặc giảm bớt các triệu chứng của gàu trên da đầu và/hoặc tóc, mang lại lợi ích trị trứng cá, hay khử trùng trên tay hoặc các bộ phận khác của cơ thể con người.

"Chế phẩm chăm sóc tóc" như được sử dụng ở đây, có nghĩa là bao gồm các chế phẩm bôi ngoài da, lên trên tóc. Các ví dụ không giới hạn về các chế phẩm đó bao gồm kem dưỡng tóc loại được để lưu lại, kem dưỡng, dầu gội đầu khô loại được rửa sạch đi, dầu xả dưỡng, gel tắm, hoặc thanh vệ sinh. Khi chế phẩm của sáng chế là chế phẩm chăm sóc tóc, thì tốt hơn là chế phẩm được dùng để gội đầu, đặc biệt là loại dầu gội hoặc dầu xả.

Sáng chế này đề cập đến chế phẩm bôi ngoài da, gồm có:

(i) hoạt chất kháng khuẩn, trong đó có ít nhất một trong các axit hydroxamic hoặc dẫn xuất của axit hydroxamic; và

(ii) hợp chất atractylenolit; trong đó tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất atractylenolit nói trên với hoạt chất kháng khuẩn nói trên ít nhất là 5:1.

Axit hydroxamic và dẫn xuất của axit hydroxamic

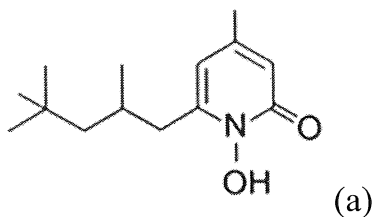
Axit hydroxamic là nhóm hợp chất hữu cơ có nhóm chức $RC(O)N(OH)R'$, với R và R' là các gốc hữu cơ và CO là nhóm cacbonyl.

Dẫn xuất axit hydroxamic theo sáng chế này là đề cập đến nhóm hợp chất hữu cơ có nhóm chức $RC(O)N(O)R'$, với R và R' là các gốc hữu cơ. Tốt hơn là, dẫn xuất axit hydroxamic là muối của axit hydroxamic. Tốt hơn nữa là, dẫn xuất axit hydraxamic là muối olamin của axit hydroxamic.

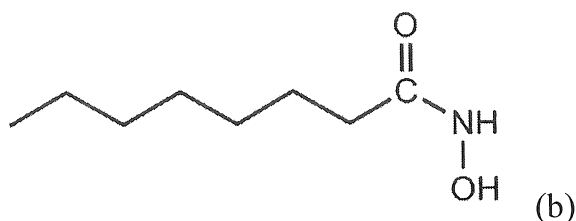
Hoạt chất kháng khuẩn theo sáng chế này, trong đó có ít nhất một trong các axit hydroxamic hoặc dẫn xuất của axit hydroxamic. Axit hydroxamic được ưu tiên là pirocton, axit caprylhydroxamic, hoặc axit benzohydroxamic, tốt hơn nữa là axit caprylhydroxamic. Dẫn xuất của axit hydroxamic được ưu tiên là pirocton olamin.

Do đó, hoạt chất kháng khuẩn theo sáng chế này được ưu tiên có ít nhất một trong số các chất pirocton, axit caprylhydroxamic, axit benzohydroxamic hoặc pirocton olamin. Hoạt chất kháng khuẩn theo sáng chế này được ưu tiên hơn có ít nhất một trong số các chất axit caprylhydroxamic hoặc pirocton olamin. Hoạt chất kháng khuẩn được ưu tiên nhất là pirocton olamin.

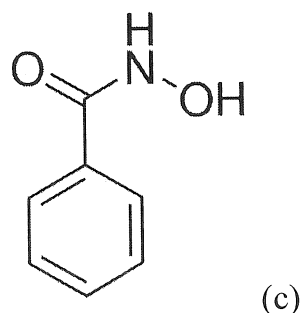
Pirocton là axit hydroxamic mạch vòng bao gồm 1-hydroxypyridin-2- các nhóm thế một mang methyl và 2,4,4-trimethylpentyl lần lượt ở các vị trí 4 và 6. Số CAS là 50650-76-5 và hợp chất có công thức chung (a) như sau:



Axit caprylhydroxamic là một axit amin có nguồn gốc từ dầu dừa. Nó là chất bảo quản và chất chống nấm phổ rộng. Số CAS là 7377-03-9 và hợp chất có công thức chung (b) như sau:

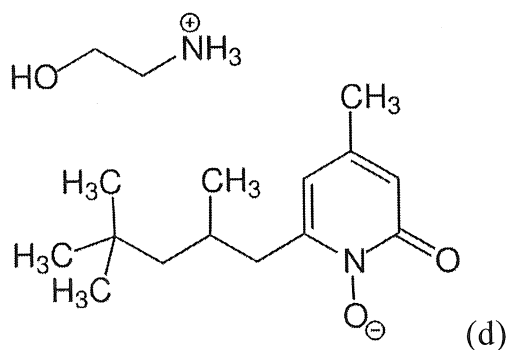


Axit benzohydroxamic là một trong những axit hydroxamic. Số CAS là 495-18-1 và hợp chất có công thức chung (c) như sau:



Pirocton olamin là muối olamin của pirocton được dẫn xuất từ axit hydroxamic, hoạt chất kháng khuẩn điển hình. Chúng thường được biết đến là pirocton etanolamin với tên thương mại là Octopirox®.

Pirocton olamin theo sáng chế này là hợp chất có tỉ lệ 1:1 giữa 1-hydroxy-4-metyl-6-(2,4,4-trimethylpentyl)-2(1*H*)-pyridinon và 2-aminoetanol, và cũng được mong muốn là muối 1-hydroxy-4-metyl-6-(2,4,4-trimethylpentyl)-2(1*H*) pyridinon monoetanolamin. Số CAS là 68890-66-4 và hợp chất có công thức chung (d) như sau:



Lượng hoạt chất kháng khuẩn trong chế phẩm theo sáng chế này mà chúng có ít nhất một trong số các axit hydroxamic hoặc chất dẫn xuất axit hydroxamic sẽ ở mức tùy thuộc vào loại chế phẩm bôi ngoài da và bản chất

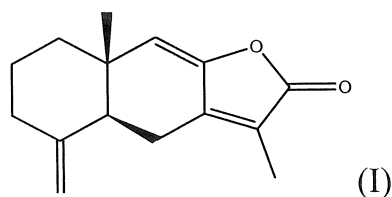
chính xác của các hoạt chất kháng khuẩn khác được sử dụng. Chế phẩm được ưu tiên chứa hoạt chất kháng khuẩn nói trên với lượng từ 0,01% đến 10% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,1% đến 5% trọng lượng, và tốt hơn nữa vẫn là từ 0,5% đến 3% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chế phẩm.

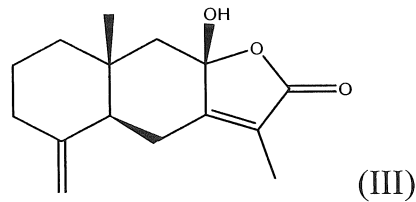
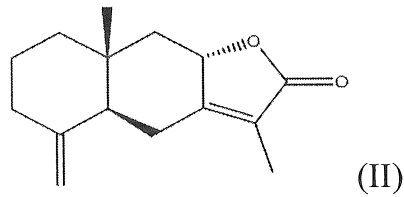
Hợp chất atractylenolit

Chế phẩm theo sáng chế này bao gồm hợp chất atractylenolit. Hợp chất atractylenolit là một sesquiterpenoit lacton loại eudesmane có thể được thấy trong các *Atractylot* bao gồm atractylenolit I, atractylenolit II, atractylenolit III, atractylenolit IV và 4(R),15-epoxy-8 β -hydroxyatractylenolit II. Cụm từ "hợp chất atractylenolit" được sử dụng để chỉ sự tham gia của một trong các hợp chất khác thuộc nhóm hợp chất tổng quát có công thức cấu tạo cơ bản là sesquiterpenoit lacton loại eudesmane có thể được thấy trong cây *atractylodes*. Các hợp chất atractylenolit như vậy cũng có thể được thấy trong thực vật - *Sarcandra glabra* hoặc *Chloranthus serratus*.

Hợp chất atractylenolit được ưu tiên có trong các chế phẩm theo sáng chế này với lượng từ 0,01% đến 10% trọng lượng. Tốt hơn nữa là, với lượng từ 0,01% đến 5% tính theo trọng lượng, và tốt nhất là từ 0,1% đến 2%. Khi có hai hoặc nhiều hợp chất atractylenolit trong những chế phẩm theo sáng chế này, thì tổng lượng của chúng như đã được mô tả ở trên.

Hợp chất atractylenolit được ưu tiên theo sáng chế này có ít nhất một trong số các chất atractylenolit I (CAS 73069-13-3), atractylenolit II (CAS 73069-14-4) hoặc atractylenolit III (CAS 73030-71-4). Hợp chất atractylenolit I, II và III có công thức tổng quát tương ứng (I, II và III) như sau:





Hợp chất atractylenolit được ưu tiên theo sáng chế này có ít nhất một trong số các chất atractylenolit I hoặc atractylenolit II. Ngoài ra, và tốt hơn nữa là chế phẩm gồm có atractylenolit I và atractylenolit II. Chế phẩm được ưu tiên chứa từ 0,01% đến 10% trọng lượng là atractylenolit I hoặc từ 0,01% đến 10% trọng lượng là atractylenolit II nói trên, trong điều kiện khi chế phẩm này bao gồm cả atractylenolit I và atractylenolit II, thì trọng lượng kết hợp của chúng là từ 0,01% đến 10% trọng lượng.

Tốt hơn là chế phẩm của sáng chế này bao gồm các chất chiết xuất từ *Atractylodes spp*, cách khác nữa đó là chất chiết xuất từ *Sarcandra glabra* hoặc *Chloranthus serratus*, và lần lượt bao gồm hợp chất atractylenolit nói trên. Lượng chất chiết xuất được đo là lựa chọn sao cho có lượng hợp chất atractylenolit cần thiết trong đó để đưa vào chế phẩm.

Nói chung, *Atractylodes* là một chi trong họ thực vật *Asteraceae*. Chất chiết xuất *Atractylodes* có thể thu được từ các loài trong chi *Atractylodes*. Vô số các ví dụ về những loài này bao gồm *Atractylodes amurensis*, *Atractylodes lancea*, *Atractylodes carlinoides*, *Atractylodes macrocephala*, *Atractylodes japonica*, *Atractylodes koreana*, *Atractylodes ovata*, *Atractylodes chinensis*.

Các chất chiết xuất từ chi thực vật *Atractylodes* chứa hợp chất atractylenolit, hiện có trên thị trường từ nhiều nguồn khác nhau. Ví dụ, chất

chiết xuất từ rễ của cây Bạch Truật (*Atractylodes macrocephala*) bao gồm cả atractylenolit I và atractylenolit II, hiện có tại Hàng Châu Liaoyuan. Atractylenolit I và atractylenolit II một cách riêng biệt hiện có tại MCE. Ngoài ra, một người có kỹ năng bình thường trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ có thể chiết xuất *Atractylodes* từ rễ *Atractylodes* bằng cách sử dụng bất kỳ phương pháp phân lập và tinh chế thích hợp nào đã được biết đến trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, chất chiết xuất từ *Atractylodes* có thể thu được từ rễ cây *Atractylodes* đã khô và có thể được điều chế bằng bất kỳ phương pháp nào đã biết hoặc đang được phát triển trong lĩnh vực.

Khi chế phẩm bao gồm pirocton olamin và hợp chất atractylenolit thì cần duy trì một tỷ lệ trọng lượng nhất định giữa các thành phần để đạt được hiệu quả. Tỷ lệ trọng lượng giữa lượng hợp chất atractylenolit nói trên với hoạt chất kháng khuẩn nói trên ít nhất là 5:1. Tốt hơn là, tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất atractylenolit nói trên với hoạt chất kháng khuẩn nói trên là từ 5:1 đến 1280:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 100:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 50:1, thậm chí tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 40:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 20:1, và tốt nhất là từ 5:1 đến 10:1.

Tổng nồng độ ức chế phân đoạn (Σ FIC) đã được sử dụng rộng rãi trong bối cảnh có các tổ hợp giữa những thành phần kháng khuẩn. Đó là công cụ để xác định xem liệu các thành phần kháng khuẩn (khi được sử dụng kết hợp) có tạo ra hiệu quả hiệp đồng, đối kháng, hoặc không phải cả hai cái trên, tức là có tác dụng phụ. Các tác giả sáng chế này đã sử dụng thử nghiệm Σ FIC để đánh giá hiệu quả tổ hợp của các hoạt chất kháng khuẩn với atractylenolit I hoặc atractylenolit II đối với *M. furfur*.

Các tác giả sáng chế tin rằng, mặc dù hoạt chất kháng khuẩn và hợp chất atractylenolit có trong các chế phẩm theo sáng chế này, thì hợp chất atractylenolit có tương tác hiệp đồng với hoạt chất kháng khuẩn để làm cho nó thậm chí còn có hiệu quả cao hơn nữa.

Chế phẩm bôi ngoài da được ưu tiên theo sáng chế này bao gồm pirocton olamin và atractylenolit I. Trong trường hợp này, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit I và pirocton olamin ít nhất là 5:1. Trong trường hợp này, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit I và pirocton olamin được ưu tiên là từ 5:1 đến 1280:1, theo cách khác là từ 5:1 đến 100:1, theo cách khác nữa là từ 5:1 đến 50:1, theo cách khác nữa là từ 5:1 đến 40:1 và tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 10:1.

Theo cách khác, chế phẩm bao gồm pirocton olamin và atractylenolit II. Trong trường hợp này, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit II và pirocton olamin ít nhất là 5:1. Trong trường hợp được ưu tiên là tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolide II và pirocton olamin là 5:1 đến 2560:1, tốt hơn nữa là 5:1 đến 100:1, tốt hơn nữa là 5:1 đến 80:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 50:1, và tốt nhất là từ 5:1 đến 10:1.

Chế phẩm bôi ngoài da được ưu tiên theo sáng chế này bao gồm axit caprylhydroxamic và atractylenolit I. Trong trường hợp này, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit I và axit caprylhydroxamic ít nhất là 5:1. Tốt hơn là, trong trường hợp đó, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit I và axit caprylhydroxamic là từ 5:1 đến 1280:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 100:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 50:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 40:1, và tốt nhất là từ 5:1 đến 10:1.

Theo cách khác, chế phẩm này bao gồm axit caprylhydroxamic và atractylenolit II. Trong trường hợp này, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit II và axit caprylhydroxamic ít nhất là 5:1. Tốt hơn là, trong trường hợp đó, tỷ lệ trọng lượng giữa atractylenolit II và axit caprylhydroxamic là 5:1 đến 2560:1; tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 100:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 80:1, tốt hơn nữa là từ 5:1 đến 50:1, và tốt nhất là từ 5:1 đến 10:1.

Các thành phần khác

Tốt hơn là, chế phẩm theo sáng chế nào bao gồm chất mang được chấp nhận về mặt mỹ phẩm. Chất mang được chấp nhận về mặt mỹ phẩm là loại

có thể được điều chế thành chế phẩm, ví dụ như dầu gội đầu, dầu xả, sữa tắm, sản phẩm rửa tay hoặc rửa mặt, kem, chất chống khô da, gel, bột, thuốc mỡ, nước rửa tay hoặc xà phòng và các thành phần sẽ khác nhau một cách tương ứng.

Theo một khía cạnh, chế phẩm bôi ngoài da theo sáng chế này là chế phẩm chăm sóc tóc. Tốt hơn là, chế phẩm đó là loại dầu gội, dầu dưỡng tóc, kem dưỡng tóc hoặc dầu xả dưỡng tóc. Tốt hơn nữa là, chế phẩm bôi ngoài da này là loại chế phẩm trị gàu ít nhất có hiệu quả kháng một số loài thuộc chủng *Malassezia spp.*

Khi chế phẩm theo sáng chế này là dầu gội, tốt hơn nữa là nó có các thành phần khác thường được bao gồm trong các loại chế phẩm đó.

Tốt hơn là, dầu gội chứa chất hoạt động bề mặt với lượng từ 1% đến 20% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 2% đến 16% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 3% đến 16% trọng lượng, ví dụ như alkyl sulfat và/hoặc chất hoạt động bề mặt alkyl sulfat được etoxyl hóa. Các alkyl sulfat được ưu tiên là alkyl sulfat có từ 8 đến 18 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là alkyl sulfat có từ 12 đến 18 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là ở dạng muối với cation hòa tan như natri, kali, amoni hoặc amoni được thay thế.

Tốt hơn là, các sulfat alkyl ete là những chất có công thức: $RO(CH_2CH_2O)_nSO_3M$; trong đó R là alkyl hoặc alkenyl có từ 8 đến 18 nguyên tử cacbon (tốt nhất là có từ 12 đến 18 nguyên tử cacbon); n có giá trị trung bình lớn hơn ít nhất 0,5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, tốt hơn nữa là từ 2 đến 3; và M là cation hòa tan như natri, kali, amoni hoặc amoni được thay thế. Ví dụ là natri lauryl ete sulfat (SLES). SLES có nồng độ etoxyl hóa trung bình từ 0,5 đến 3, tốt hơn là từ 1 đến 3.

Chế phẩm dầu gội đầu theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt làm sạch anion khác được chấp nhận về mặt mỹ phẩm và thích hợp để bôi, thoa lên tóc. Ví dụ bao gồm alkaryl sulfonat, alkyl succinat, alkyl sulfosuccinat, alkyl ete sulfosuccinat, N-alkyl sacocinat, alkyl phosphat,

alkyl ete phosphat, và axit alkyl etercacboxylic và muối của chúng, đặc biệt là các muối natri, magie, amoni và mono-, di- và trietanolamin. Các nhóm alkyl và acyl thường có chứa từ 8 đến 18 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là từ 10 đến 16 nguyên tử cacbon, và có thể không bão hòa. Các alkyl ete sulphosucinat, phosphat alkyl ete và axit cacboxylic alkyl ete và muối của chúng có thể chứa từ 1 đến 20 đơn vị etylen oxit hoặc propylen oxit trên mỗi phân tử.

Thông thường, các chất hoạt động bề mặt anion thích hợp bao gồm natri oleyl sucinat, amoni lauryl sulfosucinat, natri lauryl ete sulfosucinat, natri dodecylbenzen sulfonat, triethanolamin dodecylbenzen sulfonat, axit lauryl ete carboxylic và natri N-lauryl sucocinat. Tốt hơn là, các chất hoạt động bề mặt làm sạch anion bổ sung thích hợp là natri lauryl ete sulfosucinat (n) EO, (trong đó n có giá trị từ 1 đến 3), axit lauryl ete cacboxylic (n) EO (trong đó n có giá trị từ 10 đến 20).

Hỗn hợp của bất kỳ chất hoạt động bề mặt làm sạch anion nào nêu trên cũng có thể phù hợp.

Tốt hơn là, chế phẩm dầu gội đầu theo sáng chế này bao gồm chất hoạt động bề mặt lưỡng tính với lượng từ 0,1% đến 10% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,5% đến 8% trọng lượng, tốt hơn là chất hoạt động bề mặt betain như chất hoạt động bề mặt alkyl amidopropyl betain, ví dụ như cocoamidopropyl betain.

Độ pH của chế phẩm tốt hơn là bằng hoặc lớn hơn 4,0, tốt hơn nữa là trong khoảng từ 5,0 đến 10,0.

Chế phẩm dầu gội được ưu tiên chứa hợp chất kẽm với lượng từ 0,1% đến 3% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,1% đến 1,5% trọng lượng. Sự tham gia của kẽm trong chế phẩm được cho là có thể cải thiện hiệu quả trị gàu. Các hợp chất kẽm thích hợp là ZPTO, kẽm oxit, kẽm xitrat, kẽm malonat, kẽm cacbonat hoặc các tổ hợp của chúng.

Tốt hơn là, chế phẩm dầu gội bao gồm chất diệt nấm conazol với lượng 0,01% đến 2% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,025% đến 0,75% trọng lượng. Tốt hơn là, chất diệt nấm conazol là ketoconazol hoặc leoazol hoặc hỗn hợp của chúng. Sự tham gia của chất diệt nấm conazol được cho là có thể cải thiện sự lắng đọng của pyrithion kẽm (ZPTO).

Tốt hơn là, chế phẩm dầu gội còn chứa chất tạo huyền phù. Các chất tạo huyền phù thích hợp là axit polyacrylic, polyme liên kết chéo của axit acrylic, copolyme của axit acrylic với một monome kỵ nước, copolyme của monome chứa axit cacboxylic và este acrylic, copolyme liên kết chéo của axit acrylic và este acrylat, gồm heteropolysacarit và các dẫn xuất acyl mạch dài. Dẫn xuất acyl mạch dài được chọn từ etylen glycol stearat, các alkannolamit của axit béo có từ 16 đến 22 nguyên tử cacbon và hỗn hợp của chúng. Etylen glycol distearat và polyetylen glycol distearat là những dẫn xuất acyl mạch dài được ưu tiên, vì những chất này mang lại cho chế phẩm có độ sáng bóng. Axit polyacrylic hiện có trên thị trường như Carbopol® 420, Carbopol® 488 hoặc Carbopol® 493. Các polyme của axit acrylic liên kết chéo với một chất đa chức năng cũng có thể được sử dụng; chúng hiện có trên thị trường với tên gọi Carbopol® 910, Carbopol® 934, Carbopol® 941 và Carbopol® 980. Ví dụ về copolyme thích hợp của axit cacboxylic có chứa monome và este axit acrylic là Carbopol® 1342. Tất cả các chất liệu Carbopol (tên thương hiệu) đều hiện có tại Goodrich.

Các polyme liên kết chéo thích hợp của axit acrylic và este acrylat là Pemulen® TR1 và Pemulen® TR2. Gồm hereropolysacarit phù hợp là gồm xanthan, ví dụ có sẵn dưới tên Kelzan.

Có thể sử dụng hỗn hợp của bất kỳ các chất tạo huyền phù nào ở trên. Hỗn hợp polyme liên kết chéo của axit acrylic và chất dẫn xuất acyl mạch dài dạng tinh thể được ưu tiên.

Chất tạo huyền phù, nếu được bao gồm, thường với lượng từ 0,1% đến 10% trọng lượng, tốt hơn là từ 0,5% đến 6% trọng lượng.

Chế phẩm theo sáng chế này có thể chứa các thành phần khác để nâng cao hiệu năng và/hoặc khả năng chấp nhận của người tiêu dùng. Các thành phần như vậy bao gồm chất tạo hương thơm, thuốc nhuộm và chất màu, chất điều chỉnh độ pH, chất tạo ánh ngọc trai hoặc chất làm mờ, chất điều chỉnh độ nhớt, chất bảo quản và các chất dinh dưỡng tóc tự nhiên như các chất từ thực vật, chất chiết xuất trái cây, chất dẫn xuất từ đường và các axit amin.

Chế phẩm dầu gội cơ bản là nước. Tốt hơn là chứa nước với lượng từ 70% đến 95% trọng lượng.

Dầu xả dưỡng

Theo cách khác, chế phẩm bôi ngoài da theo sáng chế này là chế phẩm xả dưỡng.

Khi lợi ích xả dưỡng được mang lại thông qua chế phẩm theo sáng chế này thì chế phẩm đó được gọi là chế phẩm xả dưỡng. Thông thường, các chất xả dưỡng phổ biến nhất được sử dụng trong các chế phẩm chăm sóc tóc là các chất dầu không tan trong nước như dầu khoáng, dầu tự nhiên như triglycerit và silicon polyme. Lợi ích xả dưỡng đạt được là do chất nhờn lắng đọng lại trên tóc, dẫn đến hình thành lớp màng, giúp cho tóc dễ chải hơn khi ướt và dễ quản lý hơn khi khô. Chất xả dưỡng đặc biệt hữu ích là silicon, tốt hơn nữa là silicon không bị bay hơi. Các chế phẩm có lợi thế ở đây là loại có thể có bao gồm một hoặc nhiều silicon. Các silicon là chất xả dưỡng được thấy ở dạng hạt phân tán hoặc lơ lửng. Chúng có mục đích để lắng đọng lại trên tóc sau khi đã xả sạch tóc bằng nước. Các loại dầu silicon phù hợp có thể bao gồm polyalkyl siloxan, polyaryl siloxan, polyalkylaryl siloxan, copolyme của polyete siloxan và các hỗn hợp của chúng. Các silicon amin thường được pha chế trong các chế phẩm dầu gội đầu. Các silicon amin là các silicon có chứa ít nhất một nhóm amin bậc một, amin bậc hai, amin bậc ba hoặc một nhóm amoni bậc bốn. Gôm silicon có trọng lượng phân tử cao cũng có thể được sử dụng. Một loại hữu ích khác nữa là các chất silicon có

liên kết chéo đàn hồi như Dimethicone/Vinyl/Dimethicone Crosspolyme (ví dụ như Dow Corning 9040 và 9041).

Tốt hơn là, chế phẩm xả, dưỡng tóc theo sáng chế này có bao gồm silicon với lượng từ 0,1% đến 10% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ khoảng 0,1% đến 8% trọng lượng. Theo cách khác, chế phẩm xả dưỡng tóc không có silicon, tức là chứa silicon với lượng không vượt quá 1% trọng lượng. Độ pH của chế phẩm là 4,0, tốt hơn nữa là từ 5,0 đến 7,0.

Tốt hơn là, chế phẩm xả dưỡng tóc theo sáng chế này cũng có thể bao gồm rượu béo với lượng từ 0,5% đến 10% trọng lượng. Việc sử dụng kết hợp rượu béo và chất hoạt động bề mặt cation trong các chế phẩm xả dưỡng được cho là có nhiều ưu điểm, bởi vì điều này dẫn đến sự hình thành pha phiến, trong đó chất hoạt động bề mặt cation được phân tán.

Rượu béo điển hình là loại có từ 8 đến 22 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là từ 16 đến 22 nguyên tử cacbon. Rượu béo thường là các hợp chất có chứa những nhóm alkyl mạch thẳng. Ví dụ về rượu béo thích hợp bao gồm rượu xetyl, rượu stearyl và hỗn hợp của chúng. Việc sử dụng các chất liệu này cũng có lợi ở chỗ chúng đóng góp vào các đặc tính xả dưỡng tổng thể của các chế phẩm theo sáng chế này.

Chất làm sạch da

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để chăm sóc da, ví dụ để tắm rửa cơ thể hoặc rửa mặt. Chế phẩm bôi ngoài da này có thể bao gồm thêm chất hoạt động bề mặt. Các chất hoạt động bề mặt được ưu tiên thuộc loại chất hoạt động bề mặt không ion.

Do đó, theo khía cạnh được ưu tiên, chế phẩm bôi ngoài da này có bao gồm chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm chất hoạt động bề mặt anion.

Tốt hơn là, khi có chất hoạt động bề mặt trong chế phẩm bôi ngoài da thì với lượng từ 1% đến 90% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chế phẩm.

Khi sử dụng chất hoạt động bề mặt thì chất hoạt động bề mặt được ưu tiên là xà phòng. Xà phòng là chất hoạt động bề mặt thích hợp cho việc dùng để tắm rửa cá nhân đối với chế phẩm bôi ngoài da theo sáng chế này.

Tốt hơn là, khi có xà phòng trong chế phẩm thì với lượng từ 1% đến 90%, tốt hơn nữa là từ 10% đến 85%, và tốt nhất là từ 25% đến 75% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chế phẩm.

Các chế phẩm được ưu tiên có thể bao gồm các thành phần đã biết khác như hương liệu, chất màu, chất bảo quản, chất làm mềm, kem chống nắng, chất nhũ hóa, chất tạo gel và chất làm đặc. Việc lựa chọn các thành phần này phụ thuộc phần lớn vào định dạng của chế phẩm.

Tốt hơn là, nước là chất mang. Khi có nước trong chế phẩm, tốt hơn là với lượng ít nhất 1%, tốt hơn nữa là ít nhất 2%, tốt hơn nữa là ít nhất 5% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chế phẩm. Khi nước là chất mang, tốt hơn là chế phẩm hệ nước chứa nước với lượng từ 10% đến 99,8% tính theo trọng lượng. Chế phẩm hệ nước để bôi ngoài da hữu ích như là loại hệ nước khử trùng da, chất làm sạch da, nhất là dùng để rửa tay hoặc rửa mặt. Khi nước là chất mang, chế phẩm dạng rắn được ưu tiên chứa nước với lượng từ 5% đến 30% tính theo trọng lượng.

Tốt hơn là, chế phẩm bôi ngoài da ở dạng rắn là được tạo hình khối rắn, tốt hơn nữa là có dạng thanh. Chế phẩm bôi ngoài da đặc biệt hữu ích khi để làm sạch da, nhất là dùng để rửa tay hoặc rửa mặt.

Theo khía cạnh khác của sáng chế này, chất liệu dạng hạt vô cơ cũng là chất mang thích hợp. Khi chất liệu dạng hạt vô cơ là chất mang thì chế phẩm bôi ngoài da là ở dạng rắn. Tốt hơn là, chất liệu dạng hạt vô cơ là khoáng vật talc. Khi chất liệu dạng hạt vô cơ là khoáng vật talc, chế phẩm kháng khuẩn ở dạng rắn là đặc biệt hữu ích như loại bột tan để bôi, thoa lên mặt hoặc trên cơ thể.

Theo một khía cạnh khác nữa, chế phẩm theo sáng chế này thích hợp dùng trong khăn lau để làm vệ sinh cá nhân.

Cách dùng và phương pháp theo sáng chế này

Theo khía cạnh thứ hai của sáng chế này, bộc lộ chế phẩm bôi ngoài da của khía cạnh thứ nhất, mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật. Cũng được bộc lộ là chế phẩm bôi ngoài da, để dùng ít nhất là kháng một số loài thuộc chủng *Malessezia spp* trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật. Tốt hơn nữa là, chế phẩm bôi ngoài da này là chế phẩm trị gàu, ít nhất là có hiệu quả kháng một số loài thuộc chủng *Malessezia spp* trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật. Theo cách khác, chế phẩm bôi ngoài da này là chế phẩm trị mụn trứng cá, ít nhất là có hiệu quả kháng *C. acnes* trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật. Theo cách khác nữa, chế phẩm bôi ngoài da này là loại chế phẩm được để lưu lại hoặc được rửa sạch đi, ít nhất là có hiệu quả kháng *S. aureus*.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế này bộc lộ phương pháp phi tri liệu, nhằm mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật, bao gồm bước dùng một lượng an toàn và có hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn bôi ngoài da theo khía cạnh thứ nhất. Thuật ngữ một lượng an toàn và có hiệu quả được những người có kỹ năng trong lĩnh vực này biết rõ và lượng như vậy có thể thay đổi tùy thuộc vào dạng sản phẩm, ví dụ, lượng nói trên trong trường hợp chế phẩm là loại được để lưu lại có thể là từ 1ml đến 2 ml cho mỗi lần dùng, trong khi lượng tương tự có thể là từ 5ml đến 10 ml cho mỗi lần dùng trong trường hợp đó là dầu gội. Phương pháp này có thể được dùng để ngăn ngừa hoặc xử lý mụn trứng cá, gàu hoặc để giữ gìn vệ sinh chung.

Tốt hơn là, chế phẩm bôi ngoài da này là chế phẩm trị gàu, ít nhất có hiệu quả kháng một số loài thuộc chủng *Malessezia spp*. Theo cách khác, chế phẩm bôi ngoài da này là chế phẩm trị mụn trứng cá, ít nhất có hiệu quả kháng *C. acnes*. Theo cách khác nữa, chế phẩm bôi ngoài da này là loại chế

phẩm được để lưu lại hoặc được rửa sạch đi, ít nhất có hiệu quả kháng *S. aureus*.

Khi hợp chất atractylenolit là loại atractylenolit I hoặc II, thì phương pháp này có hiệu quả hơn khi tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất atractylenolit và hoạt chất kháng khuẩn trên tế bào *Malassezia furfur* là nằm trong khoảng từ 5:1 đến 1280:1, thậm chí có hiệu quả hơn nữa khi trong khoảng từ 40:1 đến 100:1.

Theo một khía cạnh khác nữa, chế phẩm bôi ngoài da được bộc lộ để dùng như một chế phẩm trị gàu, ít nhất là có hiệu quả kháng một số loài thuộc chủng *Malassezia spp.* Theo một khía cạnh khác, bộc lộ chế phẩm bôi ngoài da, được dùng như một chế phẩm trị mụn trứng cá, ít nhất là có hiệu quả kháng *C. acnes*. Còn theo một khía cạnh khác nữa, bộc lộ chế phẩm thuộc loại được để lưu lại hoặc được rửa sạch đi, ít nhất là có hiệu quả kháng *S. aureus*.

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết với sự trợ giúp của các ví dụ không giới hạn sau đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Hiệu quả kháng khuẩn của chế phẩm điển hình theo sáng chế này được xác định đối với việc kháng chủng *M. furfur*.

Các thủ tục liên quan bây giờ sẽ được giải thích ngắn gọn.

Phương pháp 1: Xét nghiệm Σ FIC đối với việc kháng chủng *M. furfur*.

Bước 1: Nuôi cấy vi khuẩn và điều chế

M. furfur (CBS1878) được giữ trong đĩa thạch MD (Dung dịch A), được nuôi cấy trong 20ml môi trường nước canh Pityrosporum (PB, Dung dịch B). Sau đó, được ủ ở nhiệt độ 32 °C, trong 48 giờ và được lắc. Sau đó, lấy 1ml dịch nuôi cấy thứ nhất chuyển vào 9ml PB sạch và được ủ ở nhiệt độ 32 °C trong 48 giờ và được lắc. Môi trường nuôi cấy cuối cùng phải chứa

từ 2 đến 6×10^6 tế bào/ml. Điều này đạt được bằng cách pha loãng, có sử dụng PB để đạt đến 5×10^5 tế bào/ml.

Điều chế dung dịch A:

Dixon Agar	đã được biến đổi (MD)
36g	chất chiết xuất mạch nha (Oxoit)
6g	mycological Pepton (Oxoit)
10	agar tinh khiết (Oxoit)
20g	cây mật nhân (Oxoit)
2ml	axit oleic (Sigma)
2ml	glyxerol (Sigma)
10ml	tween 40 (Sigma)

Nước khử ion đến 1000ml

50mg (1 lọ vial) được hòa tan trong 2ml etanol cloramphenicol 95%

(Oxoit SR078E)

(Đảm bảo khuấy kỹ kể cả sau khi hấp)

Điều chế dung dịch B:

Pityrosporum Broth (PB)

10g	vi khuẩn pepton
0,1g	chiết xuất men
10g	ox-bile
2,5g	axit tarocholic
10g	glucoza
1 lít	nước khử ion
0,5 ml	tween60
1 ml	glyxerol

Điều chỉnh độ pH đến 6,2

Sau khi khử trùng

0,5 ml sữa tiệt trùng

Bước 2: Thử nghiệm sự nhạy cảm trong ống nghiệm

Octopirox® được lần lượt pha loãng (2 lần) để điều chế trong khoảng nồng độ 60-1000ppm trong môi trường tăng trưởng. Thử nghiệm hợp chất atractylenolit (nguyên liệu: 4 mg/ml) được pha loãng lần lượt 2 lần trong DMSO để điều chế trong khoảng 40000-10ppm. Các tổ hợp nhị phân của octopirox và hợp chất thử nghiệm được điều chế trong đĩa 96 giếng bằng cách trộn 10µl dung dịch octopirox với 10µl hợp chất thử nghiệm. Dung dịch trong mỗi giếng được trộn thêm với 180µl chất huyền phù *M. furfur* trong PB.

Mật độ tế bào cuối cùng trong đĩa thử nghiệm là khoảng 5×10^4 tế bào/ml. Nồng độ cuối cùng của mỗi thành phần tính bằng ppm (phần triệu) sau khi pha loãng (pha loãng 20 lần) như sau. Mỗi nồng độ này được thử để xác định giá trị FIC cho (một trong hai) Octopirox® trong tổ hợp với một trong các hợp chất atractylenolit. Môi trường nước canh và dung môi đối chứng được coi là đối chứng âm tính để so sánh kết quả.

Octopirox® - 50, 25, 12,5, 6, 3 và 0.

Atractylenolit I - 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,8, 3,9, 2,0, 1,0, 0,5 và 0.

Atractylenolit II - 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,8, 3,9, 2,0, 1,0, 0,5 và 0.

Pipet đa kênh được sử dụng để trộn hỗn hợp với chủng vi khuẩn ở dạng huyền phù. Sau đó, các đĩa 96 giếng được ủ trong lò ủ. Tuân theo các quy trình thử nghiệm đã nêu, *M. furfur* được ủ trong môi trường hiếu khí ở nhiệt độ 32 °C trong 1 ngày. Sau đó cho 20µl alamar blue (0,1%) được phân phối vào mỗi giếng và quy trình ủ (như đã đề cập ở trên) được lặp lại. Cuối cùng, sự thay đổi màu sắc của chất chỉ thị được theo dõi để kiểm tra các dấu hiệu có thể nhìn thấy được về sự phát triển hoặc sự ức chế phát triển của vi sinh vật. Nếu màu sắc thay đổi thành màu đỏ, nó cho thấy sự phát triển (của vi khuẩn) và màu xanh lam cho thấy không có sự phát triển hoặc có sự ức chế phát triển.

Bước 3: Tính toán thử nghiệm Σ FIC

(1) Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC):

MIC được định nghĩa là nồng độ hoạt chất thấp nhất tuyệt đối mà mang lại khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật như được biểu thị bằng màu xanh lam của alamar blue trong điều kiện thử nghiệm.

(2) Nồng độ ức chế phân đoạn (FIC):

Thử nghiệm Σ FIC được tiến hành dựa trên nguyên tắc đã được mô tả trước đây trong Hall MJ, Middleton RF, & Westmacott D (1983), Chỉ số nồng độ ức chế phân đoạn (FIC) như một phép đo tác dụng hiệp đồng. Tạp chí Hóa trị kháng khuẩn 11(5): 427-433. Quy trình như sau:

Các hành vi khác nhau của các chất kháng khuẩn ức chế được phân lập và trong hỗn hợp đã được khám phá rộng rãi bằng cách sử dụng khái niệm nồng độ phân đoạn (FC) và nồng độ ức chế phân đoạn (FIC). Thông số có thể được xác định như sau:

$$\text{FIC (thành phần a)} = \frac{\text{MIC (thành phần được thử nghiệm trong hỗn hợp)}}{\text{MIC (thành phần được thử nghiệm hoạt tính riêng)}}$$

(3) hiệu quả hiệp đồng và hiệu quả bổ sung

Tương tác giữa các chất kháng vi sinh vật có thể là dạng được bổ sung, hiệp đồng hoặc đối kháng tùy thuộc vào hiệu quả của sự kết hợp có tương đương, lớn hơn hoặc nhỏ hơn hiệu quả thu được đối với cùng tổng nồng độ tổng của các thành phần riêng lẻ khi được thử nghiệm riêng.

Sau khi tất cả các quan sát được ghi lại và lập bảng, nồng độ ức chế phân đoạn (FIC) đã được tính toán.

Hiệu quả kết hợp của các chất kháng khuẩn ức chế được khám phá rộng rãi bằng cách sử dụng khái niệm nồng độ phân đoạn (FC) và nồng độ ức chế phân đoạn (FIC). Tham số này được định nghĩa như sau:

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

Hơn nữa, suy luận có thể được rút ra từ giá trị Σ FIC đã được tóm tắt

trong bảng dưới đây. Không có cách tiếp cận nhất quán nào trong tài liệu học thuật hoặc bằng sáng chế đã có trong việc xác định chính xác giới hạn giá trị ΣFIC để phân biệt hiệu quả hiệp đồng với hiệu quả bổ sung hoặc đối kháng. Trong nghiên cứu này, các tác giả sáng chế đã áp dụng cách tiếp cận tự do để xác định bất kỳ hỗn hợp nhị phân nào có giá trị $\Sigma FIC < 0,9$ là cho thấy bằng chứng về hiệu quả hiệp đồng.

$\Sigma FIC = 1$	có hoạt tính kháng khuẩn bổ sung	không thể chấp nhận
$\Sigma FIC > 1$	có hoạt tính kháng khuẩn đối kháng	không thể chấp nhận
$\Sigma FIC < 0,9$	có hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng	được phát minh

Nồng độ cuối cùng của mỗi thành phần được tính bằng đơn vị ppm (phần triệu) sau khi pha loãng (pha loãng 10 lần) như sau. Mỗi nồng độ này đã được thử để xác định giá trị FIC cho (một trong hai) octopirox trong tổ hợp với một trong các hợp chất atractylenolit.

Kết quả:

Người ta quan sát thấy rằng có tác dụng hiệp đồng của octopirox với hợp chất atractylenolit để kháng chủng *M. furfur* (bảng 1).

Bảng 1: Hiệu quả của octopirox và hợp chất atractylenoit trong việc kháng *M.furfur*

Thành phần atractylenolit	Khoảng giá trị nồng độ hợp chất atractylenolit (ppm) khi giá trị ΣFIC nhỏ hơn 0,9	Khoảng tỉ số giữa thành phần atractylenolit/octopirox (theo trọng lượng) khi giá trị ΣFIC nhỏ hơn 0,9
Atractylenolit I	31,25-500	5-1280
Atractylenolit II	31,25-1000	5-2560

Dữ liệu chỉ ra có khoảng rộng đáng kể nồng độ hợp chất atractylenolit liên quan do các nhà khoa học tùy ý sử dụng công thức để có được ưu điểm cho mình. Thực tế là giá trị ΣFIC nhỏ hơn 0,9 trên khoảng rộng nồng độ của

hợp chất atractylenolit khi được dùng kết hợp với octopirox, ngụ ý rằng có thể tạo ra các chế phẩm kháng khuẩn có hiệu quả cao bao gồm hai thành phần hoạt tính sau khi xem xét kỹ thực tế rằng các thí nghiệm được tiến hành trong các điều kiện thử nghiệm và với lượng thành phần có thể không khớp hoặc phản ánh đúng lượng thực tế trong điều kiện sử dụng, tức là các chế phẩm như dầu gội đầu hoặc kem dưỡng da.

Do đó, tóm lại, các quan sát được lập bảng trong bảng 1 chỉ ra rõ ràng rằng hợp chất atractylenolit có tương tác hiệp đồng với hoạt chất kháng khuẩn theo sáng chế này. Sự tương tác của chúng được phát hiện là có tính hiệp đồng trên các khoảng rộng giá trị nồng độ và sự tương tác hiệp đồng thể hiện rõ ràng từ thực tế là có giá trị ΣFIC nhỏ hơn 0,9.

Phương pháp 2: thử nghiệm vùng ức chế (ZOI)

Dịch chiết nước rễ cây Bạch Truật (*Atractylodes macrocephala* (AM)) (được mua tại Liaoyuan Hồ Châu, Trung Quốc) được điều chế ở nồng độ 0,75% và 1,5% trong 50% nước/DMSO. Octopirox (OCT) được điều chế ở nồng độ 0,1% và 0,2% trong DMSO. Điều chế đĩa thạch tăng trưởng *Malassezia*, sau đó phết 200 μ L *M. furfur* (106 CFU) (CBS 1878) lên thạch. Một số giấy lọc vô trùng (đường kính = 6mm) được đặt trên đĩa thạch. 10 μ L dung dịch hợp chất được cho thêm vào giấy lọc. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ 32 °C trong 2 ngày. Vùng ức chế tăng trưởng một cách rõ ràng đã được ghi nhận.

Công thức tính:

Hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng: khoảng cách ức chế đối với sự kết hợp hợp chất 1 + hợp chất 2 > khoảng cách ức chế đối với riêng hợp chất 1 + khoảng cách ức chế đối với riêng hợp chất 2.

Kết quả:

Quan sát thấy rằng có tác dụng hiệp đồng của octopirox với dịch chiết rễ cây Bạch Truật (*atractylodes macrocephala* (AM)) trong việc kháng chủng *M. furfur* (bảng 2).

Bảng 2: Hiệu quả của octopirox và dịch chiết rễ cây Bạch Truật (*atractylodes macrocephala* (AM)) trong việc kháng chủng *M.furfur*

Thành phần	Khoảng cách ức chế (mm)= (đường kính vùng ức chế - đường kính giấy lọc) / 2	Độ lệch chuẩn	Hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng
1,5% AM	2,1	0,04	
0,1% OCT	2,7	0,00	
1,5% AM+0,1%OCT	5,1	0,18	có
0,75%AM	1,3	0,25	
0,1%OCT	2,7	0,42	
0,75%AM+0,1%OCT	5,9	0,46	có

Các quan sát được lập bảng trong bảng 2 chỉ ra rõ ràng rằng hợp chất atractylenolit ở dạng dịch chiết rễ cây Bạch Truật (*atractylodes macrocephala*) có tương tác hiệp đồng với octopirox. Điều đó chỉ ra rằng hợp chất atractylenolit có tương tác hiệp đồng với hoạt chất kháng khuẩn theo sáng chế này.

Tổ hợp của Octopirox® với ZPTO có hoạt tính kháng khuẩn đã biết khác.

Xét nghiệm trong ống nghiệm về giá trị Σ FIC để kháng lại *M. furfur* là tương tự như đã được sử dụng ở trên để thực hiện các thí nghiệm nhằm xác định xem liệu sự tương tác giữa Octopirox® và các hoạt chất kháng khuẩn đã biết khác như kẽm pyrithion là có mang lại hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng hay không. Các thí nghiệm được thực hiện trên khoảng nồng độ của các thành phần như sau:

Octopirox® - 50, 25, 12,5, 6, 3 và 0.

ZnPT: 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56, 0,78, 0,39, 0,2, 0,1, 0,05 và 0.

Thử nghiệm Σ FIC đã được thực hiện và dữ liệu chỉ ra rằng Octopirox® không tương tác có tính hiệp đồng với ZPTO để mang lại hoạt tính kháng khuẩn hiệp đồng. Do đó, không thể kết luận rằng những tổ hợp của pirocton olamin với bất kỳ hoạt chất kháng khuẩn nào đã biết sẽ luôn mang lại hiệu quả hiệp đồng. Điều đáng ngạc nhiên là sự kết hợp của hợp chất atractylenolit với hoạt chất kháng khuẩn được bộc lộ trong sáng chế này thể hiện hành vi kháng khuẩn có tính hiệp đồng.

Tất cả các thử nghiệm được bộc lộ ở đây đều tiến hành trong điều kiện trong ống nghiệm để xác định xem liệu tổ hợp của hoạt chất kháng khuẩn cụ thể - pirocton olamin với hợp chất atractylenolit là có hiệu quả hiệp đồng, bổ sung hoặc đối kháng khi so với hoạt động riêng biệt của chúng trong việc kháng khuẩn có liên quan. Đối với các thí nghiệm có liên quan, nồng độ của các thành phần được chọn nằm trong giới hạn cho phép của các thí nghiệm liên quan và trong đó có thể ghi lại các hiệu ứng kỹ thuật. Do đó, nồng độ trong các thử nghiệm được tiến hành có thể không nằm trong phạm vi mà các thành phần đó thường được sử dụng trong các chế phẩm mỹ phẩm (thường tính bằng tỉ lệ phần trăm trọng lượng).

Các chế phẩm theo sáng chế này có thể được điều chế dưới dạng nhũ tương hoặc gel với các thành phần thông thường khác có thể ảnh hưởng đến nồng độ của các hoạt chất mong muốn trong pha dầu và trong pha nước. Các chế phẩm này cũng có thể có một tập hợp khác nhau về các đặc tính vật lý và thủy động lực học như hệ số phân vùng, tốc độ khuếch tán, tốc độ vận chuyển đối lưu và đặc tính lưu biến. Do đó, được mong đợi rằng nồng độ được sử dụng khi sản xuất chế phẩm có thể khác so với nồng độ ở cấp độ tế bào mà tại đó các thử nghiệm được thực hiện, và thường thì nồng độ sử dụng là có mức độ cao hơn.

Tác dụng của tỷ lệ giữa chất Octopirox® và chất atractylenolit đến hiệu quả ức chế.

Chế phẩm có chứa chất Octopirox® và chất atractylenolit được điều chế như trong bảng 3 và bảng 4. Dung dịch được pha loãng trong môi trường nuôi cấy gấp 8 lần, và được trộn thêm với 9 đơn vị thể tích chất huyền phù *M.furfur* trong PB để quan sát sự khác biệt về tốc độ phát triển của *Malassezia* như yêu cầu thử nghiệm. Thử nghiệm tương tự được sử dụng như đã trình bày ở trên. Hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ 32°C trong 48 giờ để theo dõi sự phát triển của *Malassezia*. Các kết quả quan sát được tóm tắt trong bảng 3 và bảng 4. Vì FIC được định nghĩa là nồng độ ức chế phân đoạn, do đó giá trị Σ FIC được báo cáo ở đây là cho những chế phẩm gây ức chế sự phát triển của *Malassezia*, nhưng là không có đối với những chế phẩm không có hiệu quả gây ức chế.

Bảng 3: Tác động của tỉ lệ giữa chất Octopirox® và chất atractylenolit I trong việc kháng chủng *M. furfur*

Thử nghiệm	Octopirox® (%)	Atractylenolit I (%)	Tỉ lệ giữa atractylenolit I so với octopirox®	Ức chế (có/không)	Σ FIC
A	0	0	-	không	-
B	0	0,13	-	không	-
C	0	0,25	-	không	-
D	0	2	-	không	-
E	0	4	-	không	-
F	0,003	0	-	không	-
G	0,05	0	-	không	-
H	0,05	0,13	2,5	không	-
1	0,05	0,25	5	có	0,5
2	0,05	2	40	có	0,8
3	0,003	4	1280	có	0,5

Các quan sát được lập bảng trong bảng 3 chỉ ra rõ ràng rằng chất atractylenolit I có tương tác hiệp đồng với chất pirocton olamin để gây ức chế sự phát triển của chủng *M. furfur* ($\Sigma \text{FIC} < 0,9$) chỉ khi tỷ lệ trọng lượng giữa chất atractylenolit I và chất pirocton olamin ít nhất là 5:1 (ví dụ 1-3).

Bảng 4: Tác động của tỷ lệ giữa chất octopirox® và chất atractylenolit II trong việc kháng chủng *M. furfur*

Thử nghiệm	Octopirox® (%)	Atractylenolit II (%)	Tỷ lệ giữa atractylenolit I so với Octopirox®	Ức chế (có/không)	ΣFIC
I	0	0	-	không	-
J	0	0,13	-	không	-
K	0	0,25	-	không	-
L	0	4	-	không	-
M	0	8	-	không	-
N	0,003	0	-	không	-
O	0,05	0	-	không	-
P	0,05	0,13	2,5	không	-
4	0,05	0,25	5	có	0,5
5	0,05	4	80	có	0,8
6	0,003	8	2560	có	0,5

Các quan sát được lập bảng trong bảng 4 chỉ ra rõ ràng rằng chất atractylenolit II có tương tác hiệp đồng với chất pirocton olamin để gây ức chế sự phát triển của *M. furfur* ($\Sigma \text{FIC} < 0,9$) chỉ khi có tỷ lệ trọng lượng giữa chất atractylenolit II và chất pirocton olamin ít nhất là 5:1 (ví dụ 4-6).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm bôi ngoài da chứa:

(i) hoạt chất kháng khuẩn, trong đó có ít nhất một trong các axit caprylhydroxamic hoặc pirocton olamin; và

(ii) hợp chất atractylenolit; trong đó tỷ lệ trọng lượng giữa chất atractylenolit nói trên so với hoạt chất kháng khuẩn nói trên ít nhất là 5:1; trong đó hợp chất atractylenolit nói trên là atractylenolit I hoặc atractylenolit II.

2. Chế phẩm theo điểm 1 nói trên, trong đó tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất atractylenolit nói trên so với hoạt chất kháng khuẩn nói trên là từ 5:1 đến 1280:1.

3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc điểm 2 nói trên, bao gồm chất chiết xuất từ *Atractylodes spp*, theo cách khác là chất chiết xuất từ *Sarcandra glabra* hoặc *Chloranthus serratus*, lần lượt có bao gồm chất atractylenolit nói trên.

4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 nói trên, trong đó lượng hợp chất atractylenolit nói trên là từ 0,01% đến 10% trọng lượng.

5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 nói trên, trong đó lượng hoạt chất kháng khuẩn nói trên với lượng từ 0,01% đến 10% trọng lượng.

6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 nói trên, trong đó chế phẩm bao gồm chất mang được chấp nhận về mặt mỹ phẩm chứa nước.

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 nói trên, trong đó chất mang còn bao gồm thêm chất hoạt động bề mặt.

8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 nói trên, trong đó chế phẩm là loại chế phẩm được để lưu lại hoặc được rửa sạch đi.

9. Phương pháp phi trị liệu nhằm mang lại lợi ích kháng khuẩn trên bề mặt cục bộ được bôi, thoa của cơ thể người hoặc động vật, bao gồm bước dùng một lượng an toàn và có hiệu quả của chế phẩm kháng khuẩn bôi ngoài da theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 nói trên.