



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107080730 A

(43)申请公布日 2017.08.22

(21)申请号 201710080774.3

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2010.03.04

*A61K 8/99*(2017.01)

(30)优先权数据

*A61Q 19/00*(2006.01)

0951362 2009.03.04 FR

*A61K 35/747*(2015.01)

61/202,627 2009.03.19 US

*A61K 35/745*(2015.01)

*A61P 17/00*(2006.01)

(62)分案原申请数据

201010128884.0 2010.03.04

(71)申请人 奥里尔股份有限公司

地址 法国巴黎

申请人 雀巢技术公司

(72)发明人 奥德蕾·盖尼什

(74)专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

代理人 付文川 王芝艳

权利要求书1页 说明书18页 附图1页

(54)发明名称

益生菌减少皮肤刺激的应用

(57)摘要

本发明涉及益生菌减少皮肤刺激的应用,具体涉及有效量的至少一种益生菌,特别是来自乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属的益生菌,其部分和/或其代谢物作为减少皮肤刺激的活性成份的美容应用。

1. 有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为用于减少皮肤刺激的活性成份的美容应用。

2. 有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为用于预防刺激性接触性皮炎的症状和/或治疗刺激性接触性皮炎的活性成份的美容应用。

3. 有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为制备用于预防刺激性皮肤病症的症状和/或治疗刺激性皮肤病症的组合物的活性成份的应用。

4. 如权利要求1所述的应用,其特征在于所述皮肤刺激是由选自化学品、能够激发皮肤刺激的化合物、温度、气候、大气污染或摩擦的作用中的至少一种引起的。

5. 如权利要求2所述的应用,其特征在于所述皮肤刺激是由选自化学品、能够激发皮肤刺激的化合物、温度、气候、大气污染或摩擦的作用中的至少一种引起的。

6. 如权利要求3所述的应用,其特征在于所述皮肤刺激是由选自化学品、能够激发皮肤刺激的化合物、温度、气候、大气污染或摩擦的作用中的至少一种引起的。

7. 如权利要求4所述的应用,其特征在于所述益生微生物用于预防和/或降低包含一种或多种能够激发皮肤刺激的化合物的美容用或皮肤病用组合物的刺激作用。

8. 如权利要求5所述的应用,其特征在于所述益生微生物用于预防和/或降低包含一种或多种能够激发皮肤刺激的化合物的美容用或皮肤病用组合物的刺激作用。

9. 如权利要求6所述的应用,其特征在于所述益生微生物用于预防和/或降低包含一种或多种能够激发皮肤刺激的化合物的美容用或皮肤病用组合物的刺激作用。

10. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中所述微生物选自约氏乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌、双歧双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、青春双歧杆菌或假小链双歧杆菌及其各种混合物。

11. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中所述微生物选自约氏乳杆菌、副干酪乳杆菌、青春双歧杆菌、长双歧杆菌、或长双歧杆菌(BB536),所述约氏乳杆菌、副干酪乳杆菌、青春双歧杆菌、长双歧杆菌的保藏号分别为CNCM I-1225、CNCM I-2116、CNCM I-2168和CNCM I-2170。

12. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中所述微生物是副干酪乳杆菌。

13. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中所述微生物是副干酪乳杆菌CNCM I-2116。

14. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中相对于包含所述微生物的组合物的总重量,所述微生物的使用比例是0.0001-20重量%。

15. 如权利要求1、2或3所述的应用,其中所述微生物为外用或口服使用。

16. 用于预防和/或治疗刺激性皮肤病症,特别是刺激性接触性皮炎的美容处理方法,所述方法包括施用,特别是口服施用或外用有效量的属于副干酪乳杆菌菌种的至少一种微生物、其部分或其代谢物。

## 益生微生物减少皮肤刺激的应用

[0001] 本申请是申请号为201010128884.0,申请日为2010年3月4日,发明名称为“益生微生物减少皮肤刺激的应用”的中国专利申请的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及用于预防和/或治疗皮肤刺激的新活性剂。

### 背景技术

[0003] 人皮肤由两部分构成,即深层部分(真皮)和表层部分(表皮)。

[0004] 皮肤构成了阻挡外界侵袭,特别是化学、机械或感染型侵袭的屏障,并且在皮肤中发生的某些反应是对抗环境因素(气候、紫外线、烟草等)和/或外源物(例如微生物)的防御反应。被称作屏障功能的这一性质主要由所谓角质层(horny layer或stratum corneum)的表皮最上层提供。

[0005] 显然,皮肤屏障和粘膜的质量日常受到由刺激剂(洗涤剂、酸、碱、氧化剂、还原剂、浓缩溶剂(concentration solvent)、气体或毒烟)、机械应力(摩擦、碰撞、磨损、表面撕裂、尘埃投射(dust projection)、颗粒投射(particle projection)、剃须或除毛)或者热失衡或气候失衡(冷、干)形式的外界侵袭的影响。

[0006] 皮肤刺激通常被定义为以水肿和红斑为特征的局部、可逆且非免疫学的炎症反应,其在皮肤单次或重复接触化学物质后被引起。

[0007] 属于不同种类、差异很大的化学产品,例如角蛋白溶剂(keratinic solvent)、脱水剂或氧化剂或还原剂都可被认为是刺激物。

[0008] 皮肤的刺激是非常重要的现象,其代表约60%~80%的非过敏性接触性皮炎病例。其他病例大部分表现为过敏性接触性皮炎。

[0009] 刺激性接触性皮炎(ICD)是由内源和外源因素作用共同触发的多因素疾病。年龄、遗传背景和性别也是可能影响其病理发展的因素。

[0010] 急性刺激性接触性皮炎(ICD)的主要特征是炎症,而慢性ICD的特征是角质形成细胞增生和短暂性角化过度。

[0011] 参与皮肤刺激的生化事件非常复杂,几乎没有阐述过。

[0012] 已知皮肤刺激涉及级联反应,其通过募集浸润性血细胞(嗜中性粒细胞、巨噬细胞、朗格汉斯细胞)以及其释放的物质(细胞因子、淋巴因子、趋化因子等)而产生主要特征为皮肤刺激的持久性刺激过程。

[0013] 在确立ICD病理生理学中化合物对皮肤的渗透是主要参数。后者与皮肤的渗透度(与其生理条件相关)、化合物(认为这些化合物的进入受到分子量、极性、离子化状态的限制)的物理化学性质以及通过其这些化合物与皮肤接触的环境(赋形剂、载体)的性质相关。

[0014] 该必然步骤以外源介质或载体为基础,相应于所述分子的释放,其扩散,并由此提供供给机体。

[0015] 在刺激物与皮肤接触的情况下,角质形成细胞是首先被化学产品激活的细胞。因

此,针对ICD的大部分研究都集中于这种细胞类型,由此已知关于其参与ICD病理生理学的大量数据。角质形成细胞通过释放大量的介体和细胞因子而在皮肤炎症反应的激发中发挥重要作用,所述介体和细胞因子是导致ICD临床表现的整个炎症级联的基础。其中,IL-1 $\alpha$ 和花生四烯酸衍生物在炎症发展中特别重要。与发挥主要作用的氧化应激相比,TNF- $\alpha$ 发挥的作用似乎更受争议。

[0016] 释放的IL-1 $\alpha$ 通过激活转录因子NF- $\kappa$ B而诱导炎症参与基因(例如细胞因子IL-1 $\alpha$ 、IL-6、GM-CSF、TNF- $\alpha$ ,包括IL-8、MCP-1、MIP-1 $\alpha$ 和嗜酸粒细胞趋化蛋白(eotaxin)的趋化因子)的转录,并诱导粘附分子(例如E-选择素、ICAM-1和VCAM-1)的表达(Gordon JR,Nature 1990:346(6281):274-276)。

[0017] 由角质形成细胞激活产生的信号级联起始于预存关键介体的释放。实际上,静息的角质形成细胞包含大量预制的生物活性IL-1 $\alpha$ (Marks F et al.,Toxicol Lett 96:111-118,1998)和大量花生四烯酸(Murphy J E et al.,J Invest Dermatol 114:602-608,2000)。

[0018] 因为角质形成细胞组成型地产生这两种化合物并将其持续贮存在细胞中,所以可将表皮视为高度炎性介体的主要储备库。由化合物的腐蚀作用、烧伤或UV接触而造成的角质形成细胞损伤自发诱导IL-1 $\alpha$ 和花生四烯酸的释放,这成为机体的第一防御反应。

[0019] 因此,可将IL-1 $\alpha$ 和花生四烯酸视为对化学应激作出反应而触发刺激的关键介体(Murphy J E et al.,J Invest Dermatol,114:602-608,2000)。

[0020] 在除IL-1和花生四烯酸之外的所有已报道的介体中,只有TNF- $\alpha$ 能够激活足够数量的机制以独立产生皮肤炎症。这一皮肤炎症的主要细胞因子已经预存在真皮肥大细胞中(Larrick J W et al.,J Leukoc Biol,45:429-433,1989),但也由角质形成细胞和朗格汉斯细胞在受刺激后产生(Groves R W,et al.,J Invest Dermatol,98:384-387,1992)。TNF- $\alpha$ 对炎症反应发挥最大影响的机制之一是与IL-1协同诱导粘附分子。粘附分子在白细胞(特别是嗜中性粒细胞)从外周血管向真皮和表皮的循环和渗透中起重要作用(Holliday M R et al.,Am J Contact Dermat,8:158-164,1997)。

[0021] 多种化学产品都可引起皮肤刺激;然而,这些化学产品产生促炎症细胞因子的能力各不相同,而皮肤炎症也不是系统地依赖于TNF- $\alpha$ 的产生。

[0022] 重要的是,还要注意由炎症部位的活化巨噬细胞产生的IL-12和IL-18在局部放大回路中的重要作用。这是因为这些细胞因子通过邻近的T淋巴细胞刺激IFN- $\alpha$ 的生产,而IFN- $\alpha$ 又是巨噬细胞和角质形成细胞的强力共激活因子。

[0023] 最后,关于外源应激,已知在特定环境下,外用化合物在用于美容用或皮肤病用组合物(dermatological composition)(当然是为其他作用)时,可导致出现皮肤反应。

[0024] 因此,使用的美容用组合物(cosmetic composition)包含,例如用于对抗衰老的活性角质溶解剂和/或脱皮剂(desquamating agent),特别是促进细胞再生的活性去角质素(exfoliant)和/或活性剂,例如 $\alpha$ -羟基酸(特别是乳酸、乙醇酸或柠檬酸)、 $\beta$ -羟基酸(特别是水杨酸或n-辛酰基-5-水杨酸)和类维生素A<sup>1</sup>(特别是全反式或13-顺式视黄酸和视黄醇)。遗憾的是,如果过量使用这些活性剂,它们能够激发皮肤刺激。一般而言,上述有关皮肤病症最常出现在身体中暴露最多的区域,也就是手、脚、面部和头皮。

[0025] 它们尤其可能出现在接受某些日常操作或经常重复的卫生操作的区域,例如剃

须、除毛、使用盥洗产品或家居产品的清洁、施用粘合剂(硬膏剂(plaster)、贴剂、假体连接物(attachment of prostheses)),或者在涉及运动、工作或仅与生活方式和与使用产生局部摩擦的衣物、工具或装置相关的情况下。它们也可因心理应激而被扩大。

[0026] 由此可见,获得可预防和/或治疗和/或减轻这些病症(更具体地为皮肤刺激)的有效活性剂将颇有价值。

[0027] 完全出人意料的是,现已发现应用乳酸杆菌属(*Lactobacillus* sp.)和/或双歧杆菌属(*Bifidobacterium* species)的微生物或其部分在此方面提供了令人满意的效果。

## 发明内容

[0028] 本发明第一方面提供了有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为减少皮肤刺激的活性成份(active agent)的美容应用(cosmetic use)。

[0029] 从以下实施例可见,已证明本发明所述的微生物对于维持引起皮肤刺激调控的一种或多种机制特别有用。

[0030] 本发明还涉及有效量的至少一种本发明的益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为活性成份在制备用于预防刺激性皮肤病症的症状(manifestation)和/或治疗刺激性皮肤病症的组合物中的应用。

[0031] 本发明还提供了有效量的至少一种本发明的益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,更具体地为副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*) ST11株,其部分和/或其代谢物作为用于预防刺激性接触性皮炎(ICD)的症状和/或治疗刺激性接触性皮炎(ICD)的活性成份的美容应用,优选外用。

[0032] 在另一个方面,本发明还提供了用于预防和/或治疗刺激性皮肤病症,特别是刺激性皮肤,更具体地为刺激性接触性皮炎(ICD)的美容处理方法(cosmetic treatment method),所述方法包括施用,特别是口服施用和外用(topical)有效量的属于副干酪乳杆菌菌种的至少一种微生物、其部分或其代谢物。

[0033] 就本发明人的认识而言,从未阐述益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属、其部分和/或其代谢物的功效。

[0034] 微生物,特别是益生微生物在皮肤护理中的应用已有阐述。

[0035] WO 2006/07922文件描述了用于治疗敏感型皮肤,并采用副干酪乳杆菌或干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)微生物和长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)或乳双歧杆菌(*Bifidobacterium lactis*)微生物的组合作为活性成份的组合物。

[0036] FR 2872047则描述了益生微生物和二价无机阳离子的组合。

[0037] FR 2889057,就其而言,公开了包含益生微生物与多不饱和脂肪酸和/或多不饱和脂肪酸酯的组合的外用组合物(topical composition),其可用于治疗敏感型皮肤。

[0038] WO 02/28402描述了益生微生物在调控皮肤超敏性反应(即过敏反应)中的应用。

[0039] 最近的WO 03/070260涉及益生微生物在用于保护皮肤免受光损害中的应用。

[0040] 然而,这些文献都没有描述本发明的益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,更具体地为副干酪乳杆菌ST11株,其部分和/或其代谢物作为活性成份在皮肤刺激性病症方面的应用。

[0041] 由下文所述的试验可见,在长期使用本发明的微生物后,观察到皮肤刺激受到调控,特别是皮肤刺激减少。

[0042] 特别地,本发明的发明人已经证明此类微生物能够选择性地刺激调控性细胞因子IL-8的产生。

[0043] 因此,包含至少一种本发明微生物的组合物可用于预防和/或减少刺激型皮肤症状的表现,特别是由化学、环境或机械源的外源应激引起的那些表现。

[0044] 特别地,皮肤刺激可由选自化学产品、能够导致皮肤刺激的化合物、温度、气候、大气污染或摩擦作用中的至少一种条件引起。

[0045] 在一个优选的实施方式中,根据本发明所认为的应激不同于除毛或去死皮(peeling)操作中内在的应激。

[0046] 特别地,本发明的微生物可作为抗刺激剂使用。

[0047] 本发明中认为的皮肤刺激不依赖于任何免疫组分,并由此区别于,例如银屑病、接触性超敏反应或迟发性接触性超敏反应。

[0048] 本发明中认为的皮肤刺激具体为非过敏性皮肤刺激。更具体地,本发明涉及预防和/或治疗非过敏性刺激性接触性皮炎。

[0049] 因此,在另一个方面,本发明还提供了有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物作为增强皮肤对外界侵袭的保护作用的试剂的美容应用。

[0050] 更具体地,本发明涉及有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物在预防皮肤刺激中的美容应用,其中所述皮肤刺激可由刺激剂形式的一种或多种外源侵袭引起,所述刺激剂例如洗涤剂、酸、碱、氧化剂、还原剂、浓缩溶剂、气体或毒烟;与一种或多种机械应力,例如摩擦、碰撞、磨损、表面撕裂、尘埃投射、颗粒投射和剃须相关;或与热失衡或气候失衡,例如冷相关。

[0051] 因此,本发明涉及有效量的至少一种益生微生物的裂解物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物在预防和/或治疗接触大气污染物后的刺激性皮肤病症中的美容应用。

[0052] 此外,本发明还涉及有效量的至少一种益生微生物,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属,其部分和/或其代谢物在预防和/或治疗刺激性皮肤病症中的美容应用,其中所述刺激性皮肤病症是由环境氧化剂,例如氧、臭氧和/或氮氧化物和硫氧化物引发的氧化应激产生的。

[0053] 本文所述“有效量”是指足以产生期望效果的量。

[0054] 本文所述术语“预防”是指降低所述现象的表现风险。

[0055] 此降低可导致低于使用根据本发明的应用之前存在的风险程度。

[0056] 本文所述术语“治疗”是指矫正生理功能障碍,并更通常指减少,乃至抑制不期望的病症,特别地,所述不期望的病症的表现是所述功能障碍的结果。

[0057] 本文中有关症状的术语“减少”是指降低此症状,例如皮肤刺激所表现出的强度,和/或降低出现此症状的风险。

[0058] 应理解,所述强度和/或风险的降低可以是完全或部分地,即仍存在出现此症状的风险或其表现强度,但其程度小于应用本发明之前的情况。

[0059] 根据本发明的一个实施方式,本发明的微生物可口服使用。

[0060] 根据本发明的另一个实施方式,本发明的微生物可外用。

[0061] 然而,根据定义,外用产品在要治疗的区域中局部起作用;在这些区域中,其可能不均匀地分布,且需要细致且重复地施用。

[0062] 与此相反,口服途径由于快速且相对无限制的施用方式,其具有在全部皮肤,包括在皮肤深层(真皮、皮下组织)中全面发挥作用的优点。实际上,代谢物和其他活性营养素通过血流而特别是分布在真皮基质中。

[0063] 口服途径或通过贴剂施用还具有施用方式快速且相对无限制的优点。

[0064] 因此,根据一个优选的实施方式,本发明的美容应用通过口服实施,而且本发明的方法包括口服施用有效量的本发明所述的微生物、或其部分或其代谢物。

[0065] 如下所述,配制包含所述微生物的组合物以使其与所采用的施用方法相符。

[0066] 微生物

[0067] 适合于本发明的微生物是益生菌,特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属的益生菌。

[0068] 出于本发明的目的,“益生菌”是在以适当的量服用时,对其宿主健康具有积极作用(Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotic in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria,2001年10月6日),并可特别地增强肠道微生物平衡的活体微生物。

[0069] 根据本发明的一个变式,此微生物以分离形式施用,即不与在原始环境中与所述微生物相关的一种或多种化合物混合。

[0070] 出于本发明的目的,术语“代谢物”由本发明微生物代谢获得并在刺激性皮肤治疗中具有功效的任何物质。

[0071] 出于本发明的目的,术语“部分(fraction)”更具体地指所述微生物的片段(fragment),其与完整形式的所述微生物类似,可有效处理油性皮肤或具有油性倾向的皮肤。

[0072] 适合本发明的益生菌的具体实例为:青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)、动物双歧杆菌(*Bifidobacterium animalis*)、双歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)、短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)、乳双歧杆菌、长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌(*Bifidobacterium infantis*)、假小链双歧杆菌(*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、嗜酸性乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) (NCFB 1748);食淀粉乳杆菌(*Lactobacillus amylovorus*)、干酪乳杆菌(*Shirota*)、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*) (GG株)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)、卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*)、德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*,保加利亚亚种和乳酸亚种(subsp bulgaricus,lactis))、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*)、鸡乳杆菌(*Lactobacillus gallinarum*)、格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)、约氏乳杆菌(*Lactobacillus johnsonii*) (CNCM I-1225)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)、唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius*)、消化乳杆菌(*Lactobacillus alimentarius*)、弯曲乳杆菌(*Lactobacillus curvatus*)、干酪乳杆菌干酪亚种(*Lactobacillus casei*

subsp. casei)、米酒乳杆菌 (*Lactobacillus sake*)、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)、肠道球菌 (*Enterococcus*) (粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)) 乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*, 乳酸亚种或乳脂亚种 (subsp. *lactis* or *cremoris*))、肠膜明串珠菌葡聚糖亚种 (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*)、嗜酸小球菌 (*Pediococcus acidilactici*)、菊糖芽孢乳杆菌 (*Sporolactobacillus inulinus*)、唾液链球菌嗜热亚种 (*Streptococcus salvarius* subsp. *thermophilus*)、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)、肉葡萄球菌 (*Staphylococcus carnosus*)、木糖葡萄球菌 (*Staphylococcus xylosus*)、酵母 (酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 或布拉酵母 (*Saccharomyces boulardii*))、芽孢杆菌 (*cereus* var. *toyo* 或枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*))、凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、大肠杆菌 nissle 株 (*Escherichia coli* strain nissle)、费氏丙酸杆菌 (*Propionibacterium freudenreichii*) 及其混合物。

[0073] 更具体地,所述益生微生物可来自于乳酸菌类,例如特别是乳酸菌和/或双歧杆菌。

[0074] 作为对这些乳酸菌的举例说明,其可以具体为约氏乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌、双歧双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌、动物双歧杆菌、乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、青春双歧杆菌、假小链双歧杆菌及其混合物。

[0075] 特别适合的菌种是根据布达佩斯条约在1992年6月30日、1999年1月12日、1999年4月15日和1999年4月15日保藏在 Institut Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15), 保藏号分别为 CNCM I-1225、CNCM I-2116、CNCM I-2168 和 CNCM I-2170 的约氏乳杆菌、副干酪乳杆菌、青春双歧杆菌和长双歧杆菌,以及乳双歧杆菌 (Bb 12) (ATCC27536) 或长双歧杆菌 (BB536)。乳双歧杆菌株 (ATCC27536) 可来自于 Hansen (Chr. Hansen A/S, 10-12 Boege Alle, P.O. Box 407, DK-2970 Hoersholm, Denmark)。

[0076] 根据一个实施方式,适合本发明的益生微生物可更具体地为乳杆菌属的微生物。

[0077] 优选地,适合本发明的乳杆菌属微生物可来自于约氏乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌、干酪乳杆菌及其混合物的种。

[0078] 根据一个优选的实施方式,适合本发明的微生物可以是副干酪乳杆菌。

[0079] 适合本发明的微生物可以更具体地为根据布达佩斯条约在1999年1月12日保藏在 Institut Pasteur (28 rue du Docteur Roux, F-75024 Paris cedex 15), 保藏号为 CNCM I-2116 的副干酪乳杆菌,以及其部分和/或其代谢物。

[0080] 根据一个实施方式,除上述定义的特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属的第一益生微生物以外的,本发明还涉及至少有效量的至少一种不同于第一微生物的第二微生物,特别是益生型微生物,和/或其部分或其代谢物的应用。

[0081] 所述第二微生物可特别选自子囊菌 (ascomycetes), 例如酵母 (*Saccharomyces*)、耶氏酵母 (*Yarrowia*)、克鲁维斯酵母 (*Kluyveromyces*)、有孢圆酵母 (*Torulasporea*)、粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、德巴利酵母 (*Debaromyces*)、假丝酵母 (*Candida*)、毕赤酵母 (*Pichia*)、曲霉 (*Aspergillus* 和青霉 (*Penicillium*)), 类杆菌属 (*Bacteroides*)、梭形杆菌属 (*Fusobacterium*)、蜜蜂球菌属 (*Melissococcus*)、丙酸杆菌属 (*Propionibacterium*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、葡萄球菌属

(Staphylococcus)、消化链球菌属(Peptostreptococcus)、芽孢杆菌属(Bacillus)、小球菌属(Pediococcus)、微球菌属(Micrococcus)、明串珠菌属(Leuconostoc)、魏斯氏菌属(Weissella)、气球菌属(Aerococcus)、酒球菌属(Oenococcus)、乳杆菌属(Lactobacillus)、双歧杆菌属(Bifidobacterium)的细菌,以及其混合物。

[0082] 特别地,非常适合本发明的子囊菌包括,解脂耶氏酵母(Yarrowia lipolitica)和乳酸克鲁维酵母(Kluyveromyces lactis),以及酿酒酵母、有孢圆酵母、粟酒裂殖酵母、假丝酵母和毕赤酵母。

[0083] 益生微生物的具体实例为嗜酸性乳杆菌、消化乳杆菌、弯曲乳杆菌、德氏乳杆菌乳酸亚种、格氏乳杆菌、约氏乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌(乳酸菌GG)、米酒乳杆菌、乳酸乳杆菌、嗜热链球菌、肉葡萄球菌、木糖葡萄球菌及其混合物。

[0084] 根据一个实施方式,优选使用以下酵母和菌属作为第二微生物:

[0085] -通过糖发酵产生乳酸的乳酸菌。根据其形态将其分成两组:

[0086] 乳酸杆菌:嗜酸性乳杆菌、食淀粉乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、短乳杆菌、卷曲乳杆菌、德氏乳杆菌(保加利亚亚种、乳酸亚种)、发酵乳杆菌、瑞士乳杆菌、鸡乳杆菌、格氏乳杆菌、约氏乳杆菌、植物乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、唾液乳杆菌、消化乳杆菌、弯曲乳杆菌、干酪乳杆菌干酪亚种、米酒乳杆菌,和

[0087] 球菌:肠道球菌(粪肠球菌、尿肠球菌)、乳酸球菌(乳酸亚种或乳脂亚种)、肠膜明串珠菌葡聚糖亚种、嗜酸小球菌、菊糖芽孢乳杆菌、唾液链球菌嗜热亚种、嗜热链球菌、肉葡萄球菌、木糖葡萄球菌,

[0088] -双歧杆菌:青春双歧杆菌、动物双歧杆菌、双歧双歧杆菌、短双歧杆菌、乳双歧杆菌、长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、假小链双歧杆菌,

[0089] -酵母:酿酒酵母或布拉酵母,

[0090] -其他形成孢子的细菌:芽孢杆菌(cereus var toyo或枯草芽孢杆菌)、凝结芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、大肠杆菌nissle株、费氏丙酸杆菌,

[0091] -及其混合物。

[0092] 更具体地,所述第二微生物可以是上述作为第一微生物的益生微生物的具体实例提出的益生微生物之一。

[0093] 根据一个具体实施方式,所述第二益生微生物是乳杆菌属物种,更具体的是约氏乳杆菌,其部分和/或其代谢物。

[0094] 所述物种可具体为根据布达佩斯条约在1992年6月30日保藏在Institut Pasteur (28rue du Docteur Roux,F-75024Paris cedex 15),保藏号分别为CNCM I-1225的约氏乳杆菌。

[0095] 相对于组合物的总重量,可将本发明的微生物以至少0.0001%(按干重计)的比例配制到组合物中,具体为0.0001重量%-20重量%的比例,更具体为0.001重量%-15重量%的比例,更具体为0.01重量%-10重量%的比例,特别是0.1重量%-2重量%的比例。

[0096] 一般而言,对于活体微生物,本发明的组合物,更具体为用于口服的组合物在活体微生物方面可在每克载体中包含 $10^3$ - $10^{15}$ cfu/g,具体为 $10^5$ - $10^{15}$ cfu/g,且更具体为 $10^7$ - $10^{12}$ cfu/g的微生物,或按失活或死亡微生物、微生物部分或所产生的代谢物计算的等量剂量。

[0097] 在必须口服施用组合物的具体情况下,可将每种微生物和/或对应部分和/或对应代谢物的浓度调整到对应于 $5 \times 10^5$ - $10^{13}$ cfu/d的剂量(表示为微生物当量),具体为 $10^8$ - $10^{11}$ cfu/d。

[0098] 本发明用于外用的组合物通常可包含 $10^3$ - $10^{12}$ cfu/g,具体为 $10^5$ - $10^{10}$ cfu/g,且更具体为 $10^7$ - $10^9$ cfu/g的微生物。

[0099] 所述组合物包含代谢物时,组合物中代谢物的量基本对应于由每克载体携带 $10^3$ - $10^{15}$ cfu,具体为 $10^5$ - $10^{15}$ cfu,且更具体为 $10^7$ - $10^{12}$ cfu活体微生物产生的量。

[0100] 将微生物的代谢物或微生物的部分的量以“cfu”表示是为了表示生产所述量的代谢物或部分所需的此微生物的量。

[0101] 本发明的组合物中可包含活体、半活或失活或死亡形式的一种或多种微生物。

[0102] 根据一个具体实施方式,使用这些微生物的活体形式。

[0103] 所述微生物也可以以细胞组分部分的形式或代谢物的形式包含在本发明的组合物中。也可引入冻干粉、培养上清和/或(在合适的情况下)浓缩形式的微生物、代谢物或部分。

[0104] 根据一个变式,所述组合物还可包含二价无机阳离子。

[0105] 在外用组合物的具体情况下,使用这些微生物的失活,乃至死亡形式是有利的。

[0106] 本发明的组合物

[0107] 根据另一个方面,本发明提供了美容用和/或皮肤病用(dermatological)组合物,尤其是外用组合物,其在预防、减少和/或治疗刺激性皮肤病症中特别有用,并且其包含在生理可接受的介质中的至少一种有效量的至少一种益生微生物(特别是乳酸杆菌属和/或双歧杆菌属)、其部分和/或其代谢物,以及有效量的至少一种能够导致皮肤刺激的试剂的组合。

[0108] 因此,本发明的一个方面涉及本发明的微生物在预防和/或减少包含能够导致皮肤刺激的一种或多种化合物的美容用或皮肤病用组合物的刺激作用中的应用。

[0109] 在这些化合物中,特别涉及美容用化合物或活性成份、皮肤病用化合物或活性成份、表面活性剂(特别是阴离子表面活性剂)、防腐剂、洗涤剂、芳香剂(特别是芳香的醇溶液)、溶剂、推进剂及其混合物。

[0110] 可提及的其他刺激剂包括以下:丙酮酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、草酸、丙二酸、琥珀醛、乙酸、龙胆酸、肉桂酸和壬二酸;苯酚;间苯二酚;尿素及其衍生物、来自National Starch的羟乙基脲或Hydrovance<sup>®</sup>;寡聚海藻糖(oligofucoses);茉莉酸及其衍生物;抗坏血酸及其衍生物、三氯乙酸;槐(Saphora japonica)提取物和白藜芦醇(resveratrol)。

[0111] 参与角质细胞桥粒(corneodesmosomes)脱落或分解的酶也能够导致皮肤刺激。

[0112] 可提及的其他刺激剂包括矿物盐螯合剂,例如EDTA;N-酰基-N,N',N' 乙二胺三乙酸;氨基磺酸化合物,更具体地N-2羟乙基哌嗪-N-2-乙磺酸(HEPES);2-氧代噻唑烷-4-羧酸(丙半胱氨酸)衍生物;EP 0852949中所述的甘氨酸型 $\alpha$ -氨基酸的衍生物,以及BASF以商品名Trilon M<sup>®</sup>出售的甲基甘氨酸二乙酸钠;蜂蜜;和糖衍生物,例如O-辛酰基-6-D-麦芽糖、O-亚油烯基-6-D-葡萄糖和N-乙酰葡萄糖胺。

[0113] 类维生素A也是能够导致皮肤刺激的化合物。其包括,例如视黄醇及其酯、视黄醛、视黄酸及其衍生物,例如文献FR-A-2570377、EP-A-0199636、EP-A-0325540和EP-A-0402072

中描述的那些,以及阿达帕林(adapalene)。

[0114] 上述化合物的盐和衍生物,例如顺式或反式、消旋混合物以及右旋或左旋形式也被视为能够导致皮肤刺激的化合物。

[0115] 还可提及以下的能够导致皮肤刺激的其他皮肤病用或美容用活性成份:

[0116] -尿素及其衍生物,例如来自National Starch的羟乙基脲或Hydrovance®;

[0117] -某些维生素,例如维生素D及其衍生物,例如维生素D3、维生素D2、骨化三醇、卡泊三醇(calcipotriol)、他卡西醇(tacalcitol)、24,25-二羟维生素D3、1-羟维生素D2和1,24-二羟维生素D2;维生素B9及其衍生物;

[0118] -过氧化物,例如过氧化苯甲酰和过氧化氢,

[0119] -抗脱发剂,例如米诺迪尔(minoxidil)及其衍生物,例如亚美尼斯(aminexil);

[0120] -染发剂和头发着色剂,例如氨基酚及其衍生物,例如对-亚苯基二胺(p-PDA)、N-苯基p-PDA、甲苯-2,5-二胺硫酸盐、间-亚苯基二胺(m-PDA)、甲苯-3,4-二胺和邻-亚苯基二胺(o-PDA);

[0121] -止汗剂,例如铝盐,如羟基氯化铝;

[0122] -除臭剂;

[0123] -活性烫发剂,例如巯基乙酸盐和氨水;

[0124] -巯基乙酸(thioglycolate)及其盐;

[0125] -苯氧乙醇;

[0126] -1,2-戊二醇;

[0127] -芳香的醇溶液(芳香剂、淡香水(eaux de toilette)、须后水和除臭剂);

[0128] -蒽啉(二羟基蒽酚);

[0129] -蒽醌(anthranoid)(如在文献EP-A-0319028中讨论的那些),

[0130] -锂盐;

[0131] -脱色剂(例如,对苯二酚、高浓度维生素C、曲酸);

[0132] -某些带有加热作用的活性减肥剂;

[0133] -烟碱及其衍生物;

[0134] -辣椒素;

[0135] -活性防虱剂(除虫菊酯);

[0136] -抗增殖剂,例如5-氟尿嘧啶或氨甲蝶呤;

[0137] -抗病毒剂;

[0138] -抗寄生物剂;

[0139] -抗真菌剂;

[0140] -止痒剂;

[0141] -抗皮脂溢剂(antiseborrhoeic agent);

[0142] -某些遮光剂;

[0143] -预着色剂,例如补骨脂素和methylangecilins;

[0144] -及其混合物。

[0145] 防腐剂包括苯氧乙醇、氯己啶和苯扎氯铵(benzalkonium chloride)。

[0146] 表面活性剂包括阴离子、阳离子和两性表面活性剂,更具体地为阴离子表面活性

剂,例如烷基硫酸和烷基醚硫酸,例如十二烷基硫酸和十二烷基醚硫酸及其盐,特别是其钠盐。

[0147] 更为具体相关的化合物选自类维生素A、 $\alpha$ -羟基酸、 $\beta$ -羟基酸、饱和以及不饱和的二羧酸,例如十八烯二羧酸或Uniqema出售的Arlatone DIOC DCA,阴离子、阳离子或两性表面活性剂、n-辛酰基-5-水杨酸、活性止汗剂,例如铝盐、N-2羟乙基哌嗪-N-2-乙磺酸(HEPES)和肉桂酸。

[0148] 本发明的组合物中可包含足以导致皮肤刺激反应的量的能够导致皮肤刺激的化合物。例如,相对于组合物的总重量,其存在量可以是0.0001-70重量%,优选0.01-50重量%,且更优选0.1-30重量%。

[0149] 其它活性剂

[0150] 本发明的微生物也可与至少0.00001重量%-95重量%抗炎剂、其它镇静剂和其混合物。

[0151] “抗炎剂”的实例包括以下:

[0152] -炎性细胞因子的拮抗剂;

[0153] -甾族抗炎药(氢化可的松、倍他米松、地塞米松等);

[0154] -非甾族抗炎药,如阿司匹林或扑热息痛;

[0155] -和其混合物。

[0156] 本发明的“炎性细胞因子的拮抗剂”是指能够抑制一种或多种炎性细胞因子的合成和/或释放的化合物。炎性细胞因子的拮抗剂定义中也包含抑制或阻断这些细胞因子或其受体结合的化合物。

[0157] 具体地,其它镇静剂可以有利地选自尿囊素、 $\beta$ -甘草次酸、含其的提取物(如光果甘草(*Glycyrrhiza glabra*) (甘草)的提取物),和包含其的复合物(如尿囊素/甘草次酸复合物);冻干或非冻干的浮游生物、其提取物和其复合物;花和植物的水和提取物:甘菊水、石灰水、玫瑰水、桦木提取物;红没药醇;精油,如芫荽油;藻类,主要是昆布属(*Laminaria*) (如红藻或褐藻),如褐藻提取物粉团扇藻(*Padina pavonica*),如Alban Muller公司出售的HPS 3粉团扇藻;醋己氨酸和氨甲环酸(4-反-氨基甲基环己烷羧酸);乌索酸和含其的提取物,如迷迭香叶的提取物;含岩藻糖的多糖,如Solabia公司出售的Fucogel 1000;电解液,且更具体为含水混合物,如死海浴盐;氨基酸,如来自Seppic的Sepicalm S和VG,其二价镁盐,如葡萄糖酸镁。

[0158] 根据本发明的一个具体实施方式,抗炎剂选自能够调节角质形成细胞产生细胞因子的藻类提取物,如CODIF公司出售的**Phycosaccharide**<sup>®</sup>、糖昆布(*Laminaria saccharina*)藻的水/乙二醇提取物,特别是SECMA公司出售的**Phlorogine**<sup>®</sup>、真芦荟(*Aloe vera*)的提取物、绢毛榄仁(*Terminalia sericea*)的树皮和根的提取物,或INDENA公司出售的Sericoside 3058500。

[0159] 根据本发明,相对于组合物的总重量,抗炎剂在组合物中优选以0.00001重量%-10重量%的浓度存在。更优选地,相对于组合物的总重量,抗炎化合物的浓度可为0.0005重量%-2重量%。

[0160] 在外用制剂中,可使用的活性亲水剂更具体地包括蛋白质或蛋白质水解产物、氨

基酸、多元醇(特别是C<sub>2</sub>至C<sub>10</sub>多元醇,如甘油、山梨醇、丁二醇和聚乙二醇)、尿素、尿囊素、糖和糖衍生物、水不溶性维生素、淀粉,和细菌或植物提取物,如真芦荟的那些提取物。

[0161] 对于活性亲水剂,可使用视黄醇(维生素A)和其衍生物、生育酚(维生素E)和其衍生物、神经酰胺、精油和未皂化的成分(生育三烯醇、芝麻、 $\gamma$ -谷维素、植物甾醇、角鲨烯、蜡、萜)。

[0162] 也可以有利地包括促进脱落的活性剂,如美容学中有关的活性水合剂,如甘油、透明质酸、尿素和其衍生物,和促进脱落的活性剂,如螯合剂、茉莉酸和其衍生物,特别是ER2412、还原性化合物、磺酸的衍生物和特别是HEPES、氨基酸、AHA和BHA,特别是乙醇酸和ER195,和某些洗涤剂。

[0163] 制剂

[0164] 本发明的组合物可以是对于所选的施用方法可通常获得的任何剂型。

[0165] 根据所用的组合物的类型,载体可以有不同的性质。用于外用的组合物可以为水、水-醇或油性溶液、溶液型分散体或者洗剂或浆液型(*serum type*)分散体、乳型液体或半液体稠度的乳液、霜型混悬剂或乳剂、含水或无水凝胶、微乳剂、微胶囊、微粒,或离子和/或非离子型囊状分散体。

[0166] 这些组合物根据常规方法制备。

[0167] 特别地,这些组合物可构成用于面部、手、脚、主要解剖折痕或身体的清洁、处理或护理霜(如日霜、晚霜、卸妆霜、底霜、防晒霜)、化妆产品,如液体底霜、卸妆乳、身体保护或护理乳、晒后乳、护肤洗剂、凝胶或摩丝,如清洁或消毒洗剂、防晒洗剂、人工晒黑洗剂或洗浴组合物。

[0168] 本发明的组合物也可由构成清洁皂或清洁棒的固体制剂组成。

[0169] 当本发明的组合物为乳剂时,相对于组合物的总重量,脂肪相的比例可为5重量%-80重量%,且优选5重量%-50重量%。乳液形式组合物中所用的油、乳化剂和共乳化剂可选自化妆品和/或皮肤病学领域常用的那些。相对于组合物的总重量,组合物中的乳化剂和共乳化剂可以以0.3重量%-30重量%,优选以0.5重量%-20重量%的比例存在。

[0170] 当本发明的组合物是油性凝胶或溶液时,脂肪相占组合物总重量可高于90%。

[0171] 在已知的方法中,用于外用的制剂也可包括化妆品、制药和/或皮肤病学领域中常用的辅料,如亲水性或亲脂性凝胶剂、亲水性或亲脂性活性剂、防腐剂、抗氧化剂、溶剂、香味剂、填料、掩蔽剂、杀菌剂、吸味剂和着色剂。这些不同辅料的量是所研究领域常用的那些量,例如可以为组合物总重量的0.01%-20%。根据它们的性质,这些辅料可被引入脂肪相和/或水相。

[0172] 作为可用于本发明的脂肪,其可以为矿物油,如氢化的聚异丁烯和液体凡士林,植物油,如牛油树脂、葵花油和杏仁油的液体组分,动物油,如全氢化角鲨烯、人造油,特别是Purcellin油、肉豆蔻酸异丙酯和棕榈酸乙己酯,不饱和脂肪酸和氟代油,如全氟聚醚。也可使用脂肪醇,脂肪酸,例如硬脂酸,以及例如蜡,特别是石蜡、巴西棕榈蜡和蜂蜡。也可使用硅酮化合物,例如硅油,和例如环甲基硅油(*cyclomethicone*)和二甲基硅油,以及硅酮蜡、树脂和胶。

[0173] 作为可用于本发明的乳化剂,可以提及例如硬脂酸甘油酯、聚山梨醇酯60, Henkel公司以商品名Sinnowax AO<sup>®</sup>出售的包含33摩尔环氧乙烷的十六烷基硬脂醇/乙氧基十六

烷基硬脂醇的混合物, Gattefosse公司以商品名 Tefose<sup>®</sup> 63出售的PEG-6/PEG-32/硬脂酸甘油酯的混合物, PPG-3十四烷基醚, 硅酮乳化剂例如十六烷基二甲基硅油共聚多元醇和失水山梨醇单硬脂酸酯或三硬脂酸酯, PEG-40硬脂酸酯, 或乙氧基失水山梨醇单硬脂酸(20E0)。

[0174] 作为可用于本发明溶剂, 可以提及低级醇类, 特别是甲醇和异丙醇, 以及丙二醇。

[0175] 本发明的组合物也可有利地包含泉水和/或矿泉水, 特别是选自Vittel水、来自维希盆地(Vichy basin)的水, 和理肤泉(La Roche-Posay)水。

[0176] 作为亲水凝胶剂, 可以提及羧基聚合物, 例如卡波姆, 丙烯酸共聚物, 例如丙烯酸/烷基丙烯酸酯共聚物、聚丙烯酰胺, 特别是SEPPIC公司以商品名Sepigel 305<sup>®</sup>出售的聚丙烯酰胺、C13-14异链烷烃和Laureth-7的混合物, 多糖, 例如纤维素衍生物, 例如羟烷基纤维素, 特别是羟丙基纤维素和羟乙基纤维素, 天然胶, 例如瓜尔胶、角豆树胶和黄原胶, 以及粘土。

[0177] 作为亲脂凝胶剂, 可以提及改性粘土, 例如膨润土, 脂肪酸的金属盐, 例如硬脂酸铝和疏水性二氧化硅, 或者二乙基纤维素和聚乙烯。

[0178] 在通过口服应用本发明的情况下, 优选使用可吸收的载体。

[0179] 所述可吸收的载体可以具有不同的性质, 这取决于所研究的组合物的类型。

[0180] 因此, 片剂或锭剂、干式的口服补充剂和液状的口服补充剂特别适合用作药物或食物载体。

[0181] 例如, 它们可以是食品增补剂, 其配制可通过特别用于生产糖锭剂、凝胶胶囊、凝胶、乳剂、片剂、胶囊和可控释水凝胶的常规方法进行。

[0182] 特别地, 本发明的微生物可并入到任何其他形式的食品增补剂或强化食品中, 例如压成块的加工食品或压缩或未压缩的粉剂。所述粉末可在水、苏打、乳制品或大豆衍生物中稀释, 或并入压成块的加工食品中。

[0183] 此外, 本发明的微生物可与常用于此类口服组合物或食品增补剂的赋形剂和组分一起配制, 具体而言, 所述组分为在食品领域中常用的脂肪和/或含水组分、保湿剂、增稠剂、防腐剂、结构改进剂、风味增强剂和/或包衣剂、抗氧化剂、防腐剂和染料。

[0184] 用于口服组合物, 特别是食品增补剂中的配制剂(formulating agent)和赋形剂在本领域中是已知的, 在本文中将其不对其进行详细描述。

[0185] 乳、酸乳酪、奶酪、发酵乳、基于乳的发酵产品、冰、基于谷类的产品或基于谷类的发酵产品、基于乳的粉、婴幼儿配方乳、糖果类食品、巧克力或谷类、动物饲料(特别是家养动物饲料)、片剂、凝胶胶囊或锭剂、液体菌悬液、干式口服补充剂和液状口服补充剂特别适合作为药物或食物载体。

[0186] 此外, 本发明的微生物可与通常用于此类口服组合物或食品增补剂的赋形剂和组分一起配制, 具体而言, 所述组分为在食品领域中常用的脂肪和/或含水组分、保湿剂、增稠剂、防腐剂、结构改进剂、风味增强剂和/或包衣剂、抗氧化剂、防腐剂和染料。

[0187] 用于口服组合物, 特别是食品增补剂中的配制剂和赋形剂在本领域中是已知的, 在本文中将其不对其进行详细描述。口服组合物, 特别是食品增补剂的很多实施方式可能用于吸收。其配制通过用于生产糖锭剂、凝胶胶囊、凝胶、用于控释的水凝胶、乳剂、片剂或胶囊的常规方法进行。

[0188] 根据一个具体实施方式,可将本发明所述的辅助微生物配制到封装形式的组合物中,以显著提高其存活时间。在这种情况下,胶囊的存在可特别地延迟或阻止微生物在胃肠道中的分解。

[0189] 特别地,本发明的美容处理方法可通过口服施用和/或外用至少有效量的至少一种本发明的微生物而进行。

[0190] 外用包括根据使用这些组合物的常规技术将本发明的化妆和/或皮肤病用组合物外用于皮肤。

[0191] 举例而言,可通过外用,例如每天外用本发明的例如可配制成乳霜、凝胶、浆液、洗剂、乳液、卸妆乳或晒后组合物的形式的微生物,从而实施本发明的美容方法。

[0192] 本发明的方法可包含单次施用。根据另一个实施方式,可重复施用,例如每天2-3次,共计一天或多天,并通常持续至少4周,乃至1-15周的时间。

[0193] 口服包括以一次或多次服用摄入上述口服组合物。

[0194] 除非另有说明,在以下的说明和实施例中,所述百分比是重量百分比,数值范围包括所述的上限和下限。在配制前将组分在本领域技术人员易于确定的条件下按顺序混合。

[0195] 根据一个变式,所述美容方法包括口服有效量的至少一种本发明微生物的至少一个步骤,以及外用有效量的至少一种本发明微生物或其部分的至少一个步骤。

[0196] 本发明的方法可包含单次施用。

[0197] 根据另一个实施方式,可重复施用,例如每天2-3次,共计一天或多天,并通常持续至少4周,乃至4-15周的时间,其中在适合的情况下具有一个或多个中断期。

[0198] 此外,可设想任选地组合口服或外用形式的治疗,以补充或增强本发明所定义的微生物的活性。

[0199] 因此,本发明还涵盖使用包含本发明微生物的组合物与任选地包含另一种微生物(特别是益生菌,或者死的、活的或半活性形式的其他益生菌)的口服或外用组合物组合用于局部治疗。

[0200] 在成型前,将所述组分在本领域技术人员容易确定的条件下按顺序混合。

[0201] 下文的实施例以本发明领域非限制性的例示方式提供。

[0202] 在这些实施例中,术语“cfu”表示“菌落形成单位”。这是用于定量活体细菌的度量单位。

[0203] 在以下实施例的组合物中使用的副干酪乳杆菌是副干酪乳杆菌ST11 NCC 2461 (CNCM I-2116)。

## 附图说明

[0204] 图1:说明在实施例2结束时,通过共培养仅带有培养基 (Medium) 的体系或添加了副干酪乳杆菌ST11 (ST 11) 的体系,在上清液中测量的IL-8的量。

## 具体实施方式

[0205] 通过实施例的方式对本发明作进一步的说明,但是本发明并不仅仅局限于以下实施例。

[0206] 实施例1

[0207] 用于口服施用的组合物的实施例

[0208] 实施例1a:粉棒 (Powder stick)

[0209]

活性成分	
副干酪乳杆菌ST11	$10^{10}$ cfu
赋形剂	
黄原酸胶	0.8mg
苯甲酸钠	0.2mg
麦芽糊精	qs 30g

[0210] 每天可服用一个粉棒。

[0211] 实施例1b:粉棒

[0212]

活性成分	
副干酪乳杆菌ST11	$10^{10}$ cfu
赋形剂	
黄原酸胶	0.8mg
苯甲酸钠	0.2mg
麦芽糊精	qs 30g

[0213] 每天可服用一个粉棒。

[0214] 实施例1c:胶囊

[0215]

活性成分	mg/胶囊
约氏乳杆菌	$10^8$ cfu
维生素C	60
硬脂酸镁	0.02

[0216] 这些胶囊每天可服用一至三个。

[0217] 实施例1d:糖锭剂 (dragee formulation)

[0218]

活性成分	mg/糖锭
副干酪乳杆菌 ST11	$5 \times 10^8$ cfu
长双歧杆菌	$5 \times 10^8$ cfu
<b>锭芯赋形剂(dragee core excipient)</b>	
微晶纤维素	70
Encompress™	60
硬脂酸镁	3
无水胶态二氧化硅	1
<b>包衣剂</b>	
紫胶(Shellac)	5
滑石	61
蔗糖	250

[0219]

聚维酮	6
二氧化钛	0.3
着色剂	5

[0220] 此类型糖锭可每天服用1至3次。

[0221] 实施例1e:糖锭剂

[0222]

活性成分	mg/糖锭
副干酪乳杆菌ST11	$10^9$ cfu
约氏乳杆菌	$10^9$ cfu
<b>锭芯赋形剂</b>	
微晶纤维素	70
Encompress™	60
硬脂酸镁	3
无水胶态二氧化硅	1
<b>包衣剂</b>	
紫胶	5
滑石	61
蔗糖	250
聚维酮	6
二氧化钛	0.3

		着色剂	5
[0223]	此类型糖锭可每天服用1至3次。		
[0224]	<u>外用组合物的实施例</u>		
[0225]	<u>实施例1f:面部洗剂</u>		
			(重量%)
	副干酪乳杆菌 ST11 粉		5.00
	约氏乳杆菌粉		5.00
[0226]	抗氧化剂		0.05
	异丙醇		40.0
	防腐剂		0.30
	水		qs 100%
[0227]	<u>实施例1g:面部护理凝胶</u>		
			(重量%)
	副干酪乳杆菌 ST11 粉		5.00
	羟丙基纤维素		1.00
	(Hercules 公司出售的 Klucel H <sup>®</sup> )		
[0228]	维生素 E		2.50
	异丙醇		40.00
	防腐剂		0.30
	水		qs 100%
[0229]	<u>实施例1h:面部护理乳</u>		

		(重量%)
	副干酪乳杆菌 ST11 粉	5.00
	硬脂酸甘油酯	1.00
	具有 3 摩尔 EO 的十六烷基硬脂醇/乙氧基化的十六烷基硬脂醇(Henkel 公司出售的 Sinnovax AO <sup>®</sup> )	3.00
	十六醇	1.00
[0230]	二甲基硅油(Dimethicone) (Dow Corning 公司出售的 DC 200 Fluid <sup>®</sup> )	1.00
	液体凡士林(Liquid petrolatum)	6.00
	肉豆蔻酸异丙酯 (Uniqema 公司销售的 Estol IPM 1514 <sup>®</sup> )	3.00
	甘油	20.00
	防腐剂	0.30
	水	qs 100%
[0231]	<u>实施例1i:面部护理霜</u>	
		(重量%)
	副干酪乳杆菌 ST11 粉	5.00
	甘油	2.0%
[0232]	线状透明颤菌 ( <i>Vitreoscilla filiformis</i> ) 提取物	3.0%
	BHT	0.05%
	甲基 POB	0.1%
	丙基 POB	0.05%
	水	qs 100%
[0233]	<u>实施例1j:面部护理凝胶</u>	
		(重量%)
	副干酪乳杆菌 ST11 粉	5.00
	线状透明颤菌提取物	3.00
	抗氧化剂	0.05
[0234]	维生素 C	2.50
	抗氧化剂	0.05
	异丙醇	40.00
	防腐剂	0.30
	水	qs 100.00%
[0235]	<u>实施例2</u>	

[0236] 将肠细胞系CaCO-2以 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔的比例在10.5mm的插入式小室(insert)(Becton Dickinson)上培养。随后将这些插入式小室置于12孔板(Nunc)中培养。随后在37℃下将这些细胞在10%CO<sub>2</sub>和补充有10%FCS和0.1%青霉素/链霉素(10000IU/ml,Gibco BRL)的DMEM中培养21天。

[0237] 通过Ficoll-Hypaque 1077柱(Pharmacia)离心从血袋的血沉棕黄层(buffy coat)中纯化出人外周血单核细胞(白细胞),并随后重悬于补充有人AB血清(Gibco BRL)的完全RPMI培养基中。随后,当底侧室中的Transwell培养物显示出CaCO-2细胞的汇合层时(其预先已用其培养基清洗),将白细胞( $2 \times 10^6$ 细胞/ml)加入到Transwell培养物的底侧室中。

[0238] 通过向单层上皮细胞(CaCO-2)的顶表面添加 $1 \times 10^7$ cfu/ml益生菌来刺激由此建立的共培养物。随后将此体系在37℃/5%CO<sub>2</sub>下培养16小时。

[0239] 为了预防细菌生长,在培养4小时后向培养基中加入150μg/ml庆大霉素(图1)。

[0240] 在培养结束时(16小时),取出位于底侧室中的培养基以用于测试。

[0241] 第一次分析系列包括分析炎性或免疫调节性标记物(IL-8、TGF-β)的存在。

[0242] 图1说明了在益生菌副干酪乳杆菌刺激的共培养物的培养基中产生的促炎症标记物IL-8的测量。

[0243] 相对于没有益生菌刺激的培养基对照,在副干酪乳杆菌ST11刺激的培养基中未观察到IL-8的显著增加。

[0244] 这些结果证明所选的益生菌的非促炎症性质。此外,在此体系中检测到高水平的TGF-β表达。

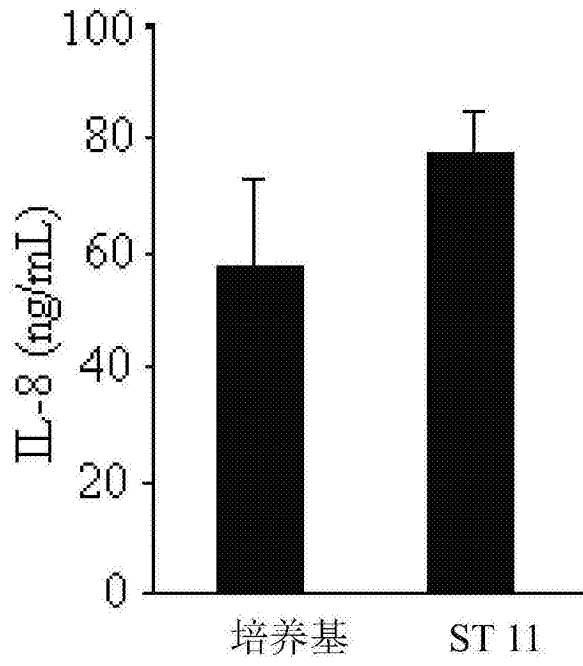


图1