

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

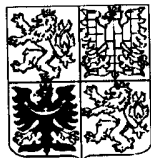
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3847-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **01. 04. 98**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **04.04.97**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **97/832821**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 04. 99**
(Věstník č. 4/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/06468**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/44926**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K	31/47
A 61 K	31/165
A 61 K	31/11
A 61 K	31/12
A 61 K	35/78
A 61 K	7/26
A 61 K	7/16

(71) Přihlášovatel:

OPTIVA CORP., Bellevue, WA, US;

(72) Původce:

Iyer Lokanathan M., Edmonds, WA, US;

Scott James R., Bothell, WA, US;

Whitfield Douglas F., Bothell, WA, US;

(74) Zástupce:

Kalenský Petr JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antimikrobiální kompozice

(57) Anotace:

Jsou popisovány antimikrobiální kompozice, obsahující nejméně dvě antimikrobiální činidla, které se vyznačují nižšími hodnotami MIC ve srovnání s hodnotami MIC činidel, tvořících kompozici, pokud jsou hodnoty MIC měřeny za použití jich samotných. Kompozice jsou použitelné jako terapeutická činidla jako je tomu v případě produktů pro hygienu úst.

CZ 3847-98 A3

04.12.98

3847-98

ANTIMIKROBIÁLNÍ KOMPOZICE

Oblast techniky

Předmětem vynálezu jsou antimikrobiální kompozice, produkty, obsahující takové kompozice a použití antimikrobiálních kompozic.

Dosavadní stav techniky

Onemocnění paradentosou a zubní kazy jsou na celém světě hlavním bodem péče o zdraví, i ekonomickým problémem. Nyní je dobře známo, že obě tato ústní onemocnění jsou způsobena bakteriemi, které rostou ve velkém počtu na zubech a v prostoru dásní. Obvykle používaným názvem pro tyto bakteriální útvary jest "zubní destičky". V případě onemocnění paradentosou popisuje Schluger a spol., viz Schluger, Yuodelis, Page a Johnson "Periodontal Diseases", 2.vyd., str. 153-262, (Lea a Febiger, 1990) situaci tak, že bakterie krevních destiček, rostoucí v oblasti, kde se setkávají zuby a dásňová tkáň, způsobují zánět dásně, označovaný jako "gingivitis". Je charakterizován otokem a edémem dásní, které rudnou a blednou snadno. Je-li odstraňování destiček nedostačující, může gingivitis přejít do stavu paradentosy nebo paradentosového onemocnění u četných jednotlivců. Paradentosa obecně je charakterizována jako chronický zánět tkání v okolí zubů, který je spojen s resorpcí podpůrné kosti. Onemocnění paradentosou vede často u dospělých ke ztrátě zubů. Zubní kaz (kariés) je také způsobován bakteriemi, z nichž *Streptococcus mutans* je hlavním etiologickým činitelem, viz McGhee, Michalek a Cassell, "Dental Microbiology", str. 279, Harper a Row, 1982.

Prevence tvorby zubních destiček nebo jejich odstranění je již dlouho středem pozornosti s konečným cílem inhibovat jak zubní kazy tak i onemocnění paradentosou. Zatím co lze inhibovat tvorbu zubních destiček do jisté míry čistěním zubů v častých

časových odstupech, není takové čištění gubů dostačující k účinné prevenci tvorby zubních destiček, nebo k odstranění v podstatě všech destiček, jak se na zubech vytvořily. Protože čištění zubů je často nedostačující při prevenci zubního kazu nebo onemocnění paradentosou, což je důsledkem činnosti patogenních bakterií, byly zde navrženy chemické postupy za použití antibakteriálních látek, jako jsou chlorhexidin, benzalkoniumchlorid a cetylpyridiniumchlorid.

Použití přírodních produktů k ošetření zubů a gumovitých nánosů na nich je na tomto úseku dlouho známo, v praxi je to dokládáno od let 1880 atd. Od té doby se v četných patentových spisech popisují kompozice pro orální produkty, obsahující extrakty z přírodních látek.

Je známo, že hinokitiol, citral, geraniol, kokamidopropylbetain, bernerin a olej z jalovce se vyznačují co jednotlivé látky antimikrobiálními vlastnostmi proti určitým bakteriím.

US patentový spis 3 940 476 popisuje postup inhibování tvorby zubních destiček, záležející v topickém nanášení aktivní složky na zuby, a to buď jedné látky, nebo kombinace z

- a) allylisothiokynátu
- b) uraninu,
- c) obtusastyrenu,
- d) citralu,
- e) citronelolu,
- f) nerolu, nebo
- g) geraniolu.

US patentový spis 4 913 895 popisuje orální kompozici, obsahující lineární nebo cyklický polyfosfát a menthol, anethol nebo jejich směsi ve vodném prostředí. Uvádí se, že kompozice má antibakteriální účinky a její použití je spojeno s prevencí vývoje ztvrdlin a onemocnění paradentosou.

US patentový spis 4 966 754 uvádí, že některé etherické oleje a jejich kombinace se vyznačují antimikrobiálními vlastnostmi proti *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*, a jsou proto použitelné jako ochranné prostředky v kosmetických přípravcích. Je popsáno, že směs 14 etherických olejů zajišťuje potřebné antimikrobiální vlastnosti s přihlédnutím k uvedeným mikroorganismům. Uvádí se,

že popsaná kombinace je právě vhodná jako ochranná přísada do kosmetických kompozicí.

US patentový spis 4 999 184 popisuje olejovité kompozice, obsahující některé soli kyseliny pyrofosforečné s tím, že toto je spojeno s blahodárným účinkem proti ztvrdlinám.

US patentový spis 5 316 760 popisuje produkt pro péči o ústní dutinu, který obsahuje kombinaci extraktů z kopřivy (*Urtica dioica*) a jalovce (*Juniperus communis*). Popisuje se, že kombinace těchto extraktů je spojena se synergickou redukcí jak tvorby zubních destiček, tak i krvácení či zánětů dásní. Extrakt z řebříčku (*Achillaea millefolium*) se rovněž popisuje jako vhodná přísada do kombinace uvedených extraktů z kopřivy a jalovce.

US patentový spis 5 472 684 popisuje kompozici, obsahující thymol a eugenol a případně seskviterpenický alkohol, jako je farnesol, jež se dle většího počtu zjištění vyznačuje účinkem proti zubním destičkám i gingivitis. Olej z australského čajovníku, šalvěže a eukalyptol jsou rovněž popisovány jako látky působící proti tvorbě zubních destiček a gingivitis, to v případě ústních vod, připravených přidáním uvedených složek.

Jednou z vlastností, jež charakterizuje účinnost antibakteriálního činidla s přihlédnutím k účinkům proti zubním destičkám a otokům či ztvrdlinám je minimální inhibiční koncentrace, tedy MIC činidla. Je to minimální koncentrace v mikrogramech na mililitr antibakteriálního činidla, kdy již nelze pozorovat růst bakterie. Za koncentrací pod hodnotou MIC je antibakteriální činidlo neúčinné při usmrcení nebo inhibování růstu a reprodukce bakterie. Při koncentracích nad hodnotou MIC je antibakteriální činidlo účinné při usmrcení nebo inhibování růstu a reprodukce bakterie.

Typicky se antibakteriální činidlo zavádí do ústního prostoru za počáteční koncentrace. Téměř bezprostředně začíná počáteční koncentrace klesat v důsledku dynamických vlastností ústní dutiny. Případně i koncentrace antimikrobiálního činidla v ústní dutině klesne pod hodnotu MIC. Takže cílem všech, kteří se zabývají vývinem přípravků proti destičkám a ztvrdlinám je použití antimikrobiálních činidel s nízkou hodnotou MIC.

Hodnota MIC chlorhexidinu je asi 1 µg/ml a je to standartní látka, proti které se měří další antimikrobiální činidla. Ačkoliv chlorhexidin má vhodnou hodnotu MIC, vyznačuje se nežádoucí chutí a má také nevhodné účinky na zbarvování zubů.

Podstata vynálezu

Vynález se týká současného zjištění, že přidání jednoho z antimikrobiálních činidel, popisovaných zde dále, k jinému antimikrobiálnímu činidlu, popisovanému zde dále, vyústí v neočekávané a překvapující redukci hodnoty MIC nejméně jednoho z použitých činidel při stanovování hodnoty MIC v kombinaci, to je za přítomnosti dalšího činidla. Jinými slovy hodnota MIC složky A, zjišťuje-li se za přítomnosti složky B, je nižší než hodnota MIC samotné složky A, to je tedy za nepřítomnosti složky B. Tedy v kombinaci se složkou B je antimikrobiální činidlo A schopno účinně inhibovat růst bakterií, nebo mu předcházet za koncentrací nižších, než jak by tomu bylo při měření hodnoty MIC samotného činidla A. Jestliže v kombinaci činidel A a B se sníží hodnota MIC činidla B na hodnotu nižší, než přináležejí samotné složce B, je antimikrobiální činidlo B účinné při inhibování nebo prevenci růstu bakterií za koncentrace hodnoty MIC, jež je nižší než hodnota MIC činidla B jako takového. Řečeno jinými slovy: použijí-li se činidla A a B v kombinaci, pak nejméně jedno z těchto činidel je schopno inhibovat nebo předcházet růstu bakterií za koncentrace nižší, než je koncentrace, nutná k inhibování nebo prevenci růstu bakterií, použije-li se v přípravku pouze jedno z uvedených činidel.

Kompozice k inhibování růstu bakterií, připravované dle tohoto vynálezu, obsahují antimikrobiální činidla A a B v množství, dostačujících k inhibování růstu bakterií, přičemž činidla A a B jsou zvolena ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, kokamidopropyl dimethylglycin, extrakt z třezalky (*Glycyrrhiza glabra*), hinokitiol, bazilkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazilkový citronový olej, citronový olej, a olej z rozmyrýnu (*Rosmarinus officinalis*). Další kompozice k inhibování růstu bakterií, připra-

vované ve shodě s tímto vynálezem, obsahují geraniol a antibakteriální činidla ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citronelový olej, kokamidopropyl dimethylglycin, extrakt z třezalky (*Glycyrrhiza glabra*), hinokitiol, bazilkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazilkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*).

Ve shodě s tímto vynálezem je hodnota MIC činidla A za přítomnosti činidla B nižší, než je hodnota MIC činidla A samotného. Dále pak s výhodou je hodnota MIC činidla B za přítomnosti činidla A nižší, než je hodnota MIC činidla B samotného. Kompozice dle tohoto vynálezu jsou účinné při inhibování nebo prevenci růstu bakterií, jako jsou *Actinomyces viscosus*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis*.

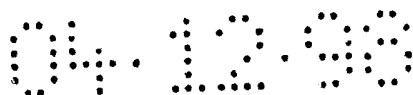
Dále pak kompozice dle tohoto vynálezu mohou obsahovat třetí antimikrobiální činidlo, jiné než je A či B, a zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, kokamidopropyl dimethylglycin, geraniol, extrakt z třezalky (*Glycyrrhiza glabra*), hinokitiol, bazilkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazilkový citronový olej, citronový olej, a olej z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*).

Kompozice, připravené ve shodě s tímto vynálezem, jsou použitelné v případě čtených produktů, jako jsou kartáčky na zuby, kepsníky a předměty farmaceutické a orální hygieny. Do poslední skupiny patří zubní pasty a ústní výplachy.

Kompozice pro inhibování růstu bakterií, připravované dle tohoto vynálezu, se mohou použít stykem předmětného povrchu s kompozicí,

Podstata vynálezu

Na vyobr.1 je schema ředění kombinace tří antimikrobiálních činidel A, B a C na destičce s 96 žlábků.



Podrobný popis výhodného provedení:

Při použití zde dále mají tyto termíny dále uvedené významy:

Berberin je 5,6-dihydro-9,10-dimethoxybenzo[β]-1,3-benzodioxolo[5,6- a]chinoliziniová báze nebo odpovídající sůl. Berberin je alkaloid, izolovaný z vodítky (*Hydrastis canadensis*) a dalších jiných rostlin čeledi dřišťálovité (*Berberidaceae*). Jako příkladné soli berberinu lze jmenovat odpovídající hydrochlorid, bisulfát i sulfát. Číslo CAS (Chemical Abstract Service Registry) berberinu je 84603-60-1.

Olej z cedrového dřeva se týká těkavých podílů jako olejovitých extraktů z zvrdeho dřeva jašowce (*Juniperus virginiana* nebo *Juniperus ashei*). Složkami oleje jako celku jsou thujopsen, cedrol, α -kopaen, α -cedren, β -cedren a widdrol. CAS označení oleje z cedrového dřeva je 8000-27-9.

Chloramfenikol je 2,2-dichlor-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-(4-nitrofenyl)-ethyl]-acetamid. Dá se získat z *Streptomyces venezuelae* nebo přímo syntézou. CAS-číslo: 56-75-7.

Citral je 3,7-dimethyl-2,6-oktadienal. Je to těkavý olej z *Cymbopogon citratus* a *Cymbopogon Flexuosus* (*Gramineae*). V čistí formě je běžně obchodně dostupný, CAS-číslo: 5392.40-5.

Citronelový olej je běžně dostupný olej, získaný destilací dvo u zdrojů: *Cymbopogon nardus* nebo *Cymbopogon winterianus*. CAS-číslo: 8000-29-1.

Geraniol je trans-3,7-dimethyl-2,6-oktadien-1-ol. CAS-číslo: 106-24-1. Geraniol je složkou četných etherických olejů, jako je citronelový, citronový, růžový a palmarosový.

N-Kokamidopropyldimethylglycin má CAS-číslo 61789-40-0, 83138-0-3 a 86438-79-1.

Extrakt z lékořice (*Glycyrrhiza glabra*), též jako extrakt z kořenů lékořice je surový práškový extrakt z uvedeného zdroje, ale jsou i jiné varianty, jako je *G. typica* a *G. grandulifera*. Extrakt obsahuje jako složky kyseliny glycyrrhizovou a glycyrrhetinovou. Extrakt jako takový je obchodně dostupný, nebo se dá pořídit extrakcí rozpouštědlem, jako je ethanol, viz dále.



Hinokitiol je β -thujuplicin, to je extrakt z *Thuja plicata*.

Bazilkový olej ze šťavnatých plodů je extrakt ze zvolené varianty bazalky se složkou ze šťavnatého plodu. V podstatě jde o bazalku *Ocimum Basilicum*.

Olej z bobulek jalovce je těkavý olejovitý extrakt z bobulek jalovce, získaný z usušených plodů *Juniperus communis* (Cupressaceae). Je rovněž znám pod jinými označeními, CAS-číslo 84603-69-0.

Citronový bazalkový olej je těkavý olejovitý extrakt ze zvolené bazalky s citralovou složkou. Jde o extrakt z *Ocimum basilicum* s vysokým obsahem citralu.

Citronový olej je těkavý olejovitý extrakt z čerstvých slupek citroníku (*Citrus limen*), je znám též pod jinými jmény, CAS-číslo 8008-56-8.

Rozmarýnový olej je veškerý olejovitý extrakt z kvetoucího rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*), rovněž znám pod jinými označeními, CAS-číslo 84604-14-8.

Další informace o etherických olejích, jak jsou zde popisovány výše, viz Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4.vyd., sv.7, str.603-674, Joehn Wiley and Sons, Inc.

Všechny uvedené zdroje jsou obchodně dostupné.

Minimální inhibiční koncentrace, též MIC je minimální koncentrace antimikrobiálního činidla v mikrogramech na mililitr, kdy již nelze pozorovat růst bakterie. Za koncentrací pod hodnotou MIC je antimikrobiální činidlo neúčinné z hlediska usmrcení bakterie, či inhibování jejího růstu a reprodukce. Za koncentrací nad hodnotou MIC antimikrobiální činidlo je účinné z hlediska usmrcení bakterie či inhibování jejího růstu či reprodukce.

Bylo pozorováno, že kombinace antimikrobiálních činidel, připravených ve shodě s tímto vynálezem, se vyznačují překvapujícím a neočekávaně vysokým poklesem hodnoty MIC za použití jednoho, s výhodou však všech antimikrobiálních činidel v kombinaci ve srovnání s hodnotou MIC specifického činidla samotného, jak je použito v kombinaci, tj. za nepřítomnosti dalších činidel.

Toto překvapující snížení hodnoty MIC bylo pozorováno v případě reprezentativních gram-pozitivních i gram-negativních orálních pathogenních bakterií, jako jsou *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* a *Campylobacter rectus*. Tak například je-li hodnota MIC činidla A 10 a činidla B samotného 20, pak ve shodě s tímto vynálezem, kombinuje-li se činidlo A a B, sníží se hodnota MIC činidla A za přítomnosti činidla B ve srovnání s hodnotou MIC samotného činidla A neočekávaně a překvapivě. Dále pak s výhodou hodnota MIC činidla B za přítomnosti činidla A klesne ve srovnání s hodnotou samotného činidla B rovněž překvapivě a neočekávaně. Toto snížení hodnoty MIC činidel A a B v kombinaci přechází ve schopnost činidla A a s výhodou činidla B inhibovat a/nebo předcházet růstu a reprodukci bakterie za nižších koncentrací antimikrobiálních činidel A a B ve srovnání s tím, je-li antimikrobiální činidlo A použito samotné, nebo antimikrobiální činidlo B rovněž tak. Jak je to popsáno již ve statii podstaty vynálezu, koncentrace antimikrobiálních činidel klesají ve srovnání s dobou, kdy byla původně použita. Takže účinným snížením hodnoty MIC antimikrobiálního činidla se doba, během které se dá očekávat, že antimikrobiální činidlo bude účinné při inhibování nebo prevenci růstu bakterie, prodlouží. Překvapivé a neočekávané výsledky ve spojitosti s tímto vynálezem budou ještě podrobněji popsány dále a doloženy přípojenými příklady.

Kombinování antimikrobiálních činidel ve shodě s tímto vynálezem zahrnuje tyto možnosti: spojí se

1) Antimikrobiální činidlo ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, kokamidopropyldimethylglycin, extrakt z třezalky, hinokitiol, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu

2) Antimikrobiální činidlo B, lišící se od antimikrobiálního činidla A dle téhož seznamu. Dále pak kombinace

připravená ve shodě s tímto vynálezem obsahuje geraniol a antimikrobiální činidlo, zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citrónový olej, kokamidopropyl dimethylglycin, extrakt z třezalky, hinokitiol, bazalkový olej ze štávnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citrónový olej, citrónový olej a olej z rozmarýnu.

Z četných kombinací antimikrobiálních činidel, uvedených zde výše, obsahují výhodné kombinace olej z cedrového dřeva a antimikrobiální činidlo ze skupiny, kterou tvoří berberin, chloramfenikol, citral, kokamidodimethylglycin, geraniol, extrakt z třezalky, hinokitiol, bazalkový olej ze štávnatých plodů a olej z rozmarýnu. Nejvýhodnější jsou kombinace oleje z cedrového dřeva s berberinem, chloramfenikolem, citralem, kokamidopropyl dimethylglycinem, geraniolem, a extraktem z třezalky.

Další výhodná sestava kombinací zahrnuje berberin a antimikrobiální činidlo zvolené z chloramfenikolu, citralu, geraniolu, extraktu z třezalky, hinokitiolu, bazalkového oleje ze štávnatých plodů, oleje z bobulek jalovce, a bazalkového citrónového oleje. Nejvýhodnějšími složkami pro kombinování s berberinem jsou chloramfenikol, geraniol, extrakt z třezalky a bazalkový citrónový olej.

Další výhodné kombinace zahrnují hinokitiol spolu s chloramfenikolem, citralem, kokamidopropyl dimethylglycinem, geraniolem, extraktem z třezalky, olejem z bobulek jalovce, a bazalkovým citrónovým olejem. Nejvýhodnější z kombinací s hinokitiolem je použití antimikrobiálního činidla ze skupiny chloramfenikol, kokamidopropyl dimethylglycin, geraniol a extrakt z třezalky.

Významné výsledky se docilují, kombinuje-li se extrakt z třezalky s antimikrobiálním činidlem ze skupiny, kterou tvoří olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, geraniol, bazalkový olej ze štávnatého ovoce, olej z bobulek jalovce, bazalkový citrónový olej, citrónový olej a olej z rozmarýnu. Nejvýhodnější z hlediska kombinování s extraktem z třezalky je použití antimikrobiálního činidla ze skupiny olej z cedrového dřeva, geraniol, olej z bobulek jalovce a olej z rozmarýnu.

Právě uvedené kombinace uvedených antibakteriálních činidel jsou výhodné a nejvýhodnější proto, že

1) stupeň, na který se sníží hodnota MIC individuálního antibakteriálního činidla v kombinaci se sníží ve srovnání s hodnotou MIC uvedených činidel, jsou-li vyhodnocována jako taková,

2) hodnota MIC individuálních antibakteriálních činidel je dosažena kombinováním takových činidel.

Navíc ke kompozicím, které obsahují dvě antimikrobiální činidla, jak jsou popisována zde výše, týká se tento vynález i kompozic, obsahujících více než dvě, tedy tři či čtyři antimikrobiální činidla, kdy hodnota MIC nejméně jednoho, ale s výhodou všech složek jako činidel v kombinaci se sníží ve srovnání s hodnotami MIC takových složek, pokud jsou hodnoceny jednotlivě samotné. Podle toho antimikrobiální činidlo C, zvolené ze skupin, jak jsou uvedeny zde výše, kdy se činidlo C liší od činidel A a B, se může přidat k činidlu A a B za vzniku tříslučkové kompozice dle tohoto vynálezu. Kombinováním antimikrobiálních činidel A, B a C se získají kompozice dle tohoto vynálezu, kde hodnota MIC nejméně jedné složky, ale s výhodou všech složek je nižší ve srovnání s hodnotami MIC těchto složek, použitých jako takové. Dále pak v některých případech se hodnota MIC složek kombinace tří antimikrobiálních činidel sníží ve srovnání s hodnotou MIC jakéhokoli párování těchto tří složek.

Poměr antimikrobiálních činidel v kompozicích dle tohoto vynálezu není omezován na žádnou hodnotu za předpokladu, že se tím dosáhne snížení hodnoty MIC složek v kombinaci, jak je to popisováno výše. Poměr dvou složek v kompozici může kolísat od asi 500 : 1 do asi 1 : 500 a bylo vždy pozorováno překvapující a neočekávané snížení hodnot MIC. V tříslučkové soustavě může poměr jednoho činidla k dalším dvěma kolísat od asi 500 : 1 do asi 1 : 500, to za předpokladu, že se tím dosáhne snížení hodnoty MIC ve shodě s tímto vynálezem.

Případná množství antimikrobiálního činidla v kompozicích dle tohoto vynálezu nejsou jakkoli omezována na nějakou hodnotu, to za předpokladu, že množství je dostačující k účinnému

pozdržení růstu bakterií a/nebo dostačující k prevenci růstu bakterií. To znamená v množství, jež je větší, než hodnota MIC individuálního činidla se zřetelem na tu či onu bakterii. Pokud se kompozice dle tohoto vynálezu přidávají do různých nosičů, pak se množství antimikrobiálního činidla volí s výhodou tak, že je-li kompozice nanesena či použita, je koncentrace antimikrobiálního činidla vyšší, než by odpovídalo hodnotě MIC antimikrobiálního činidla se zřetelem na tu či onu bakterii. Vhodná množství kolísají hmotnostně od asi 0,001% do asi 5,0%, s výhodou od asi 0,01% do asi 2,5% každého činidla, ořepočteno na celkovou hmotnost kompozice, obsahující činidlo.

Kompozice, připravované ve shodě s tímto vynálezem, se nanášejí na povrchy, kde je žádoucí inhibování růstu bakterií. Jako příklady produktů, použitých ke kontrole růstu bakterií, lze jmenovat čističe, vatičky, farmaceutické prostředky a s výhodou terapeutické prostředky, jako jsou produkty ústní hygieny, čítaje v to zubní pasty, ústní vody a výplachy úst. Složky těchto produktů, které se kombinují s kompozicemi dle tohoto vynálezu, se s výhodou volí tak, že nemají antagonický účinek na snížení hodnoty MIC kompozice, připravené ve shodě s postupem dle tohoto vynálezu.

Zubní pasty a prášky jsou obvykle zhuštěnou zvěti oděrných leštících materiálů ve vodném zvlhčovacím prostředí. Typicky obsahují zubné pasty oděrné činidlo k odstranění zbarvujících nánosů, zvlhčovací prostředek, umožňující přidání příchutě či vůně, zhušťovačlo či zhušťovačla, upravující strukturu a stabilitu zubní pasty, povrchově aktivní látky k vytvoření pěny během použití, fluoridy, předcházející vzniku kazu, a příchutě či vůni, zpříjemňující použití produktu.

K použití v zubních pastách jsou dostupné četné oděrné látky, například xerogel oxidu křemičitého, vysrážený oxid křemičitý, dikalciumfosfát, dihydrát dikalciumfosfátu, trihydrát oxidu hlinitého, vápenatá sůl kyseliny pyrofosforečné, uhličitán vápenatý a nerozpustná sodná sůl kyseliny metafosforečné.

Jako příklady vhodných zvlhčovadel lze uvést sorbitol, glycerol a polyethylenglykoly.

Aerogely oxidu křemičitého, pyrogenní oxid křemičitý, vysrážený oxid křemičitý, karboxymethylcelulosa, karboxyvinylkové polymery, xanthanová guma a karrageenan jsou příklady materiálů, použitelných jako zhušťovačla.

Jako příklady povrchově aktivních látek lze uvést sodnou sůl kyseliny laurylsírové a kyselinu dodecylbenzensulfonovou či její soli.

Pokud se příchutěových činidel a vůní týká, jsou běžně dostupné četné látky, jimiž lze docílit vůni máty peprné či niného typu, jako je třeba vůně skořice.

Orálními výplachy či ústními vodami jsou obvykle vodné, pohyblivé emulze vonících složek, do kterých se přidává v největším počtu případů antimikrobiální činidlo. Typické kompozice pro orální výplachy obsahují voňavé látky, aby se produkt používal s potěšením, se zdůrazněním jeho terapeutických vlastností, ba i osvěžení, přičemž povrchově aktivní složka či složky udržují vůni ve stabilní disperzi, zvlhčovadla napomáhají vhodnému pocitu v ústech a často se přidává povrchově aktivní látka, aby došlo k mírnému napěnění při orálním výplachu.

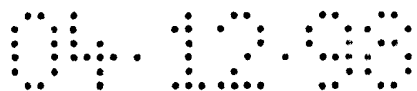
Zubní pasty a ústní vodičky obsahují kompozice dle tohoto vynálezu k inhibování růstu bakterií a připravují se obvyklými způsoby s tím, že antimikrobiální činidlo je tamže v množství vyšším, než je jeho hodnota MIC, jak to bylo stanoveno pro takovou kombinaci.

Další příklady dokládají a popisují překvapující a neočekávané snížení hodnot MIC složek, jsou-li kombinovány v kompozicích pro inhibování růstu bakterií ve shodě s tímto vynálezem.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Stanovení minimální inhibiční koncentrace
individuálních činidel a dvou antimikrobiálních
činidel v kombinaci.



Tento příklad popisuje stanovení hodnoty MIC individuálních antimikrobiálních činidel, která se kombinují za vzniku kompozice dle tohoto vynálezu a také popisuje, jak se stanovuje hodnota MIC antimikrobiálních činidel v kombinaci.

Použije se mikrotitrační destička k ředění antimikrobiálních činidel na různé koncentrace se zřetelem na stanovení hodnoty MIC takových antimikrobiálních činidel samotných i v kombinaci za vzniku kompozice dle tohoto vynálezu.

Kultura bakterie se inkubuje při 37° C Před ředěním antimikrobiálního činidla, jak je to popisováno zde dále, se kultura bakterie zhlukne při 2000 otáčkách za minutu za tvorby pelety s následující re suspenzací roztoku v pufrovaném fosfátu. Inokulum se normalizuje spektrometrem na optickou hustotu při 550 nm mezi 0,180 až 0,220 (ekvivalent $5,0 \cdot 10^7$ jednotek tvořících kolonii, tedy "CFU" na mililitr. Inokulum se dá stranou až do skončení ředění antimikrobiálního činidla.

K ředění kombinací antimikrobiálního činidla A s antimikrobiálním činidlem B se použije sterilní polysterenová deska s 96 žlábků. Za použití aseptického postupu se vnese do každého žlábků 100 mikrolitrů destilované vody. Schema ředění antimikrobiálního činidla se rozdělí na dvě části, první je ředění činidla A a druhou je ředění činidla B. Do prvního žlábků každé kolony se umístí 100 mikrolitrů zásobního roztoku pro činidlo A. Odpovídá to polovičnímu ředění na základě koncentrace zásobního roztoku. 100 mikrolitrů se přenesou do dalšího žlábků a tak stále dále. Každý přenos znamená poloviční zředění koncentrace z předchozího žlábků. Potom se přidá do prvního žlábků 100 mikrolitrů zásobního roztoku činidla B s následným ředěním po desce ytejným způsobem, jako v případě činidla A. Po skončeném ředění činidla B se přidá do každého žlábků 80 mikrolitrů růstového prostředí, specifického pro každou sledovanou bakterii.

Do první kolony destičky se v první žlábků umístí 100 mikrolitrů zásobního roztoku činidla A, 100 mikrolitrů se přenesou do dalšího žlábků a tak dále po všech žlábků kolony. Každý přenos znamená poloviční zředění předcházejícího žlábků

z hlediska koncentrace činidla A. Předchozí postup se opakuje na jiné koloně za použití činidla B. Tyto dvě kolony se využijí ke zjištění a stanovení koncentrace MIC činidla A a činidla B, vždy samotného. Po skončení ředění samotných činidel A a B se nanese do každého žlábků obou dvou kolon 80 mikrolitrů růstového prostředí, specifického pro studovanou bakterii.

Do každého žlábků se vnese 20 mikrolitrů inokula. Výsledkem je, že koncentrace v prvním žlábků odpovídá čtvrtině koncentrace zásobního roztoku. Zbývající žlábků znamenají vždy poloviční zředění z předchozího žlábků při přenosu. Deska s 96 žlábků se inkubuje za podmínek, které se mění se zřetelem na ten který mikroorganismus. Aerobní bakterie *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis* byly inkubovány za teploty místnosti, anaerobní bakterie *Fusobacterium nucleatum* a *Porphyromonas gingivalis* byly inkubovány v atmosféře 10% vodíku, 5 % oxidu uhličitého, zbytek byl plynný dusík.

Za 48 hodin inkubování byla inkubovaná destička odečtena z hlediska mikrobiálního vzrůstu spektrofotometrem optickou hustotou (OD). Žlábků, obsahující nejnižší dosažitelné zředění pro každé činidlo se spektrofotometrickým odečtem pod 0,15 OD (to znamená nezjistitelný mikrobiální růst) byly pokládány za reprezentativní pro každou kombinaci. Hodnota MIC každého činidla v kombinaci byla stanovena propočtem za použití koncentrace výchozího zásobního roztoku a vzniklých ředění na destičce s 96 žlábků.

Specifické bakterie, očkované na destičce s 96 žlábků jsou uvedeny v tabulce 1 zde dále s použitým růstovým prostředím a podmínkami inkubování tohoto mikroorganismu.

T a b u l k a 1

Mikroorganismus/růstové prostředí/podmínky inkubování

Mikroorganismus	ATCC č.	Růstové prostředí	Podmínky inkubování
Actinomyces viscosus (AV)	19246	TSB ¹	48 hod/37° C aerob.
Fusobacterium nucleatum (FN)	10933	prostř. FN ³	48 hod/37° C anaerob.
Porphyromonas gingivalis (PG)	33277	prostř. PG ²	—
Streptococcus mutans (SM)	25175	TSB ¹	48 hod/37° C aerob.
Streptococcus sanguis (SS)	49295	TSB ¹	—

- 1) tryptická sojová zápara, 3,0% hmotn/obj, extrakt z kvasinek 0,1% a 999 ml destilované vody
- 2) tryptická sojová zápara, 3,0% hmotn/obj, extrakt z kvasinek 0,5%, L-cystein 0,05%, hemin 0,0005%, menadion 0,00002% a 990 ml destilované vody
- 3) tryptická sojová zápara, 3,0% hmotn/obj., extrakt z kvasinek 0,5%, pepton 1,0% L-cysteinový extrakt, hemin 0,0005%, menadion 0,00002%, 990 ml dest.vody

Antimikrobiální činidla, která byla zvolena jako činidlo A a činidlo B jsou uvedena v následující tabulce 2.

T a b u l k a 2

Hydrochlorid berberinu (BX1)
olej z cedrového dřeva (RC1)
chloramfenikol (CR1)
citral (CIT1)
citronelový olej (CTR 1)
kokamidopropyl dimethylglycin (TB1)

geraniol (GRA1)
extrakt z třezalky (GLY)
hinokitiol (HK1)
bazalkový olej ze šťavnatých plodů (JFB1)
olej z bobulek jalovce (JPE1)
bazalkový citronový olej (LMB1)
citronový olej (LMO1)
olej z rozmarýnu (ROF1)

V následujících tabulkách byla antimikrobiální činidla A a B vyznačena zkratkami, viz tabulka 2. Dále pak 5 mikroorganismů je vyznačováno zkratkami, jak byly uvedeny v tabulce 1.

Četné kombinace antimikrobiálních činidel, jak jsou uvedena v tabulce 2, byly vyhodnoceny dle popsaného protokolu, aby bylo možno zjistit kombinace činidel, které inhibují viditelně in vitro růst mikroorganismu s vyhodnocením MIC činidel v kombinaci. Dále pak byla stanovena ve shodě s uvedeným protokolem nejnižší koncentrace, tedy MIC každého z antimikrobiálních činidel, použitých ve dvousložkové kombinaci, kdy dojde k inhibování viditelném in vitro růstu toho či onoho mikroorganismu. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 3 až 16 zde dále. V každé z těchto tabulek je uvedena střední hodnota MIC pro samotné činidlo A. Protože větší počet destiček byl inokulován a inkubován ve shodě s postupem, popsaným zde výše se zřetelem na získání informací v případě násobných kombinací, byla v každém případě zjištěna a stanovena hodnota MIC samotného činidla A. Hodnota MIC činidla A, jak je to uvedeno v tabulkách 3 - 16, je průměrem těchto hodnot.

T a b u l k a 3

Hodnota MIC oleje z cedrového dřeva samotného a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo		MIC ($\mu\text{g/ml}$) oleje z cedrového dřeva, je-li kombinován s činidlem B pro identifikování bakterie				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	36,5	36,5	7,8	31,3	15,6
	+ BX1	7,8	2,0	2,0	7,8	2,0
	+ CR1	7,8	3,9	2,0	2,0	7,8
	+ CIT1	7,8	7,8	3,9	7,8	2,0
	+ CTRL	2,0	15,6	3,9	7,8	7,8
	+ TB1	7,8	15,6	2,0	7,8	31,3
	+ GRA1	3,9	7,8	2,0	7,8	2,0
	+GLY	7,8	15,6	3,9	7,8	3,9
	+ HK1	15,6	15,6	3,9	7,8	7,8
	+ JFB1	7,8	15,6	3,9	2,0	3,9
	+ JPE1	2,0	15,6	3,9	7,8	7,8
	+ LMB1	2,0	2,0	3,9	7,8	3,9
	+ LMO1	7,8	15,6	3,9	7,8	3,9
	+ ROF1	15,6	15,6	3,9	3,9	7,8

T a b u l k a 4

MIC hydrochloridu berberinu samotného a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$ hydrochloridu berberinu a v kombinaci s činidlem B pro identifikovanou bakterii

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
BX1	-	31,9	38,5	11,4	43,3	46,9
	+ RC1	3,9	15,6	7,8	3,9	7,8
	+ CR1	3,9	15,6	7,8	2,0	3,9
	+ CIT1	2,0	7,8	2,0	15,6	15,6
	+ CTRL	7,8	2,0	3,9	2,0	3,9

pokr. tabulky 4

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
	+ TB1	31,3	31,3	7,8	31,3	15,6
	+ GRA1	3,9	7,8	2,0	7,8	15,6
	+ GLY	15,6	15,6	7,8	15,6	15,6
	+ HK1	7,8	15,6	2,0	31,3	3,9
	+ JFB1	15,6	15,6	2,0	15,6	15,6
	+ JPE1	2,0	7,8	7,8	2,0	3,9
	+ LMB1	2,0	7,8	2,0	3,9	7,8
	+ LMO1	2,0	2,0	2,0	15,6	7,8
	+ ROF1	31,3	2,0	3,9	31,3	2,0

T a b u l k a 5

MIC samotného hinokitiolu a v kombinaci s dalším
antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) hinokitiolu, je-li kombinován s
činidlem B pro identifikovanou bakterii

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
HK1	-	0,8	2,1	2,1	0,8	0,9
	+ BX1	0,2	0,4	1,6	0,1	0,4
	+ RC1	0,2	0,8	0,1	0,2	0,1
	+ CR1	0,2	0,8	0,4	0,2	0,2
	+ CIT1	0,4	0,8	0,8	0,4	0,4
	+ CTR1	0,1	0,1	0,8	0,1	0,4
	+ TB1	1,0	1,0	7,8	1,0	1,0
	+ GRA1	0,1	0,8	0,8	0,8	0,2
	+ GLY	0,4	0,8	0,8	0,8	0,8
	+ JFB1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	+ JPE1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,4
	+ LMB1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,1
	+ LMO1	0,1	0,2	0,8	0,1	0,2
	+ ROF1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4

T a b u l k a 6

MIC samotného extraktu z třezalky (*Glycyrrhiza glabra*)
a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) extraktu z třezalky v kombinaci s
činidlem B pro identifikovanou bakterii

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
GLX	-	15,0	13,6	12,1	15,6	6,6
	+ BX1	7,8	3,9	1,0	7,8	3,9
	+ GC1	3,9	2,0	2,0	3,9	3,9
	+ CR1	1,0	1,0	1,0	3,9	2,0
	+ CIT1	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0
	+ CTR1	3,9	2,0	3,9	3,9	1,0
	+ TB1	1,0	1,0	7,8	15,6	1,0
	+ GRA1	3,9	3,9	3,9	3,9	1,0
	+ HK1	7,8	3,9	1,0	1,0	1,0
	+ JFB1	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0
	+ JPE1	3,9	2,0	3,9	1,0	1,0
	+ LMB1	3,9	3,9	2,0	3,9	1,0
	+ LMO1	2,0	2,0	2,0	3,9	1,0
	+ ROF1	1,0	2,0	1,0	1,0	2,0

T a b u l k a 7

MIC samotného geraniolu a v kombinaci s antimikrobiálním
činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) geraniolu, je-li kombinován
s antimikrobiálním činidlem B

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
GRA1	-	133,3	82,3	147,9	133,3	127,1
	+ BX1	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
	+ RC1	62,5	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ CR1	62,5	31,3	31,3	62,5	31,3
	+ CTR1	15,6	15,6	31,3	31,3	15,6
	+ TB1	12,5	31,3	31,3	125	62,5

pokrač. tabulky 7

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
	+ GLY	62,5	15,6	3,9	62,5	31,3
	+ HK1	31,3	15,6	15,6	3,9	62,5
	+ JFB1	7,8	31,3	15,6	31,3	31,3
	+ JPE1	31,3	15,6	62,5	31,3	15,6
	+ LMB1	31,3	15,6	62,5	31,3	31,3
	+ LMO 1	31,3	7,8	62,5	31,3	31,3
	+ ROF1	31,3	31,3	15,6	31,3	31,3

T a b u l k a 8

MIC samotného chloramfenikolu a v kombinaci s anti-
mikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC (ug/ml) chloramfenikolu, je-li kombinován
s antimikrobiálním činidlem B

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
CRI	-	5,4	1,8	6,9	5,2	3,2
	+ BX1	3,1	0,2	0,2	3,1	3,1
	+ RC1	0,4	1,6	0,8	3,1	0,8
	+ CIT1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4
	+ CTR1	1,6	0,4	3,1	1,6	1,0
	+ TB1	1,6	0,4	1,6	3,1	0,8
	+ GRA1	0,4	0,2	0,2	0,8	0,4
	+ GLY	3,1	0,8	0,4	1,6	0,8
	+ HK1	3,1	0,8	0,4	3,1	3,1
	+ JFB1	0,2 _m	0,4	1,6	3,1	0,4
	+ JPE1	1,6	0,2	1,6	0,2	0,2
	+ LMB1	1,6	0,4	0,4	3,1	0,2
	+ LMO1	1,6	0,2	0,2	1,6	0,8
	+ ROF1	0,2	0,2	3,1	0,2	0,2

T a b u l k a 9

MIC samotného citralu a v kombinaci s antimikrobiálním čínidlem B

Čínidlo		MIC (µg/ml) citralu, je-li kombinován s čínidlem B pro identifikovanou bakterii				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
CIT1	-	212,5	76,1	75,0	171,1	147,9
	+ BX1	31,3	31,3	15,6	31,3	31,3
	+ RC1	125	125	62,5	125	125
	+ CR1	62,5	31,3	15,6	62,5	31,3
	+ CTR1	7,8	3,9	15,6	15,6	15,6
	+ TB1	125	31,3	31,3	62,5	31,3
	+ GLY	125	31,3	15,6	125	7,8
	+ HK1	15,6	3,9	15,6	31,3	15,6
	+ JFB1	15,6	15,6	15,6	15,6	15,6
	+ JPE1	31,3	15,6	31,3	31,3	3,3
	+ LMB1	15,6	7,8	7,8	31,3	31,3
	+ LMO1	31,3	15,6	7,8	15,6	3,9
	+ ROF1	62,5	15,6	31,3	62,5	3,9

T a b u l k a 10

MIC citronelového oleje samotného a v kombinaci s antimikrobiálním čínidlem B

Čínidlo		MIC (µg/ml) citronelového oleje v kombinaci s čínidlem B pro identifikovanou bakterii				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
CTR1	-	119,8	76,9	198,4	138,4	156,2
	+ BX1	31,3	31,3	7,8	62,5	31,3
	+ RC1	62,5	7,8	3,9	31,3	31,3
	+ CR1	31,3	15,6	15,6	31,3	3,9
	+ CIT1	62,5	15,6	15,6	62,5	62,5
	+ TB1	62,5	31,3	31,3	125	31,3
	+ GRA1	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
	+ GLY	31,3	31,3	15,6	31,3	62,5

pokrač.tabulky 10

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
	+ HK1	62,5	31,3	3,9	62,5	7,8
	+ JFB1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ JPE1	31,3	7,8	31,3	31,3	31,3
	+ LMB1	3,9	15,6	31,3	7,8	7,8
	+ LMO1	3,9	15,6	31,3	15,6	15,6
	+ ROF1	31,3	15,6	15,6	31,3	7,8

T a b u l k a 11

MIC bazalkového oleje se šťávou z plodů samotného a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC (µg/ml) bazalkového oleje se šťávou z plodů samotného a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
JFB1	-	89,6	71,7	36,9	95,8	93,8
	+ BX1	62,5	31,3	3,9	31,3	15,6
	+ RC1	62,5	31,3	3,9	62,5	31,3
	+ CR1	31,3	3,9	3,9	3,9	31,3
	+ CIT1	15,6	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ CTR1	15,6	15,6	3,9	15,6	15,6
	+ TB1	31,3	31,3	15,6	62,5	62,5
	+ GRA1	31,3	15,6	15,6	15,6	31,3
	+ GLY	62,5	31,3	15,6	62,5	31,3
	+ HK1	62,5	31,3	3,9	62,5	31,3
	+ JPE1	15,6	3,9	3,9	7,8	15,6
	+ LMB1	15,6	3,9	7,8	31,3	15,6
	+ LMO1	15,6	15,6	15,6	15,6	31,3
	+ ROF1	15,6	3,9	3,9	15,6	15,6

T a b u l k a 12

MIC oleje z bobulek jalovce samotného a v kombinaci
s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) samotného oleje z bobulek jalovce
a v kombinaci s antimikrobiálním činidlem B

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
JPE1	-	135,4	76,9	231,8	119,8	119,3
	+ BX1	31,3	31,3	7,8	62,5	31,3
	+ RCl	62,5	15,6	3,9	31,3	31,3
	+ CR1	31,3	7,8	15,6	62,5	31,3
	+ CIT1	62,5	15,6	7,8	62,5	31,3
	+ CTR1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ TB1	125	31,3	15,6	62,5	62,5
	+ GRA1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ GLY	62,5	31,3	62,5	62,5	31,3
	+ HK1	62,5	31,3	7,8	62,5	15,6
	+ JFB1	31,3	15,6	62,5	31,3	31,3
	+ LMB1	31,3	15,6	62,5	31,3	31,3
	+ LMO1	31,3	15,6	62,5	15,6	31,3
	+ ROF1	62,5	15,6	31,3	31,3	15,6

T a b u l k a 13

MIC bazalkového citronového oleje samotného a v kombi-
naci s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) bazalkového citronové oleje v
kombinaci s činidlem B pro identifikovanou
bakterii

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
LMB1	-	125	81,7	200,5	130,2	132,8
	+ BX1	31,3	15,6	7,8	31,3	15,6
	+ RCl	62,5	31,3	3,9	15,6	31,3
	+ CR1	31,3	15,6	31,3	7,8	62,5
	+ CIT1	62,5	15,6	15,6	62,5	31,3

pokrač. tabulky 13

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
	+ CTRL	62,5	15,6	15,6	62,5	62,5
	+ TB1	62,5	15,6	15,6	62,5	31,3
	+ GRA1	15,6	15,6	31,3	31,3	15,6
	+ GLY	31,3	15,6	31,3	62,5	15,6
	+ HK1	31,3	15,6	7,8	31,3	31,3
	+ JFB1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ JPE1	31,3	15,6	62,5	31,3	15,6
	+ LMO1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ ROF1	15,6	31,3	31,3	31,3	31,3

T a b u l k a 14

MIC samotného citronového oleje a v kombinace s
antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC ($\mu\text{g/ml}$) citronového oleje v kombinaci
s antimikrobiálním činidlem B

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
LMO1	--	173,6	79,9	367,2	153,4	127,9
	+ BX1	62,5	31,3	15,6	62,5	31,3
	+ RC1	62,5	15,6	3,9	62,5	62,5
	+ CR1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ CIT1	62,5	15,6	31,3	62,5	62,5
	+ CTRL	62,5	15,6	15,6	62,5	62,5
	+ TB1	125	15,6	62,5	125	62,5
	+ GRA1	31,3	7,8	15,6	31,3	31,3
	+ GLY	62,5	31,3	15,6	62,5	31,3
	+ HK1	125	31,3	7,8	125	62,5
	+ JFB1	15,6	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ JPE1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ MLB1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ ROF1	31,3	31,3	31,3	31,3 _n	31,3

T a b u l k a 15

MIC samotného oleje z rozmarýnu a v kombinaci s
sntimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC (µg/ml) oleje z rozmarýnu v kombinaci
s antibakteriálním činidlem B pro
identifikovanou bakterií

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
ROF1	-	192,3	72,1	184,9	174,1	132,8
	+ BX1	31,3	31,3	15,6	31,3	62,5
	+ RCl	7,8	15,6	7,8	62,5	31,3
	+ CR1	62,5	31,3	15,6	62,5	31,3
	+ CIT1	62,5	15,6	31,3	62,5	62,5
	+ CTRL	15,6	31,3	62,5	31,3	31,3
	+ TB1	125	31,3	62,5	125	31,3
	+ GRA1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ GLY	125	31,3	15,6	125	7,8
	+ HK1	125	31,3	7,8	125	15,6
	+ JFB1	31,3	15,6	31,3	31,3	31,3
	+ JPE1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ LMB1	31,3	15,6	15,6	31,3	31,3
	+ LMO1	15,6	15,6	125	15,6	31,3

T a b u l k a 16

MIC samotného kokamidopropyldimethylglycinu a v kombinaci
s antimikrobiálním činidlem B

Činidlo MIC (µg/ml) kokamidopropyldimethylglycinu v
kombinaci s činidlem B pro identifikovanou
bakterii

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
TB1	-	28,9	45,4	16,8	22,8	30,2
	+ BX1	1,0	1,0	7,8	1,0	15,6
	+ RCl	1,0	7,8	2,0	1,0	0,1
	+ CR1	31,3	31,3	3,9	15,6	31,3
	+ CIT1	1,0	7,8	2,0	1,0	15,6
	+ CTRL	7,8	1,0	2,0	1,0	1,0

pokrač. tabulky 16

A	B	AV	FN	PG	SM	SS
	+ GRA1	1,0	15,6	2,0	1,0	7,8
	+ GLY	15,6	62,5	3,9	1,0	31,3
	+ HK1	1,0	1,0	7,8	1,0	1,0
	+ JFB1	7,8	1,0	1,0	3,9	1,0
	+ JPE1	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0
	+ LMB1	3,9	1,0	3,9	1,0	1,0
	+ LMO1	1,0	3,9	3,9	1,0	1,0
	+ ROF1	3,9	1,0	2,0	1,0	3,9

Tento příklad dokazuje, jaký je vliv, který se docílí přidáním antimikrobiálního činidla B k antimikrobiálnímu činidlu A se zřetelem na původní MIC antimikrobiálního činidla A. Získané údaje jsou dokladem toho, jak se sníží hodnota MIC činidla A, kombinuje-li se s činidlem B.

P ř í k l a d 2

Stanovení hodnoty MIC jednotlivých činidel a kombinace 3 antimikrobiálních činidel.

Tento příklad popisuje, jak kombinace tří antimikrobiálních činidel, připravené ve shodě s tímto vynálezem, inhibují viditelně in vitro růst orálních mikroorganizmů. Dále pak popisuje tento příklad, jak se sníží hodnota MIC antimikrobiálních činidel v kombinaci ve srovnání s hodnotami MIC antimikrobiálních činidel samotných a jakož i hodnoty MIC takových činidel v různých párováních. Četné kombinace zde popisovaných antimikrobiálních činidel byly pořízeny tak, že vznikly kombinace, obsahující 3 antimikrobiální činidla, nebo tripletety. Každý z připravených tripletů obsahoval buď olej z cedrového dřeva, nebo hydrochlorid berberinu nebo hinokitiol.

Použitý protokol při vyhodnocování byl určitou obměnou postupu, popsaného v příkladu 1. Test byl proveden v dvourozměrném uspořádání na destičce s 96 žlábků. S úmyslem vyhodnotit 3 činidla byla dvě činidla zpárována proti činidlu třetímu. Tak například měnící se koncentrace antimikrobiálního činidla A

plus antimikrobiálního činidla B proti měnícím se koncentracím antimikrobiálního činidla C byly na takové destičce s 96 žlábků vyhodnocovány. Postup byl opakován s dalšími dvěma možnými páry, například A + C s B, a B + C s A. Podle toho vyžadoval každý triplet 3 testy se zřetelem na definování každého ze 3 možných párů.

Inokulum bakterie bylo připraveno jako v příkladu 1.

K ředění antimikrobiálních činidel A, B a C byla použita sterilní polystyrenová destička s 96 žlábků. Za použití aseptického postupu bylo umístěno do každého žlábků testování 100 mikrolitrů destilované vody. Schema ředění bylo rozděleno na dvě části. V první části bylo provedeno ředění spojených složek A a B, a ve druhé části ředění činidla C. Ředění činidel A a B bylo provedeno umístěním 50 mikrolitrů zásobního roztoku činidla A do prvního žlábků každé kolony. Potom bylo přidání 50 mikrolitrů zásobního roztoku činidla B do každého z prvních žlábků každé kolony a podle toho první žlábek každé kolony obsahoval 50 mikrolitrů zásobního roztoku a 50 mikrolitrů zásobního roztoku B. Potom bylo přeneseno 100 mikrolitrů z první řady každé kolony do dalšího žlábků kolony a tak dále dolů po koloně. Každá přenos byl spojen s polovičním ředěním předchozí koncentrace.

Ředění antimikrobiálního činidla C bylo provedeno vnesením 100 mikrolitrů činidla C v roztoku (zásobním) do prvního žlábků každé řady. Z prvního žlábků každé řady bylo 100 mikrolitrů přeneseno do dalšího žlábků a tak dále přes rovinu testovaných žlábků. Každý přenos znamenal poloviční ředění předcházející koncentrace. Na vyobr. 1 je schematické znázornění koncentrací antimikrobiálních činidel A, B a C s odvoláním na schema ředění, jak bylo popsáno zde výše. Zásobní roztok každého z antimikrobiálních činidel měl počáteční koncentraci 2500 mikrogramů na mililitr. Jak je to patrné z vyobr. 1 klesala koncentrace činidel A a B dolů po koloně. Koncentrace činidla C klesala přes to od leva do prava. Po skončeném ředění činidla C zůstala zde nejméně jedna kolona, obsahující zředěný zásobní

roztok A nebo B bez jakékoli stopy činidla C. Tato kolona žlábků byla použita k vyhodnocení MIC činidel A a B v kombinaci. Dále pak zásobní roztok činidla C byl ředěn dolů směrem po koloně, což poskytlo údaj o hodnotě MIC samotného činidla C. Z růstového prostředí, specifického pro každou bakterii, bylo přidáno 80 mikrolitrů do každého žlábků. Růstové prostředí, specifická pro bakterie, viz výše tabulka 1.

Potom bylo do každého žlábků přidáno 20 mikrolitrů inokula. Výsledkem bylo to, že v prvním žlábků byla konečným ředěním jedna osmina zásobných roztoku A a B a jedna čtvrtina zásobního roztoku činidla C. Zbylé žlábků byly pak polovičním ředěním předcházejících žlábků při každém přenosu.

Destička s 96 žlábků byla pak inkubována za podmínek, jež se měnily v závislosti na mikroorganizmu. V tabulce 1 jsou mikroorganismy a specifické podmínky inkubování. Navíc k bakteriím, jak byly uvedeny v tabulce 1, byl použit mikroorganismus *Campylobacter rectus* (CR). Růstovým prostředím pro *Campylobacter rectus* byla 0,74%ní (hmotn/obj) zápara z infuze mozek-srdce, 0,01% extraktu z kvasinek, 0,2% sodné soli kyseliny mravenčí, 0,03% sodné soli kyseliny fumarové a 0,005% heminu v 990 ml destilované vody. Podmínky inkubování pro *Campylobacter rectus*: 48 hodin, 37°C, anaerobní podmínky. Odpočet z destičky byl proveden se zřetelem na mikrobiální růst spektrofotometricky měřením optické hustoty. Žlábek, obsahující nejnižší dosažitelné zředění pro každé z činidel za využití spektrometrického odečtu pod 0,05 OD byl pokládán za reprezentativní pro kombinaci. Hodnota MIC každého z činidel byla pak stanovena propočtem s přihlédnutím na koncentraci výchozího zásobního roztoku a výsledkům ředění na destičce s 96 žlábků.

Výsledky testování jsou v následujících tabulkách 17-35

T a b u l k a 17

MIC oleje z cedrového dřeva, citralu a geraniolu samotných, v párech a v kombinaci
Jednotlivá činidla sama¹ MIC(μg/ml) pro identifikovanou

A	B	C	bakterii				
			AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	31,3	31,3	15,6	15,6	125
-	CIT1	-	125	62,5	62,5	125	125
-	-	GRA1	125	62,5	62,5	125	125

Páry činidel A, B a C²

RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	31,3
+ CIT1	31,3	31,3	15,6	31,3	62,5
RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	31,3
+ GRA1	31,3	31,3	15,6	31,3	62,5
CIT1	62,5	31,3	31,3	62,5	62,5
+ GRA1	62,5	31,3	31,3	62,5	62,5

Triplety činidel A, B a C³

GRA1	7,8	31,3	15,6	3,9	31,3
+ RC1	7,8	1	1	7,8	3,9
+ CIT1	15,6	2	2	15,6	7,8
CIT1	3,9	15,6	15,6	3,9	7,8
+ RC1	7,8	3,9	1	7,8	7,8
+ GRA1	15,6	7,8	2	15,6	15,6
RC1	7,8	15,6	3,9	7,8	7,8
+ CIT	7,8	7,8	7,8	3,9	15,6
+ GRA1	7,8	7,8	7,8	3,9	15,6

¹ Přímo směrem vpravo je hodnota MIC každého činidla, je-li použito samo

² Přímo směrem vpravo je hodnota MIC každého činidla za přítomnosti druhého činidla

³ Přímo směrem vpravo je hodnota MIC každého činidla za přítomnosti dvou dalších činidel

T a b u l k a 18

MIC oleje z cedrového dřeva, hydrochloridu berberinu a geraniolu samotných, v párek a v kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	31,3	62,5	15,6	31,3	7,8
-	BX1	-	31,3	62,5	15,6	31,3	31,3
-	-	GRA1	125	62,5	62,5	125	125

Páry činidel A, B a C²

RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	3,9
+ BX1	15,6	15,6	7,8	15,6	3,9
RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	7,8
+ GRA1	31,3	31,3	15,6	31,3	15,6
BX1	31,3	31,3	15,6	15,6	31,3
+ GRA1	62,5	31,3	31,3	31,3	62,5

Triplety činidel A, B a C³

RC1	7,8	15,6	3,9	7,8	3,9
+ BX1	3,9	7,8	3,9	2,0	3,9
+ GRA1	7,8	7,8	7,8	3,9	7,8
BX1	3,9	7,8	7,8	7,8	7,8
+ RC1	7,8	3,9	1,0	7,8	3,9
+ GRA1	15,6	7,8	2,0	15,6	7,8
GRA1	7,8	15,6	15,6	31,3	31,3
+ RC1	7,8	3,9	1,0	7,8	1,0
+ BX1	7,8	3,9	1,0	7,8	1,0

1, 2 a 3, viz str. 29 dole

T a b u l k a 19

MIC oleje z červeného cedrového dřeva, hydrochloridu berberinu
a hinokitiolu samotných, v párech a v kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC(µg/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	31,3	62,5	15,6	31,3	31,3
-	BX1	-	31,3	62,5	15,6	31,3	31,3
-	-	HK1	0,8	1,6	3,1	0,8	0,8
<hr/>							
Páry činidel A, B a C ²							
RC1			15,6	15,6	7,8	13,6	3,9
+ BX1			15,6	15,6	7,8	15,6	3,9
RC1			15,6	15,6	15,6	15,6	15,6
+ HK1			0,8	0,8	0,4	0,8	0,4
BX1			15,6	15,6	15,6	15,6	15,6
+ HK1			0,8	0,8	7,8	0,8	7,8
<hr/>							
Triplety činidel A, B a C ³							
RC1			15,6	7,8	3,9	7,8	3,9
	+ BX1		1,0	3,9	3,9	3,9	3,9
	+ HK1		0,05	0,2	2	0,2	2
RC1			3,9	15,6	7,8	7,8	2
	+ RC1		7,8	1,0	1,0	7,8	1,0
	+ HK1		0,4	0,05	0,05	0,4	0,05
HK1			0,2	0,4	0,8	0,2	0,4
	+ RC1		7,8	3,9	3,9	7,8	1,0
	+ BX1		7,8	3,9	3,9	7,8	1,0

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 20

MIC oleje z červeného cedrového dřeva, hydrochloridu berberinu a bazalkového oleje ze šťavnatých plodů,
v párech a v kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	15,6	31,3	62,5	15,6	15,6
-	BX1	-	62,5	62,5	15,6	31,3	62,5
-	-	JFB1	125	62,5	62,5	125	125

Páry činidel A, B a C²

RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	7,8
* BX1	15,6	15,6	7,8	15,6	7,8
RC1	7,8	2,0	1,0	7,8	1,0
+ JFB1	15,6	31,3	2,0	15,6	2,0
BX1	31,3	15,6	7,8	15,6	15,6
+ JFB1	62,5	31,3	15,6	31,3	31,3

Triplety činidel A, B a C³

RC1	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
+ BX1	15,6	3,9	2,0	7,8	3,9
+ JFB1	31,3	7,8	3,9	15,6	7,8
BX1	15,6	15,6	3,9	7,8	31,3
+ RC1	7,8	2,0	1,0	7,8	1,0
+ JFB1	15,6	3,9	2,0	15,6	2,0
JFB1	62,5	15,6	15,6	62,5	62,5
+ RC1	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0
+ BX1	1,0	3,9	2,0	1,0	2,0

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 21

MIC oleje z cedrového dřeva, hinokitiolu a geraniolu
samotných, v párech a v kombinaci

Jednotlivá činidla samá ¹			MIC (ug/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	7,8	62,5	7,8	15,6	15,6
-	HK1	-	0,8	3,1	1,6	0,8	0,8
-	-	GRA1	125	125	62,5	125	125
Páry činidel A, B a C ²							
RC1			15,6	15,6	15,6	15,6	7,8
+ HK1			0,8	0,8	0,8	0,8	0,4
RC1			31,3	15,6	7,8	7,8	15,6
+ GRA1			62,5	31,3	15,6	15,6	31,3
HK1			0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
+ GRA1			31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
Tripletty činidel A, B a C ³							
RC1			3,9	15,6	3,9	3,9	7,8
	+ HK1		0,2	0,05	0,1	0,1	0,05
	+ GRA1		7,8	2,0	3,9	3,9	2,0
HK1			0,1	1,6	0,4	0,4	0,1
	+ RC1		15,6	2,0	2,0	2,0	7,8
	+ GRA1		31,3	3,9	3,9	3,9	15,6
GRA1			15,6	31,3	62,5	7,8	62,5
	+ RC1		7,8	2,0	3,0	7,8	1,0
	+ HK1		0,4	0,1	0,2	0,4	0,5

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 22

MIC oleje z cedrového dřeva, hinokitiolu a citralu samotných,
v párech a v kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou
bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	✓	-	7,8	62,5	15,6	15,6	15,6
-	HK1	→	0,8	3,1	1,6	0,8	1,6
-	-	CIT1	125	125	62,5	125	125

Páry činidel A, B a C²

RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	7,8
+ HK1	0,8	0,8	0,4	0,8	0,8
RC1	31,3	15,6	7,8	15,6	15,6
+ CIT1	62,5	31,3	15,6	31,3	31,3
HK1	0,8	0,8	0,4	0,8	0,8
+ CUT1	31,3	31,3	15,6	31,3	31,3

Triplety činidel A, B a C³

RC1	3,9	15,6	3,9	3,9	7,8
+ HK1	0,2	0,05	0,1	0,2	0,1
+ CIT1	7,8	2,0	3,9	7,8	3,9
HK1	0,1	0,8	0,4	0,4	0,4
+ RC1	15,6	3,9	2,0	7,8	3,9
+ CIT1	31,3	7,8	3,9	15,6	7,8
CIT1	7,8	31,3	3,9	7,8	62,5
+ RC1	7,8	2,0	3,9	7,8	1,0
+ HK1	0,4	0,1	0,2	0,4	0,1

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 23

MIC oleje z cedrového dřeva, hinokitiolu a bazalkového oleje ze šťavnatých plodů samotných, v párech a v kombinace

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	7,8	62,5	7,8	31,3	15,6
-	HK1	-	0,8	3,1	3,1	0,8	0,8
-	-	JFB1	125	125	15,6	62,5	125

Páry činidel A, B a C²

RC1		15,6	15,6	7,8	15,6	7,8
+HK1		0,8	0,8	0,4	0,8	0,4
RC1		31,3	15,6	3,9	15,6	15,6
+JFB1		62,5	31,3	7,8	31,3	31,3
HK1		0,8	0,8	0,4	0,8	0,4
+KFB1		31,3	31,3	15,6	31,3	15,6

Triplety činidel A, B a C³

RC1		3,9	15,6	3,9	15,6	7,8
	+ HK1	0,4	0,2	0,1	0,05	0,1
	+ JFB1	15,6	7,8	3,9	2,0	3,9
HK1		0,2	0,8	0,8	0,4	0,4
	+ RC1	7,8	3,9	1,0	7,8	2,0
	+ JFB1	15,6	7,8	2,0	15,6	3,9
JFB1		62,5	31,3	7,8	15,6	31,3
	+ RC1	3,9	3,9	1,0	7,8	2,0
	+ HK1	0,2	0,2	0,05	0,4	0,1

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 24

MIC oleje z cedrového dřeva, hydrochloridu berberinu, citralu samotných, v párech či v kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC (ug/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	15,6	62,5	7,8	15,6	15,6
-	BX1	-	62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
-	-	CIT1	125	125	125	125	125
Páry činidel A, B a C ²							
RC1			15,6	31,3	3,9	7,8	15,6
+BX1			15,6	31,3	3,9	7,8	15,6
RC1			31,3	15,6	7,8	15,6	15,6
+CIT1			62,5	31,3	15,6	31,3	31,3
BX1			31,3	15,6	7,8	15,6	31,3
+CIT1			62,5	31,3	15,6	31,3	62,5
Triplety činidel A, B a C ³							
RC1			7,8	15,6	3,9	7,8	7,8
	+ BX1		2,0	3,9	1,0	2,0	3,9
	+ CIT1		3,9	7,8	2,0	3,9	7,8
BX1			31,3	15,6	3,9	15,6	31,3
	+ RC1		7,8	3,9	2,0	3,9	1,0
	+ CIT1		15,6	7,8	3,9	7,8	2,0
CIT1			62,5	62,5	31,3	62,5	31,3
	+ RC1		3,9	3,9	1,0	1,0	1,0
	BX1		3,9	3,9	1,0	1,0	3,9

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 25

MIC hydrochloridu berberinu, hinokitiolu a geraniolu

samotných, v párech či v kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
BX1	-	-	62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
-	HK1	-	0,8	3,1	1,6	0,8	0,8
-	-	GRA1	125	125	125	125	250

Páry činidel A, B a C²

BX1		15,6	15,6	7,8	15,6	15,6
+ HK1		0,8	0,8	0,4	0,8	0,8
BX1		31,3	31,3	7,8	62,5	31,3
+ GRA1		62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
HK1		0,8	1,6	0,8	0,8	0,8
+ GRA1		31,3	62,3	31,3	31,3	31,3

Triplety činidel A, B a C³

BX1		31,3	15,6	7,8	31,3	31,3
+ HK1		0,2	0,4	0,05	0,05	0,2
+ GRA1		7,8	15,6	2	2	7,8
HK1		0,4	0,8	0,4	0,4	0,4
+ BX1		15,6	7,8	2	15,6	7,8
+GRA1		31,3	15,6	3,9	31,3	15,6
GRA1		62,5	31,3	31,3	62,5	31,3
+ BX1		7,8	2	1	7,8	3,9
+ HK1		0,4	0,1	0,05	0,4	0,2

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 26

MIC hydrochloridu berberinu, hinokitiolu a bazalkového oleje ze šťavnatých plodů samotných, v párech či kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
BX1	-	-	62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
-	HK1	-	0,8	3,1	1,6	0,8	1,6
-	-	JFB1	125	125	31,3	62,5	7,8

Páry činidel A, B a C²

BX1	15,6	31,3	15,6	15,6	15,6
+HK1	0,8	1,6	0,8	0,8	0,8
BX1	31,3	31,3	7,8	31,3	31,3
+ JFB1	62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
HK1	0,8	1,6	0,2	0,8	0,8
+ JFB1	31,3	62,5	7,8	31,3	31,3

Triplety činidel A, B a C³

BX1	31,3	15,6	3,9	31,3	31,3
+HK1	0,2	0,4	0,05	0,05	0,1
+ JFB1	7,8	15,6	2	2	3,9
HK1	0,4	0,8	0,4	0,4	0,8
+BX1	15,6	7,8	2	7,8	3,9
+JFB1	31,3	15,6	3,9	15,6	7,8
JFB1	62,5	31,3	7,8	15,6	3,9
+BX1	1	7,8	3,9	7,8	2
+ HK1	1	0,4	0,2	0,4	0,1

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 27

MIC hydrochloridu berberinu, hinokitiolu a citralu samotných, v párech či kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC(ug/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
BX1	-	-	62,5	62,5	15,6	62,5	125
-	HK1	-	0,8	3,1	1,6	0,8	0,8
-	-	CIT1	125	125	31,3	250	125
Páry činidel A, B a C ²							
BX1			15,6	31,3	7,8	15,6	15,6
+ HK1			0,8	1,6	0,2	0,8	0,8
HK1			31,3	31,3	7,8	31,3	31,3
+ CIT1			62,5	62,5	15,6	62,5	62,5
HK1			0,8	1,6	0,4	0,8	0,8
+CIT1			31,3	62,5	15,6	31,3	31,3
Triplety činidel A, B a C ³							
BX1			31,3	15,6	3,9	31,3	31,3
+ HK1			0,2	0,4	0,1	0,05	0,2
+ CIT1			7,8	15,6	3,9	2	7,8
HK1			0,4	0,8	0,4	0,4	0,4
+BX1			15,6	7,8	3,9	15,6	3,9
+ CIT1			31,3	15,6	7,8	31,3	7,8
CIT1			62,5	31,3	7,8	125	62,5
+ BX1			3,9	7,8	2	1	1
+ HK1			0,2	0,4	0,05	0,05	0,05

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 28

MIC hinokitiolu, geraniolu a ctrialu samotných, v párech
či kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou
bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
HK1	-	-	1,6	1,6	1,6	0,8	0,8
-	GRA1	-	125	62,5	62,5	125	125
-	-	GIT1	125	62,5	62,5	125	125

Páry činidel A, B a C²

HK1	0,8	0,8	1,6	0,8	0,8
+ GRA1	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
HK1	0,8	0,8	1,6	0,8	0,8
+ CIT1	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
GRA1	62,5	31,3	31,3	62,5	31,3
+ CIT1	62,5	31,3	31,3	62,5	31,3

Zriplety činidel A, B a C³

HK1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
+ GRA1	15,6	15,6	7,8	31,3	15,6
+ CIT1	15,6	15,6	7,8	31,3	15,6
GRA1	125	15,6	15,6	62,5	31,3
+ HK1	0,05	0,4	0,4	0,4	0,2
+ CIT1	,2	15,6	7,8	15,6	7,8
CIT1	62,5	7,8	15,6	62,5	7,8
+ HK1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
+ GRA1	15,6	15,6	7,8	15,6	15,6

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 29

MIC oleje z cedrového dřeva, geraniolu a bazilkového oleje
ze šťavnatých plodů samotných, v párech či kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC (µg/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	31,3	31,3	7,8	31,3	31,3
-	GRA1	-	62,5	62,5	62,5	125	62,5
-	-	JFB1	125	62,5	15,6	125	62,5

Páry činidel A, B a C²

RC1	15,6	15,6	7,8	15,6	15,6
+ GRA1	31,3	31,3	15,6	31,3	31,3
RC1	15,6	15,6	3,9	7,8	7,8
+ JFB1	31,3	31,3	7,8	15,6	15,6
GRA1	31,3	31,3	15,6	62,5	31,3
+ JFB1	31,3	31,3	15,6	62,5	31,3

Triplety činidel A, B a C³

RC1	15,6	15,6	3,9	3,9	7,8
+ BRA1	2	2	3,9	31,3	7,8
+ JFB1	2	2	3,9	31,3	7,8
GRA1	15,6	31,3	15,6	31,3	15,6
+ RC1	3,9	2	1	2	2
+ JFB1	7,8	3,9	2	3,9	3,9
JFB1	62,5	15,6	7,8	62,5	15,6
+ RC1	1	3,9	1	3,9	3,9
+ GRA1	2	7,8	2	7,8	7,8

1, 2 a 3, viz str. 29 dole

T a b u l k a 30

MIC oleje z cedrového dřeva, bazalkového oleje ze štavnatých
 plodů a citralu samotných, v párech či kombinacích
 Jednotlivá činidla sama ¹ MIC (μg/ml) pro identifikovanou
 bakterii

A	B	C	AV	FN	PG	SM	SS
RC1	-	-	31,3	31,3	7,8	31,3	31,3
-	JFB1	-	125	62,5	250	125	62,5
-	-	CIT1	125	62,5	250	125	62,5

Páry činidel A, B a C²

RC1		31,3	15,6	7,8	15,6	7,8
+ JFB1		62,5	31,3	15,6	31,3	15,6
RC1		15,6	15,6	62,5	15,6	15,6
+ CIT1		31,3	31,3	125	31,3	31,3
JFB1		31,3	31,3	15,6	62,5	31,3
+ CIT1		31,3	31,3	15,6	62,5	31,3

Triplety činidel A, B a C³

RC1		15,6	3,9	2	3,9	7,8
+ JFB1		2	15,6	3,9	31,3	7,8
+ CIT1		2	15,6	3,9	31,3	7,8
JFB1		62,5	7,8	7,8	62,5	3,9
+ RC1		1	7,8	31,3	2	7,8
+ CIT1		2	15,6	62,5	3,9	15,6
CIT1		62,5	31,3	62,5	62,5	15,6
+ RC1		2	1	2	2	2
+ JFB1		3,9	2	3,9	3,9	3,9

1, 2 a 3, viz str.29 dole

T a b u l k a 31

MIC hydrochloridu berberinu, bazalkového oleje ze šřavnatých
plodů a citralu samotných, v párech či kombinaci
Jednotlivá činidla sama¹ MIC ($\mu\text{g/ml}$) identifikované
bakterie

A	B	C	AV	FN	CR	SM	SS
BX1	-	-	31,3	31,3	125	31,3	31,3
-	JFB1	-	62,5	125	250	62,5	62,5
-	-	CIT1	125	62,5	31,3	125	125

Páry činidel A, B a C²

BX1	31,3	15,6	3,9	31,3	31,3
+ JFB1	62,5	31,3	7,8	62,5	62,5
BX1	31,3	15,6	62,5	31,3	15,6
+ CIT1	62,5	31,3	125	62,5	31,3
JFB1	31,3	31,3	125	31,3	31,3
+CIT1	31,3	31,3	125	31,3	31,3

Triplety činidel A, B a C³

BX1	7,8	3,9	62,5	7,8	7,8
+ JFB1	15,6	15,6	3,9	15,6	7,8
+CIT1	15,6	15,6	3,9	15,6	7,8
JFB1	15,6	31,3	15,6	15,6	15,6
+BX1	7,8	3,9	31,3	7,8	3,9
+ CIT1	15,6	7,8	62,5	15,6	7,8
CIT1	15,6	31,3	7,8	15,6	31,3
+ BX1	15,6	1	1	15,6	7,8
+ JFB1	31,3	2	2	31,3	15,6

1, 2 a R, viz str,29 dole

T a b u l k a 32

MIC hydrochloridu berberinu, bazalkového oleje ze šťavnatých plodů a geraniolu samotných, v párech či v kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC(μg/ml) pro kidentifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	CR	SM	SS
BX1	-	-	62,5	62,5	125	62,5	62,5
-	JFB1	-	125	125	250	125	125
-	-	GRA1	125	125	250	125	250
Páry činidel A, B a C ²							
BX1			31,3	15,6	62,5	31,3	31,3
+ JFB1			62,5	31,3	125	62,5	62,5
BX1			31,3	15,6	62,5	31,3	31,3
+ GRA1			62,5	31,3	125	62,5	62,5
JFB1			62,5	31,3	125	62,5	62,5
+ GRA1			62,5	31,3	125	62,5	62,5
Triplety činidel S, B a C ³							
BX1			15,6	15,6	62,5	15,6	15,6
	+ JFB1		15,6	2	2	15,6	15,6
	+ GRA1		15,6	2	2	15,6	15,6
JFB1			31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
	+ BX1		7,8	2	31,3	7,8	7,8
	+ GRA1		15,6	3,9	62,5	15,6	15,6

1, 2 a 3 viz str.29 dole

T a b u l k a 33
MIC hydrochloridu berberinu, citralu a geraniolu samotných,
v párech či kombinaci

Jednotlivá činidla sama ¹			MIC(µg/ml) pro identifikovanou bakterii				
A	B	C	AV	FN	CR	SM	SS
BX1	-	-	62,5	62,5	125	62,5	62,5
-	CIT1	-	125	125	250	125	125
-	-	GRA1	250	125	250	125	125
Páry činidel A, B a C ²							
BX1			31,3	31,3	62,5	31,3	15,6
+ CIT1			62,5	62,5	125	62,5	31,3
BX1			31,3	15,6	62,5	15,6	15,6
+ GRA1			62,5	31,3	125	31,3	31,3
CIT1			62,5	62,5	125	62,5	31,3
+ GRA1			62,5	62,5	125	62,5	31,3
Tripletty činidel A, B a C ³							
BX1			31,3	15,6	31,3	15,6	15,6
+ CIT1			15,6	7,8	31,3	15,6	7,8
+ GRA1			15,6	7,8	31,3	15,6	7,8
CIT1			62,5	62,5	7,8	62,5	15,6
+ BX1			15,6	2	31,3	1	3,9
+ GRA1			31,3	3,9	62,5	2	7,8
GRA1			62,5	31,3	62,5	62,5	31,3
+ BX1			7,8	2	7,8	7,8	1
+ CIT1			15,6	3,9	15,6	15,6	2

1, 2 a 3, viz pozn, str 29 dole

T a b u l k a 34

MIC hinokitiolu, bazilkového oleje ze šťavnatých plodů a
citralu samotných, v párech nebo v kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (µg/ml) pro identifikovanou
bakterii

A	B	C	AV	FN	CR	SM	SS
HK1	-	-	0,8	3,1	3,2	0,8	0,8
-	JFB1	-	250	125	500	125	125
-	-	CIT1	125	125	500	125	125

Páry činidel A, B a C²

HK1	0,8	1,6	3,2	0,8	0,8
+ JFB1	31,3	62,5	125	31,3	31,3
NK1	0,8	0,8	3,2	0,8	0,8
+ CIT1	31,3	31,3	125	31,3	31,3
JFB1	31,3	31,3	125	31,3	62,5
+ CIT1	31,3	31,3	125	31,3	62,5

Triplety činidel A, B a C³

HK1	0,4	1,6	1,6	0,4	0,4
+ JFB1	15,6	2	15,6	15,6	15,6
+ CIT1	15,6	2	15,6	15,6	15,6
JFB1	62,5	31,3	3,9	62,5	31,3
+HK1	0,4	0,4	1,6	0,1	0,2
+ CIT1	7,8	15,6	62,5	3,9	7,8
CIT1	31,3	31,3	7,8	62,5	31,3
+ HK1	0,2	0,4	1,6	0,05	0,2
+ JFB1	7,8	15,6	62,5	2	7,8

1, 2 a 3, pozn.viz str.29 dole

T a b u l k a 35

MIC hinokitiolu, bazilkového oleje ze Šťavnatých plodů a geraniolu samotných, v párech nebo v kombinaci

Jednotlivá činidla sama¹ MIC (μg/ml) pro identifikovanou bakterii

A	B	C	AV	FN	CR	SM	SS
HK1	-	-	0,8	3,1	3,1	0,8	0,8
-	JFB1	-	125	125	250	125	125
-	-	GRA1	125	125	250	125	125

Páry činidel A, B a V²

HK1	0,8	1,6	3,1	0,8	0,8
+ JFB1	31,3	62,5	125	31,3	31,3
HK1	0,8	1,6	0,8	1,6	0,8
+ GRA1	31,3	62,5	62,5	31,3	31,3
JFB1	31,3	31,3	125	62,5	62,5
+ GRA1	31,3	31,3	125	62,5	62,5

Triplety činidel A, B a C³

HK 1	0,4	1,6	1,6	0,1	0,4
+ JFB1	7,8	7,8	3,9	31,3	15,6
+ GRA1	7,8	7,8	3,9	31,3	15,6
JFB1	31,3	31,3	62,5	62,5	62,5
+ HK1	0,2	0,4	0,8	0,1	0,05
+ GRA1	7,8	15,6	31,3	3,9	2
GRA1	62,5	31,3	62,5	62,5	62,5
+ JFB1	3,9	15,6	31,3	7,8	3,9
+ HK1	0,1	0,4	0,8	0,2	0,1

1, 2 a 3, viz pozn.str.29 dole

XXXXXXXXXX

Tento příklad dokládá, jak se hodnoty MIC antimikrobiálních činidel A, B a C snížily vztahem k hodnotám MIC individuálních antimikrobiálních činidel za nepřítomnosti jiných antimikrobiálních činidel.

Příklad 3

Kompozice zubní pasty

Další příklad popisuje kompozici zubní pasty, obsahující kombinace antimikrobiálních činidel A, B a C, připravené ve shodě s tímto vynálezem.

T a b u l k a 36

Kompozice 18-12 :0,2% oleje z cedrového dřeva, 0,1% bazalkového oleje ze šťavnatých plodů, 0,02% citralu hmotn/hmotn

Složka	% hmotn.
sorbitol, 70% ve vodě	39,72
poloxamer 407 (PLURONIC F127)	5,0
iontů-prostá voda	25,901
carbomer 940 (CARBOPOL 940)	0,3
hydroxid sodný	0,205
xanthanová guma	0,40
glycerol	2,5
fluorid sodný	0,254
natrium-sacharin	0,400
SYLODENT 750 (oxid křemičitý)	10,00
SYLODENT 15 (oxid křemičitý)	12,0
příchuť	1,0
dioxid titaničitý	0,50
sodná sůl laurylsírové kyseliny	1,5
olej z cedrového dřeva	0,200
bazalkový olej ze šťavnatých plodů	0,100
citral	0,020

T a b u l k a 37

Kompozice 18-36: 0,4% oleje z cedrového dřeva, 0,01% hydrochloridu berberinu, hmotn/hmotn

Složka	% hmotn
sorbitol, 70% ve vodě	40,050
poloxamer 407 (PLURONIC F127)	5,0
iontů-prostá voda	25,386
carbomer 040 (CARBOPOL 940)	0,3
hydroxid sodný	0,2
xanthanová guma	0,4
glycerol	5,0
fluorid sodný	0,254
natrium-sacharin	0,800
SYLODENT 750 (oxid křemičitý)	10,0
SYLODENT 15 (oxid křemičitý)	10,0
olej z cedrového dřeva	0,40
hydrát hydrochloridu berberinu	0,01
příchuť	1,00
FDandC Blue #1, 1% roztok	0,2
sodná sůl kyseliny laurylsírové	1,00

T a b u l k a 38

Kompozice 18-55 : 0,04% oleje z cedrového dřeva, 0,1% geraniolu a 0,01% hydrochloridu berberinu hmotn/hmotn

Složka	% hmotn.
sorbitol 70%	40,05
iontů-prostá voda	24,486
hydrát hydrochloridu berberinu	0,01
carbomer 940 (CARBOPOL 940)	0,30
poloxamer 407 (PLURONIC F127)	5,00
hydroxid sodný	0,20
xanthanová guma	0,40
fluorid sodný	0,254
natriumsacharin	0,80
SYLODENT 750 (oxid křemičitý)	10,0
SYLODENT 15 (oxid křemičitý)	10,0
příchuť	1,0

pokrač. tabulky 38	
oxid titaničitý	1,0
sodná sůl laurylsírové kyseliny	1,0
glycerol	5,0
olej z cedrového dřeva	0,4
geraniol	0,10

T a b u l k a 39

Kompozice 18-37: 0,4% oleje z cedrového dřeva, 0,1% geraniolu a 0,05% citralu, hmotn/hmotn

Složka	% hmotn
sorbitol, 70% ve vodě	40,050
poloxamer 407 (PLURONIC F127)	5,0
iontů prostá voda	25,246
carbomer 940 (CARBOPOL 940)	0,3
hydroxid sodný	0,2
xanthanová guma	0,4
glycerol	5,0
fluorid sodný	0,254
natřiumsacharin	0,800
SYLODENT 750 (oxid křemičitý)	10,0
SYLODENT 15 (oxid křemičitý)	10,0
olej z cedrového dřeva	0,40
geraniol	0,10
citral	0,050
příchuť	1,00
FDand C BLUE 1 , 1% roztok	0,2
sodná sůl laurylsírové kyseliny	1,00

Carbomer je polymer, složený z akr_vlové kyseliny, zesítěné allylsacharosou, dostupný jako CARBOPOL 940, firma B.F.Goodrich. SYLODENT 750 je silikagel (oxid křemičitý), právě tak jako SYLODENT 15, viz Grace a spol., Conn.Davison Chemical Division.

P a b u l k a 40

Kompozice 18-58: 0,4% oleje z cedrového dřeva, 0,1% geraniolu
hmotn/hmotn

Složka	% hmotn
sorbitol 70%	40,05
iontů prostá voda	25,286
hydrát hydrochloridu berberinu	0,01
carbomer 940(CARBOPOL 940)	0,3
poloxamer 407 (PLURONIC F127)	5,0
hydroxid sodný	0,2
xanthanová guma	0,4
fluorid sodný	0,254
natrium-sacharin	0,8
SYLODENT 750 (oxid křemičitý)	10,0
SYLODENT 15 (oxid křemičitý)	10,0
příchuť	1,0
FDand C Blue # 1, 1%ní roztok	0,2
sodná sůl laurylsírové kyseliny	1,0
glycerol	5,0
olej z cedrového dřeva	0,4
geraniol	0,1

Poloxamer 407 je dostupný pod obch.označením PLURONIC F127 , BASF Corp. PLURONIC F127 je neiontový bifunkční blokový polymer a koncovou primární hydroxylovou skupinou s mol.hmotností v rozsahu od 1000 do asi 15 000. Tyto polymery obsahují polyoxyalkylenové deriváty propylenglykolu.

Zde uváděné kompozice se připravují použitím vakuové míchačky přidáváním iontů-prosté vody a dispergováním carbomeru za nasazení vakua. Je-li carbomer dobře dispergován, přidá se hydroxid sodný. V jiné nádobě se za vyhřívání promíchá 70%ní roztok sorbitolu a poloxamer. poloxamerový roztok se potom přidá do vakuové míchačky a smíchá se zde s carbomerovou směsí. Xanthanová guma se přidá ke glycerolu, vzniklý roztok se vlije do vakuové míchačky a zapracuje do směsi. Dále se do vakuové míchačky přidají soli, pomalu se vmíchají oxidy křemičité, dále

pak aktivní činidla, příchut', sodná sůl laurylsírové kyseliny a barviva a vše se míchá až do dokonalého promíchání.

Příklad 4

Přístup z hlediska zákazníka

V tomto příkladu se popisuje přístup z hlediska zákazníka ke kompozicím typu zubní pasty, obsahujícím kombinace antimikrobiálních činidel A, a a případně C, jak byly pořízeny dle tohoto vynálezu.

Kompozice, jak jsou uvedeny zde v tabulkách 36-40 byly zákazníkem vyhodnocovány. Kompozice 5-99 byla zubní pastou od Listerine "Cool Mint gel".

Studie z hlediska výhodnosti byla prováděna skupinou asi 20 osob, každá z nich dostala jednu tubu zubní pasty k použití během doby jednoho týdne. Na konci týdne vyplnili účastníci dotazník, výsledky akce jsou shrnuty v tabulce 41 zde dále. Stupně hodnocení 1 až 10 s tím, že 1 znamená chabý výsledek, 10 znamená dobrý. Výsledky byly sečteny a zprůměrovány.

T a b u l k a 41

Přístup z hlediska zákazníka

Přípravek	18-12	18-36	18-55	18-37	18-58	5-99
barva	6,61	6,52	3,20	7,13	7,17	7,25
vzezření	6,27	6,74	3,75	6,91	6,89	6,75
chůť	5,09	4,96	5,05	4,17	6,50	4,00
" , dodatečně	5,22	5,13	5,20	4,48	6,50	3,85
aroma	5,00	6,35	5,35	4,52	6,94	4,55
čistění	6,22	6,48	5,95	6,39	6,78	6,10
pěna	6,22	6,30	6,00	6,19	6,00	5,85
konsistence	6,09	6,39	6,25	6,04	5,67	5,75
sucho v ústech	6,09	6,26	7,05	6,78	7,93	5,70
pocit dalšího rána	5,43	5,87	5,50	5,28	6,33	5,15
celkový počet v						
ústech	5,61	5,78	5,80	5,57	6,61	4,45
spokojenost						
celkově	5,04	5,37	5,20	5,53	6,44	4,20


Z tohoto příkladu je jasně patrné, že celková spokojenost zákazníka z formulacemi s antimikrobiálními činidly dle tohoto vynálezu je větší ve srovnání se spokojeností s obchodně běžně dostupným produktem Listerine Cool Mint gel.

Příklad 5

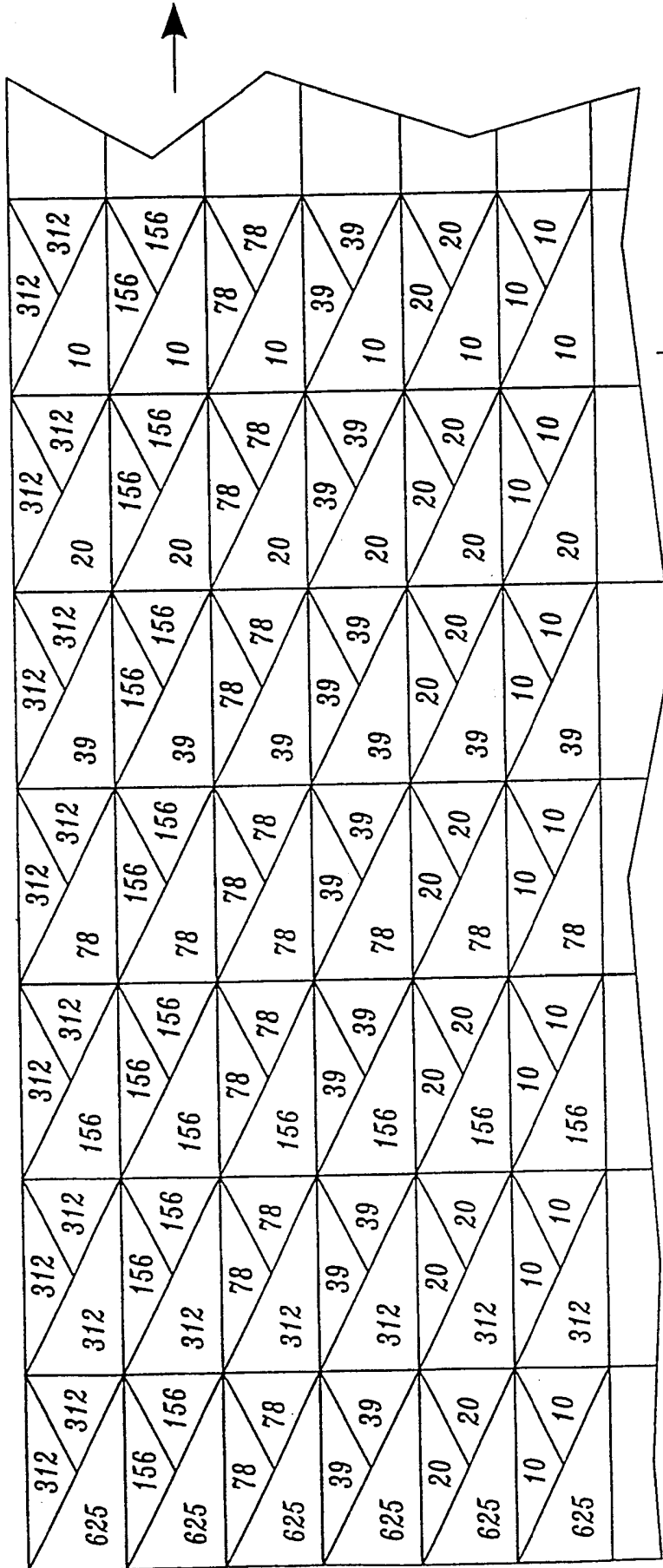
Extrakce třezalky (*Glycyrrhiza glabra*) ethanolem

25 g práškovaného rostlinného materiálu z třezalky se smíchá s 250 g směsí ethanolu a vody 95 : 5. Za teploty se reakční směs míchá po dobu noci, pevné podíly se odstraní na Büchnerově nálevce za použití filtračního papíru Whatman č.4. Další odstranění pevných podílů se provede rovněž na Büchnerově nálevce použitím filtračního papíru Whatman č.5 a další podíly pevných látek se odstraní použitím Whatmanova 1 mikrometr-filtračního papíru, načež se roztok konečně dokonale vyčeří filtrací za vakua a za použití filtračního papíru 0,2 mikrometru. Čirý roztok se dále zahustí na rotační odparce a získá se tak asi 2,5 g rezavě zbarvené pevné látky jako surový extrakt z třezalky.

Ačkoliv byla v příkladech doložena výhodná provedení, má se za to, že jsou zde možné četné obměny, aniž by se vybočilo z rozsahu tohoto vynálezu.


SPOLÉČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ
VŠETEČKA ZELLMAYR BUDNÍK KALENSKÝ
A PARTNEŘI
1100 Praha 2, Hájkova 2
Česká republika

Wyobr.1



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Kompozice k inhibování nebo prevenci růstu orálních pathogenních bakterií, vyznačující se tím, že obsahuje antimikrobiální činidlo A s obsahem geraniolu antimikrobiální činidlo B, zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citranelový olej, kokamidopropyl dimethylglycin, extrakt z třezalky (*Glycyrrhiza glabra*), bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej, olej z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*), kde antimikrobiální činidlo A a antimikrobiální činidlo B jsou přítomné v množství dostačujícím k inhibování růstu orálních pathogenních bakterií, zvolených ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fuseobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis*.
2. Kompozice podle nároku 1, vyznačující se tím, že obsahuje dále antimikrobiální činidlo C, lišící se od antimikrobiálních činidel A a B, zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, nitranelový olej, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.
3. Způsob inhibování nebo prevence růstu orálních pathogenních bakterií, zvolených ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis* v ústní dutině, vyznačující se tím, že zahrnuje stupeň styku ústní dutiny s kompozicí podle nároku 1.
4. Kompozice k inhibování nebo prevenci růstu orálních pathogenních bakterií, vyznačující se tím, že obsahuje antimikrobiální činidlo A a antimikrobiální činidlo B v množstvích dostačujících k inhibování růstu orálních pathogenních bakterií, zvolených ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingiva-*

lis, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis*, přičemž čínidla A a B jsou zvolena ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.

5. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že minimální inhibiční koncentrace pro čínidlo A, vztaženo nejméně na jednu z bakterií, to za přítomnosti čínidla B, je synergisticky nižší než je minimální inhibiční koncentrace čínidla A samotného.

6. Kompozice podle nároku 5, vyznačující se tím, že minimální inhibiční koncentrace čínidla B na nejméně jednu z bakterií za přítomnosti čínidla A je synergisticky nižší, než je minimální inhibiční koncentrace samotného čínidla B.

7. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že čínidlo A je zvoleno ze skupiny, kterou tvoří olej z cedrového dřeva, berberin a extrakt z třezalky.

8. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje dále ještě antimikrobiální čínidlo C, lišící se od čínidel A a B, přičemž čínidlo C je přítomno v množství, jež je účinné při inhibování růstu bakterií a zvoleno ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.

9. Způsob inhibování nebo prevence růstu orálních patogenních bakterií v ústní dutině, vyznačující se tím, že se uvádí ústní dutina do styku s kompozicí, obsahující antimikrobiální čínidlo A a antimikrobiální čínidlo B v množstvích dostačujících k inhibování růstu orálních patogenních bakterií ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis* s tím, že čínidla A a B jsou zvolena ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, extrakt z

třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a rozmarýnový olej.

10. Způsob podle nároku 9, vyznačující se tím, že minimální inhibiční koncentrace činidla A, vztaženo na nejméně jednu z bakterií, je za přítomnosti činidla B synergisticky nižší, než je minimální inhibiční koncentrace činidla A samotného.

11. Způsob podle nároku 10, vyznačující se tím, že minimální inhibiční koncentrace činidla B, vztaženo na nejméně jednu z bakterií, je za přítomnosti činidla A synergisticky nižší, než je minimální inhibiční koncentrace činidla B samotného.

12. Způsob podle nároku 9, vyznačující se tím, že se antimikrobiální činidlo A zvolí ze skupiny, kterou tvoří olej z cedrového dřeva, berberin a extrakt z třezalky.

13. Způsob podle nároku 9, vyznačující se tím, že kompozice s obsahem činidel A a B obsahuje ještě antimikrobiální činidlo C, lišící se od činidel A a B a zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, extrakt z třezalky, bazalkový olej z šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.

14. Způsob snížení minimální inhibiční koncentrace se zřetelem na orální pathogenní bakterie, zvolené ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sanguis* za použití antimikrobiálního činidla A, zvoleného ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, geraniol, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu, vyznačující se tím, že se kombinuje antimikrobiální činidlo A s antimikrobiálním činidlem B, lišícím se od činidla A a zvoleným ze skupiny, kterou tvoří berberin,

olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, geraniol, extrakt z třezalky, bazalkový olej z šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu, přičemž minimální inhibiční koncentrace činidla A za přítomnosti činidla B je nižší, než je minimální inhibiční koncentrace činidla A samotného.

15. Způsob podle nároku 14, vyznačující se tím, že stupeň kombinování činidla B s činidlem A se projeví synergistickou redukcí minimální inhibiční koncentrace činidla A.

16. Kompozice podle nároku 1, vyznačující se tím, že obsahuje antimikrobiální činidlo B, zvolené ze skupiny, kterou tvoří olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej, olej z rozmarýnu a olej z cedrového dřeva.

17. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A olej z cedrového dřeva a jako antimikrobiální činidlo B berberin nebo extrakt z třezalky.

18. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A extrakt z třezalky, a antimikrobiální činidlo B je zvoleno ze skupiny, kterou tvoří citronelový olej, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce a olej z rozmarýnu.

19. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A chloramfenikol a jako antimikrobiální činidlo B citronový olej.

20. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A citral a antimikrobiální činidlo B je zvoleno ze skupiny, kterou tvoří citronelový olej, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.

21. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A citronelový olej a antimikrobiální činidlo B se zvolí ze skupiny, kterou tvoří bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, citronový olej a olej z rozmarýnu.

22. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A bazalkový olej ze šťavnatých plodů a antimikrobiální činidlo B je zvoleno ze skupiny, kterou tvoří olej z bobulek jalovce a olej z rozmarýnu.

23. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A olej z bobulek jalovce a antimikrobiální činidlo B se zvolí ze skupiny, kterou tvoří bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu.

24. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A bazalkový citronový olej a antimikrobiální činidlo B se zvolí ze skupiny, kterou tvoří citronový olej a olej z rozmarýnu.

25. Kompozice podle nároku 4, vyznačující se tím, že obsahuje jako antimikrobiální činidlo A citronový olej a jako antimikrobiální činidlo B olej z rozmarýnu.

26. Kompozice k inhibování nebo prevenci růstu orálních pathogenních bakterií, vyznačující se tím, že obsahují antimikrobiální činidlo A s obsahem kokamidopropyldimethylglycinu, a antimikrobiální činidlo B, zvolené ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citral, citronelový olej, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu s tím, že antimikrobiální činidlo A a antimikrobiální činidlo B jsou přítomné v množstvích účinných při inhibování růstu orálních pathogenních bakterií, zvolených ze skupiny, kterou tvoří *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus*

mutans a *Streptococcus sanguis*.

27. Způsob snižování minimální inhibiční koncentrace antimikrobiálního činidla A s obsahem kokamidopropyl-dimethylglycinu, vyznačující se tím, že se kombinuje činidlo A s antimikrobiálním činidlem B, lišícím se od činidla A s tím, že se antimikrobiální činidlo B zvolí ze skupiny, kterou tvoří berberin, olej z cedrového dřeva, chloramfenikol, citronelový olej, geraniol, extrakt z třezalky, bazalkový olej ze šťavnatých plodů, olej z bobulek jalovce, bazalkový citronový olej, citronový olej a olej z rozmarýnu, přičemž minimální inhibiční koncentrace činidla A za přítomnosti činidla B je nižší, než je minimální inhibiční koncentrace činidla A samotného.



SPOLLEČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ
VSETEČKA ZELENY SVORCIK KALENSKY
A PARTNEŘI
100 00 Praha 2, Látkova 2
Česka republika