

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98800567.0

A61K 31/47
A61K 31/165 A61K 31/11
A61K 31/12 A61K 35/78
A61K 7/26 A61K 7/16

[43]公开日 1999 年 8 月 11 日

[11]公开号 CN 1225585A

[22]申请日 98.4.1 [21]申请号 98800567.0

[30]优先权

[32]97.4.4 [33]US[31]08/832,821

[86]国际申请 PCT/US98/06468 98.4.1

[87]国际公布 WO98/44926 英 98.10.15

[85]进入国家阶段日期 98.12.30

[71]申请人 奥普蒂瓦公司

地址 美国华盛顿州

[72]发明人 L·M·艾耶 J·R·斯考特

D·F·怀特菲尔德

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 周中琦

权利要求书 4 页 说明书 49 页 附图页数 1 页

[54]发明名称 抗微生物组合物

[57]摘要

包含至少两种抗微生物制剂的组合物,表现了相对于其组成制剂单独所测的最低抑制浓度更低的最低抑制浓度。这种组合物可用作治疗制剂,如在口腔卫生产品中使用的。

ISSN 1008-4274



权 利 要 求 书

1. 一种抑制细菌生长的治疗组合物，包含：

有效抑制细菌生长含量的抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B，制剂 A 和 B 选自：小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中当制剂 B 存在时，制剂 A 的最低抑制浓度低于制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度。

3. 根据权利要求 2 所述的组合物，其中当制剂 A 存在时，制剂 B 的最低抑制浓度低于制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度。

4. 根据权利要求 3 所述的组合物，其中细菌为选自粘性放线菌，具核梭杆菌，牙龈卟啉单胞菌，变异链球菌和血链球菌的口腔致病细菌。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中制剂 A 为香柏油。

6. 根据权利要求 5 所述的组合物，其中制剂 B 选自小檗碱、氯霉素、柠檬醛、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油和迷迭香油。

7. 根据权利要求 6 所述的组合物，其中制剂 B 选自小檗碱、氯霉素、柠檬醛、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸和光果甘草提取物。

8. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中制剂 A 为小檗碱。

9. 根据权利要求 8 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、柠檬醛、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油和柠檬罗勒油。

10. 根据权利要求 9 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、光果甘草提取物、柠檬罗勒油。

11. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中制剂 A 为扁柏酚。

12. 根据权利要求 11 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、柠檬醛、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、刺柏子油和柠檬罗勒油。

13. 根据权利要求 12 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、



cocamidopropyl-二甲基甘氨酸和光果甘草提取物。

14. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中制剂 A 为光果甘草提取物。

15. 根据权利要求 1 4 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、浆果罗勒油和柠檬罗勒油。

16. 根据权利要求 1 5 所述的组合物，其中制剂 B 选自氯霉素、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸。

17. 根据权利要求 1 所述的组合物，进一步包含不同于抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B 的抗微生物制剂 C，制剂 C 以有效抑制细菌生长的含量存在，并选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油，柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

18. 一种抑制细菌生长的组合物，包含：

含香叶醇的抗微生物制剂 A；和

选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油的抗微生物制剂 B。

19. 根据权利要求 1 8 所述的组合物，进一步包含不同于抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B 的抗微生物制剂 C，选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

20. 一种口腔卫生产品，包含根据权利要求 1 8 所述的组合物。

21. 一种表面抑制细菌生长的方法，该方法包括表面接触根据权利要求 1 8 所述的组合物的步骤。

22. 一种口腔卫生产品，包含：

以有效抑制细菌生长含量的抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B，其中制剂 A 和 B 选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油。

23. 根据权利要求 2 2 所述的口腔卫生产品，其中当制剂 B 存在时，制剂 A 的最低抑制浓度低于制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度。

24. 根据权利要求 2 3 所述的口腔卫生产品, 其中当制剂 A 存在时, 制剂 B 的最低抑制浓度低于制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度。

25. 根据权利要求 2 4 所述的口腔卫生产品, 其中细菌为选自粘性放线菌, 具核梭杆菌, 牙龈卟啉单胞菌, 变异链球菌和血链球菌的口腔致病细菌。

26. 根据权利要求 2 2 所述的口腔卫生产品, 其中制剂 A 选自香柏油、小檗碱、扁柏酚和光果甘草提取物。

27. 根据权利要求 2 2 所述的口腔卫生产品, 进一步包含不同于抗微生物制剂 A 和 B 的抗微生物制剂 C, 制剂 C 以有效抑制细菌生长的含量存在, 并选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

28. 一种表面抑制细菌生长的方法, 包括以下步骤:

用以有效抑制细菌生长的含量包含抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B 的组合物进行表面接触, 其中制剂 A 和 B 选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油, 柠檬油和迷迭香油。

29. 根据权利要求 2 8 所述的方法, 其中当制剂 B 存在时, 制剂 A 的最低抑制浓度低于制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度。

30. 根据权利要求 2 9 所述的方法, 其中当制剂 A 存在时, 制剂 B 的最低抑制浓度低于制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度。

31. 根据权利要求 3 0 所述的方法, 其中细菌为选自粘性放线菌, 具核梭杆菌, 牙龈卟啉单胞菌, 变异链球菌和血链球菌的口腔致病细菌。

32. 根据权利要求 2 8 所述的方法, 其中制剂 A 选自香柏油、小檗碱、扁柏酚和光果甘草提取物。

33. 根据权利要求 2 8 所述的方法, 其中含抗微生物制剂 A 和 B 的组合物进一步包含不同于抗微生物制剂 A 和 B 的抗微生物制剂 C, 制剂 C 以有效抑制细菌生长的含量存在, 并选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

34. 一种降低抗微生物制剂 A 的最低抑制浓度的方法, 其中制剂 A 选自

小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl 二甲基甘氨酸、香叶醇、光果甘草提取物、扁柏酚、桉果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油，该方法包括：

将制剂 A 与一种不同于制剂 A 的抗微生物制剂 B 结合，制剂 B 选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl 二甲基甘氨酸、香叶醇、光果甘草提取物、扁柏酚、桉果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油，当制剂 B 存在时，制剂 A 的最低抑制浓度低于制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度。

35. 根据权利要求 34 所述的方法，其中将制剂 A 与制剂 B 的结合的步骤导致制剂 A 的最低抑制浓度协同性降低。

说明书

抗微生物组合物

发明领域

本发明涉及抗微生物制剂的组合物，组成这种抗微生物组合物的物质，以及抗微生物组合物的应用。

发明背景

牙周疾病和龋齿是全球主要的公众健康和经济问题。目前广泛认为这两种牙周疾病都是由细菌引起的，而这些细菌成团状滋生于牙齿上和牙龈区内，对于这些细菌团，通常所用的描述术语是“齿斑”。对于牙周疾病，Schluger 等(Schluger, Yuodelis, Page & Johnson, 牙周疾病, 第二版, 153-262 页, Lea & Fbiger, 1990)报道了滋生于牙齿与牙龈交界区域的齿斑细菌引起牙龈的炎症，称为牙龈炎，其特征在于牙龈(“龈”)肿胀、水肿、发红、易出血。如果齿斑未被完全清除，许多人的牙龈炎可能发展成牙周炎或牙周疾病。牙周炎的特征通常在于牙齿周围组织的慢性炎症，这种炎症导致了支持骨的吸收。牙周疾病是成人缺齿的首要原因。龋齿(牙洞)也是由细菌引起的，主要致病成分是变异链球菌(McGhee, Michalek & Cassell, 牙齿微生物学, 第 279 页, Harper & Row, 1982)。

防止齿斑或去除齿斑一直是研究的焦点，其最终目的是抑制龋齿和牙周疾病。虽然经常刷牙能够在一定程度上防止齿斑的形成，但是仅靠刷牙并不足以有效地防止齿斑的形成或基本上去除牙齿上已经形成的齿斑。既然刷牙本身通常不足以有效预防由致病齿斑菌引起的龋齿或牙周疾病，那么现已提出应用抗细菌物质如洗必太，氯化苯甲烃铵，氯化十六烷基吡啶噻的化学方法。

本领域古老技术是将天然物质用于牙齿和牙龈的治疗，这自 19 世纪 80 年代中期已有记载并已进行应用。从那时起，有许多专利公开了含天然物质提取物的口腔产品组合物。

现在已知扁柏酚、柠檬醛、香叶醇、cocamidopropyl 甜菜碱、小檗碱

和刺柏子油 (Juniper berries oil) 单独都表现对某种细菌的抗微生物效应。

美国专利号 3, 940, 476 描述了一种抑制齿斑形成的方法, 它包括将下列物质中的一种或几种的组合作为活性制剂局部施用给牙齿, 这些物质包括: (a) 异硫氰酸丙烯酯, (b) uranine, (c) obtusastylene, (d) 柠檬醛, (e) 香茅醇, (f) 橙花醇, 或 (g) 香叶醇。

美国专利号 4, 913, 895 描述了一种口腔组合物, 它在水性介质中含线性聚磷酸盐或环状聚磷酸盐及薄荷醇, anethol, 或其混合物。有报道这种组合物具有抗细菌效应, 并预防结石和牙周疾病的发生。

美国专利号 4, 966, 754 描述某些香料油和它们的组合具有对黑曲霉、白色念珠菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抗微生物效应, 因而可用作化妆品组合物中的防腐剂。报道了 14 种精油的混合能够提供针对普通微生物的抗微生物效力。公开了上述组合物适于作为化妆品组合物中的防腐剂。

美国专利号 4, 999, 184 描述了含某种焦磷酸盐的组合物, 据报道焦磷酸盐提供抗结石效应。

美国专利号 5, 316, 760 描述了含大蓍麻提取物和欧洲杜松提取物组合的口腔护理产品, 据描述这些提取物的组合导致协同减少齿斑的形成和牙龈的炎症或出血。也已描述千叶蕃提取物可作为大蓍麻提取物及欧洲杜松提取物组合的合适添加剂。

美国专利号 5, 472, 684 描述含麝香草酚和丁子香酚, 以及选择性地倍半萜烯醇, 如法呢醇的组合物。据报道这种组合物有抗齿斑和抗牙龈炎效应。澳大利亚茶树油、鼠尾草油和桉叶油已描述为能增强漱口液的抗齿斑活性及抗牙龈炎活性, 因而配制在公开的组合物中。

鉴定作为抗齿斑和抗结石制剂的抗微生物制剂的效果的一个特征是它的最小抑制浓度或 MIC。MIC 是当没有观察到细菌生长时以毫克每毫升表示的抗微生物制剂的最小浓度。当浓度低于 MIC 时, 抗微生物制剂不能有效杀死细菌或抑制细菌生长和繁殖; 当浓度高于 MIC 时, 抗微生物制剂能有效地杀死细菌或抑制细菌生长和繁殖。

典型地, 抗微生物制剂以初始浓度导入口腔。由于口腔中的动态变化,

初始浓度随即开始下降。实际上，口腔内抗微生物制剂的浓度将降至低于 MIC。因此，研究抗齿斑及抗结石配方工作的目标是使用 MIC 较低的抗微生物制剂。

洗必太的 MIC 约为 $1 \mu\text{g/ml}$ ，并且它是衡量其它抗微生物制剂的标准。虽然洗必太的 MIC 较为理想，但它有令人不快的味道和牙齿染色的副作用。

发明概述

本发明涉及这一发现，即将一种下述抗微生物制剂加入另一种下述抗微生物制剂中，导致未预料地和令人惊讶地减少其中至少一种制剂在组合中，即存在其它制剂时测定的最低抑制浓度。换言之，在制剂 B 存在时测定的制剂 A 的 MIC 低于制剂 A 单独存在时，即无制剂 B 存在时测定的制剂 A 的 MIC。因此，在与制剂 B 组合时，抗微生物制剂 A 可在低于其单独存在时所测的 MIC 的浓度下有效抑制或防止细菌的生长。如果制剂 A 和 B 的组合导致制剂 B 的 MIC 低于制剂 B 单独存在时所测的 MIC，那么抗微生物制剂 B 可在低于其单独存在时所测的 MIC 的浓度下有效抑制或防止细菌的生长。换言之，当制剂 A 和 B 组合时，至少其中一种制剂能够在低于其单独存在时抑制或防止细菌生长所需浓度的浓度下抑制或防止细菌生长。

根据本发明组成的抑制细菌生长的组合物包括有效抑制细菌生长含量的抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B，其中制剂 A 和制剂 B 从含以下物质的一组中选取：小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。根据本发明组成的另一种抑制细菌生长的组合物包括香叶醇和选自下列物质的抗微生物制剂：小檗碱、香柏油、氯霉素、香茅油、cocamidopropyl-二甲基甘氨酸、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

根据本发明，制剂 B 存在时，制剂 A 的最小抑制浓度低于制剂 A 单独的最小抑制浓度。此外，优选地当制剂 A 存在时制剂 B 的最小抑制浓度低于制剂 B 单独的最小抑制浓度。本发明的组合物有效抑制或防止细菌的生长，如粘性放线菌，直肠弯曲杆菌，具核梭杆菌，牙龈卟啉单胞菌，变异



链球菌和血链球菌。

此外，根据本发明组成的组合物包含第三种不同于制剂 A 和 B 的抗微生物制剂 C，其选自小檗碱、香柏油、氯霉素、柠檬醛、香茅油、cocarmidopropyl-二甲基甘氨酸、香叶醇、光果甘草提取物、扁柏酚、浆果罗勒油、刺柏子油、柠檬罗勒油、柠檬油和迷迭香油。

根据本发明组成的组合物可用于多种产品，如清洁剂、擦净剂、药品和口腔卫生产品。口腔卫生产品的例子包括牙膏，漱口水。

根据本发明组成的抑制细菌生长的组合物可通过与表面接触使用。

附图简述

附图是关于三种抗微生物制剂 A、B 和 C 的组合在 96 孔板中稀释情况的图解说明。

优选实施方案详述

如本文所用的，以下术语具有下列含义：

“小檗碱”是指 5，6-二氢-9，10-二甲氧基苯[g]-1，3-苯并间二氧杂环戊烯[5，6-a]喹啉及其盐。小檗碱是从北美黄连和小檗科中其它几种植物中分离的生物碱，典型的小檗碱盐包括盐酸小檗碱，硫酸氢小檗碱和硫酸小檗碱。小檗碱的化学摘要作用登记（CAS）号是 84603-60-1。

“香柏油”是指主要从铅笔柏或 *Juniperus ashei* 的心材中提取的挥发性全油提取物，该全油提取物的成分包括：thujopsene，雪松醇， α -珞玢烯， α -雪松烯， β -雪松烯和韦得醇，香柏油的 CAS 号为 8000-27-9。

“氯霉素”是指 2，2-二氯-N-[2-羟基-1-(羟甲基)-2-(4-硝基苯基)乙基]乙酰胺，氯霉素来自委内瑞拉链霉菌或经有机合成。氯霉素的 CAS 号是 56-75-7。

“柠檬醛”是指 3，7-二甲基-2，6-octadienal，它是禾本科的香茅和 *Cymbopogon flexuosus* 的挥发性油，柠檬醛可从商业途径买到纯化合物，柠檬醛的 CAS 号是 5392-40-5。

“香茅油”是指通过 *Cymbopogon nardus* 或 *Cymbopogon winterianus* 的蒸汽蒸馏生产的商业上可买到的油。香茅油的 CAS 号为 8000-29-1。

“香叶醇”是指对-3，7-二甲基-2，6-辛二烯-1-醇，香叶醇的 CAS 号



是 106-24-1。香叶醇是作为其它香料油，如香茅，柠檬草，玫瑰油和玫瑰草中的成分被发现的。

“cocamidopropyl 二甲基甘氨酸”的 CAS 号为 61789-40-0，83138-0-3 和 86438-79-1。

“光果甘草提取物”也被称作甘草根提取物，是指来自光果甘草的粗提取粉。存在包括 *G. typica* 和 *G. glandulifera* 几个品种。光果甘草提取物含有甘草酸和甘草次酸成分。全提取物可从商业途径买到或通过溶剂抽提得到，如以下所述的乙醇提取法。

“扁柏酚”是指 β -thujuplicin，是北美香柏的提取物。

“浆果罗勒油”是指一种有浆果成分的罗勒植物的所选品种的全提取物，浆果罗勒是矮糠罗勒的栽培品种。

“刺柏子油”是指来自成熟的桧属欧洲杜松干果的具柠檬醛成分的挥发性全油提取物，刺柏子油又被称为桧树提取物，欧洲杜松提取物和桧树浸膏。刺柏子油的 CAS 注册号为 84603-69-0。

“柠檬罗勒油”是指从含有柠檬醛成分的所选罗勒属品种中提取的挥发性全油提取物。柠檬罗勒是矮糠罗勒的人工栽培品种，该品种具有较高的柠檬醛含量。

“柠檬油”是指从柠檬新鲜果皮提取的挥发性全油提取物。柠檬油也称为柠檬的油。柠檬油的 CAS 注册号为 8008-56-8。

“迷迭香油”是指从迷迭香的花顶端提取的全油提取物。迷迭香油也被称为迷迭香提取物或迷迭香油的提取物。迷迭香油的 CAS 注册号为 84606-14-8。

有关上述精油的其它信息可查阅 kirk-Othmer 化学技术百科全书，第 4 版，第 7 册，603-674 页，John Wiley & Sons 有限公司。

所有前述的都可从商业来源得到。

“最低抑制浓度或 MIC”是指当观察不到细菌生长时抗微生物制剂的最低浓度，该浓度用每毫升中抗微生物制剂的毫克数表示。浓度低于最低抑制浓度时，抗微生物制剂不能有效地杀死或抑制细菌生长繁殖，高于最低抑制浓度的抗微生物制剂能有效地杀死或抑制细菌生长繁殖。

观察到与组合中的特定制剂单独存在时，即不存在其它制剂时的最低

抑制浓度相比，根据本发明组成的抗微生物制剂组合表现出令人惊讶和出乎意料地降低组合中至少一种，优选地所有抗微生物制剂的最低抑制浓度。所观察到的惊人的最低抑制浓度的降低涉及代表性的革兰氏阳性和革兰氏阴性口腔病原细菌，如粘性放线菌，具核梭杆菌，牙龈卟啉单胞菌，变异链球菌，血链球菌和直肠弯曲杆菌。举例来说，如果制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度是 10，制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度是 20，根据本发明，将制剂 A 和制剂 B 组合后，在制剂 B 存在时，制剂 A 的最低抑制浓度相对于制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度降低了出乎预料和惊人的数量。另外，优选地，在制剂 A 存在时，制剂 B 的最低抑制浓度相对于制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度显著出乎意料地降低。在组合中制剂 A 和制剂 B 最低抑制浓度的降低使得制剂 A，和优选地制剂 B，能够在与仅抗微生物制剂 A 或仅抗微生物 B 存在时相比更低浓度下抑制和/或预防微生物的生长和繁殖。如发明背景中所述，通常抗微生物制剂从制剂开始施用时起浓度即下降。因此，通过有效降低抗微生物制剂的最低抑制浓度，能够延长该抗微生物制剂预期的抑制或预防细菌生长的时间范围。以下将更详细地描述与本发明相结合的令人吃惊且出乎意料的结果，并在随后的实施例中举例说明。

根据本发明组成的抗微生物制剂组合包含：（1）选自小檗碱，香柏油，氯霉素，柠檬醛，香茅油，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，光果甘草提取物，扁柏酚，桉果罗勒油，刺柏子油，柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油的抗微生物制剂 A；和（2）选自同样目录的不同于抗微生物制剂 A 的抗微生物制剂 B。另外，根据本发明组成的组合包含香叶醇以及选自小檗碱，香柏油，氯霉素，香茅油，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，光果甘草提取物，扁柏酚，桉果罗勒油，刺柏子油，柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油的抗微生物制剂。

以上列出的抗微生物制剂的很多组合中，优选的组合包括香柏油以及选自小檗碱，氯霉素，柠檬醛，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，香叶醇，光果甘草提取物，扁柏酚，桉果罗勒油和迷迭香油的抗微生物制剂，最优选的是香柏油与小檗碱，氯霉素，柠檬醛，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，香叶醇和光果甘草提取物的组合。

另一组优选的组合包括小檗碱和选自氯霉素，柠檬醛，香叶醇，光果甘草提取物，扁柏酚，浆果罗勒油，刺柏子油和柠檬罗勒油的抗微生物制剂。与小檗碱组合最优选的是氯霉素，香叶醇，光果甘草提取物和柠檬罗勒油。

其它优选的组合包括扁柏酚与氯霉素，柠檬醛，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，香叶醇，光果甘草提取物，刺柏子油和柠檬罗勒油的组合。与扁柏酚组合最优选的是选自氯霉素，cocamidopropyl-二甲基甘氨酸，香叶醇和光果甘草提取物的抗微生物制剂。

将光果甘草提取物与选自香柏油，氯霉素，香叶醇，浆果罗勒油，刺柏子油，柠檬罗勒油，柠檬油和迷迭香油的抗微生物制剂组合时得到优选的结果。与光果甘草提取物组合最优选的是选自香柏油，香叶醇，刺柏子油和迷迭香油抗微生物制剂。

前述的著名抗细菌制剂组合是优选的和最优选的，因为：（1）组合中特定抗微生物制剂的最低抑制浓度较其单独存在时所测的最低抑制浓度降低的程度；及（2）由于制剂组合得到的各个抗微生物制剂的最低抑制浓度。

除了上述包含两种抗微生物制剂的组合物以外，本发明也涉及包含两种以上抗微生物制剂，如三种或四种抗微生物制剂的组合物，其中组合中至少一种，优选地所有组成制剂的最低抑制浓度低于这些组分单独存在时所测的最低抑制浓度。同样地，选自以上列出的一组物质不同于抗微生物制剂 A 和制剂 B 的抗微生物制剂 C 可加入到抗微生物制剂 A 和制剂 B 中以提供根据本发明的组合物的第三种制剂。根据本发明组成的抗微生物制剂 A，B 和 C 的组合，其中至少一种优选地所有组成制剂的最低抑制浓度低于这些组分单独存在时所测的最低抑制浓度。此外在某些情况下，三种抗微生物制剂的组合中组分的最低抑制浓度低于三种组分制剂的两两不同配对时的最低抑制浓度。

只要得到如上所述组合的成分的最低抑制浓度的降低，根据本发明组成的组合物中抗微生物制剂的比例并限于任何特定值。已观察到两种组成成分的比例在约 1：500 到约 500：1 的范围内能提供最低抑制浓度惊人而出乎预料的降低。根据本发明，在三种组分系统中，任一制剂相对于另

外两种制剂的比例在约 1： 500 到约 500： 1 的范围内能降低其最低抑制浓度。

在根据本发明配制的组合物中存在的抗微生物制剂具体含量并不限于任何特定的值，只要其含量能有效地抑制和/或预防细菌的生长，即抗微生物制剂的含量大于对应于特定细菌的最低抑制浓度。当在根据本发明组成的组合物中加入各种载体时，抗微生物制剂的含量优选地选择保证一旦该组合物被施用或提供后，抗微生物制剂浓度大于其针对特定细菌的最低抑制浓度的含量。每种制剂恰当的含范围以含制剂的组合物的总重量为基础，按重量百分比，从约 0.001% 到约 5.0%，优选地约 0.01% 到约 2.5%。

根据本发明组成的组合物可施用于需要抑制细菌生长的表面，用于控制表面细菌生长的产品的例子包括清洁剂，擦净剂，药品，和优选地治疗产品，如口腔卫生产品，包括牙膏，洗口液和漱口液。与根据本发明的组合物结合的这些产品的成分优选地选择对根据本发明组成的组合物降低最低抑制浓度的方法没有拮抗效应的成分。

牙膏通常是在水性致湿体系中含磨擦增亮剂的增稠浆液。典型地，牙膏含磨擦剂(能够去除污染的菌膜)，致湿剂(香味剂、磨擦剂和增稠剂的载体，以使牙膏具有一定的结构和稳定性)，表面活性剂(主要在使用时产生泡沫)，氟化物(预防牙洞)，和香味剂(赋予牙膏香味)。

有多种磨擦剂可用于牙膏中，如硅胶、硅沉淀物、磷酸氢二钙、二水合磷酸氢二钙、三水合氢氧化铝、焦磷酸钙、碳酸钙和不溶性偏磷酸钙。

合适的致湿剂的例子包括山梨糖醇，甘油和聚乙二醇。

硅气凝胶、焦化硅、硅沉淀物、羧甲基纤维素、羧基乙烯多聚体、黄原胶和角叉藻聚糖适于作为增稠剂。

典型表面活性剂包括十二烷基磺酸钠和十二烷基苯磺酸盐。

多种香味剂可由商业途径得到，含香味剂能提供薄荷味和其它清新香味，常用的如桂皮。

漱口液或洗口液通常是含水的有香味的可倾倒的乳剂，在大多数情况下掺入了抗微生物制剂。典型的漱口液成分包括使人乐于使用并加强治疗或新鲜质量的香味剂，保持香味剂稳定分散的表面活性剂，改善口感的致湿剂，增稠剂和活性剂。漱口液中也常用表面活性剂以产生少量泡沫。



掺入了根据本发明组成的抑制细菌生长的组合物的牙膏和漱口液按常规方法与抗微生物制剂一起配制，抗微生物制剂存在的含量超过在其组合中测定的 MIC。

以下实施例说明根据本发明组成的抑制细菌生长的组合物中的成分的 MIC 令人吃惊且出乎意料降低。

实施例 1 单独抗微生物制剂和组合中两种抗微生物制剂最低抑制浓度的测定

本实施例说明了如何测定要结合形成根据本发明的组合物的单独抗微生物制剂的最低抑制浓度并且也说明了如何测定组合中抗微生物制剂最低抑制浓度。

为了测定这些抗微生物制剂单独的最低抑制浓度和当这些制剂组合形成根据本发明的组合物时其最低抑制浓度，使用微量滴定板将抗微生物制剂稀释到多种浓度。

细菌培养物在 37 °C 培养。在如下所述稀释抗微生物制剂以前，将细菌培养物在 2000 转/分离心形成沉淀并悬浮于磷酸缓冲液中。用分光光度计将接种物标准化到 550 纳米下光密度在 0.180-0.220 之间(相当于每毫升 5.0×10^7 克隆形成单位，CFU)。接种物被放置在一边直至完成抗微生物制剂的稀释。

使用无菌的聚苯乙烯 96 孔板以稀释抗微生物制剂 A 和抗微生物制剂 B 的组合物。采用无菌技术，在每一个所测加样孔中加入 100 微升蒸馏水。抗微生物制剂的稀释方案分两个部分，第一部分为抗微生物制剂 A 的稀释，第二部分为抗微生物制剂 B 的稀释。将 100 微升制剂 A 的贮备液加入每列的第一个孔中。这是基于贮备液浓度的 1/2 稀释。然后将第一孔中的 100 微升液体转移到下一个孔中，并依次转移到每一个测试加样孔中，每一次转移将前一个加样孔的浓度稀释了一半。然后在每行的第一个孔中加入 100 微升制剂 B 的贮备液，并依照与制剂 A 相同的稀释方法在垂直方向交叉向下稀释。在完成制剂 B 的稀释以后，将 80 微升与所研究细菌对应的培养基加入每个孔中。

滴定板的每一列的第一个孔中都加入 100 微升制剂 A 的储存液，随后将 100 微升液体转移到下一个加样孔中并依次至该列的每一个加样孔。每

一次转移都将前一个孔的制剂 A 的浓度稀释了一半。然后用制剂 B 在另一列重复以上操作。这两列孔用于测定制剂 A 和制剂 B 单独存在时的最低抑制浓度。在完成制剂 A 单独和制剂 B 单独的稀释以后，将 80 微升与所研究细菌对应的培养基加入这两列的每个孔中。

随后将 20 微升接种物加入到每一个孔中，这使得第一个孔的最终稀释度为贮备液浓度的 1/4，其余孔为每次转移的前一孔的 1/2 稀释。将 96 孔板在根据特定微生物变化的条件下培养。需氧细菌粘性放线菌、变异链球菌和血链球菌在周围室温条件下培养。厌氧细菌具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌在 10% 氢气，5% 二氧化碳，其余为氮气的气体条件下培养。

经过 48 小时的培养后，用分光光度计测定培养滴定板的光密度值 (OD) 以测定微生物的生长。对于每种制剂，分光光度计读出值在 0.05 OD 以下 (即未检测到微生物生长) 的孔中，最低稀释度的孔被认为代表该组合。通过计算起始贮备液的浓度和 96 孔板中所得稀释度，确定组合中每种制剂的最低抑制浓度。

表 1 中列出了 96 孔板中接种的特定细菌以及对应于该微生物的培养基和培养条件。

表 1 微生物/生长培养基/培养条件

微生物粘性放线菌(AV)	ATCC 号	培养基	培养条件
	19246	TSB ¹	48 小时/37 °C/需氧
具核梭杆菌(FN)	10933	FN media ³	48 小时/37 °C/厌氧
牙龈卟啉单胞菌(PG)	33277	PG media ²	48 小时/37 °C/厌氧
变异链球菌(SM)	25175	TSB1	48 小时/37 °C/需氧
血链球菌(SS)	49295	TSB1	48 小时/37 °C/需氧

1 3.0%(重量/体积比)胰酪豆胨培养液,0.1%酵母提取物和 999 毫升蒸馏水;

2 3.0%(重量/体积比)3.0%胰酪豆胨培养液,0.5%酵母提取物,0.05% L-半胱氨酸,0.0005%氯化高铁血红素,0.00002%维生素 K₃ 和 999 毫升蒸馏水;

3 3.0%(重量/体积比)胰酪豆胨培养液,0.5%酵母提取物,1.0%蛋白胨,L-半胱氨酸提取物,0.0005%氯化高铁血红素,0.00002%维生素 K₃ 和 999 毫升蒸馏水。

抗微生物制剂 A 和 B 由表 2 列出的物质中选出。

表 2

盐酸小檗碱 (BX1)
 香柏油 (RC1)
 氯霉素 (CR1)
 柠檬醛 (CIT1)
 香茅油 (CTR1)
 cocamidopropyl 二甲基甘氨酸 (TB1)
 香叶醇 (GRA1)
 光果甘草提取物 (GLY)
 扁柏酚 (HK1)
 浆果罗勒油 (JFB1)
 刺柏子油 (JPE1)
 柠檬罗勒油 (LMB1)
 柠檬油 (LMO1)
 迷迭香油 (ROF1)

在以下表格中，代表性的抗微生物制剂 A 和 B 对应于表 2 中列出的缩写识别，另外，引用表 1 中列出的 5 种微生物时采用表 1 中列出的缩写。

根据上述方案，对表 2 中列出的抗微生物制剂的各种组合进行检测，以确定那些抑制可见的微生物体外生长的制剂的组合，并测定在组合中制剂的最低抑制浓度。另外，根据上述方案测定在两种成分组合中所用的每个抗微生物制剂抑制可见的微生物体外生长的最低浓度，例如 MIC。所得结果总结于表 3-16 中。在每个表中，给出了制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度的平均值。因为根据上述方案，接种并培养了多孔滴定板以确定关于多个组合的信息，在每个实验中，制剂 A 单独存在时的 MIC 得到测定所以表 3-16 中列出的制剂 A 单独存在时的最低抑制浓度代表这些数值的平均值。

表 3 香柏油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当香柏油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
RCI	--	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
	+CTR1	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

表 4 盐酸小檗碱单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当盐酸小檗碱与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+CTR1	7.8	2.0	3.9	2.0	3.9
	+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

表 5 扁柏酚单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当扁柏酚与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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

表 6 光果甘草提取物单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当光果甘草抽提物与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
GLY	--	15.0	15.6	12.1	15.6	6.6
	+BX1	7.8	3.9	1.0	7.8	3.9
	+RC1	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

表 7 香叶醇单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当香叶醇与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+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
	+LMO1	31.3	7.8	62.5	31.3	31.3
	+ROF1	31.3	31.3	15.6	31.3	31.3

表 8 氯霉素单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当氯霉素与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
CR1	--	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	1.6
	+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	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

表 9 柠檬醛单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当柠檬醛与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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

表 10 香茅油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当香茅油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+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

表 11 浆果罗勒油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当浆果罗勒油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
A	B	AV	FN	PG	SM	SS
JFB1	--	89.6	73.7	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

表 12 刺柏子油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当刺柏子油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+RC1	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

表 13 柠檬罗勒油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当柠檬罗勒油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+RC1	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
	+CTR1	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

表 14 柠檬油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当柠檬油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+CTR1	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
	+LMB1	31.3	15.6	15.6	31.3	31.3
	+ROF1	31.3	31.3	31.3	31.3	31.3

表 15 迷迭香油单独及与抗微生物制剂 B 组合时的最低抑制浓度

制剂		当迷迭香油与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+RC1	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
	+CTR1	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

表 16 Cocamidopropyl-二甲基甘氨酸单独及与抗微生物制剂 B 组合时其最低抑制浓度

制剂		当 cocamidopropyl-二甲基甘氨酸与制剂 B 组合时 针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
	+RC1	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
	+CTR1	7.8	1.0	2.0	1.0	1.0
	+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

本实例阐述了将抗微生物制剂 B 加入抗微生物制剂 A 中对抗微生物制剂 A 的最低抑制浓度的影响。所得结果说明了当与制剂 B 结合时制剂 A 的最低抑制浓度低于其单独存在时的最低抑制浓度。

实施例 2 单个抗微生物制剂和组合物中三种抗微生物制剂最低抑制浓度的测定

本实例阐述了根据本发明配制的三种抗微生物制剂的组合如何抑制可见的口腔微生物的体外生长。此外本实例还描述了组合中抗微生物制剂的最低抑制浓度低于这些抗微生物制剂单独存在时和这些制剂在各种两两配对中的最低抑制浓度。此处描述了抗微生物制剂的大量组合以形成含三种抗微生物制剂的组合或三联组合，每种形成的三联组合包含香柏油、盐酸小檗碱或扁柏酚。

所用方案是上述实施例 1 方案的改进。在 96 孔板的二维方向上进行实验。为了评估三种制剂，针对第三种制剂将其中的两种制剂配对。例如，针对不同浓度的抗微生物制剂 C，在 96 孔板上评估不同浓度的抗微生物制剂 A 加抗微生物制剂 B。针对另外两种可能的配对重复此过程，即 A+C 与 B，B+C 与 A。这样，对每种三联组合需要三次实验以评估三种可能的配对方式。

细菌接种物如实施例 1 所述的得到制备。

无菌的聚苯乙烯 96 孔滴定板用于稀释抗微生物制剂 A、B 和 C。使用无菌技术，在每一加样孔中加入 100 微升蒸馏水。稀释方案分为两部分。首先是组合的制剂 A 和 B 的稀释，然后是制剂 C 的稀释。如下所述进行制剂 A 和 B 的稀释：先在每列的第一个孔中加入 50 微升制剂 A 的贮备液，再将 50 微升制剂 B 的贮备液加入每列的第一个孔中。这样每列的第一个孔中含有 50 微升制剂 A 的贮备液和 50 微升制剂 B 的贮备液。然后从每列第一个孔取 100 微升溶液转移到该列的下一个加样孔中，并依次在此列转移下去。每次转移是前一个孔浓度的 1/2 稀释。

如下所述进行制剂 C 的稀释：将 100 微升制剂 C 的贮备液加入每行的第一个孔中，然后从每行第一个孔取 100 微升溶液转移到下一个孔中，并依次在此行的加样孔中转移下去。每次转移是前一个孔浓度的 1/2 稀释。附图是按上述稀释方案得到的抗微生物制剂 A、B 和 C 的浓度图示。每种抗

微生物制剂贮备液的起始浓度为每毫升 2500 微克。如图所示，制剂 A 和制剂 B 的浓度在所给列中由上至下降低。制剂 C 的浓度在每行中由左至右降低。完成制剂 C 的稀释后，至少有一列含有稀释的制剂 A 和 B 和任何制剂 C。该列孔用于测定制剂 A 和制剂 B 在组合中的最低抑制浓度，另外，将制剂 C 的贮备液沿一行进行稀释以测定制剂 C 单独存在时的最低抑制浓度。向每孔中加入 80 微升与所研究细菌对应的培养基。表 1 列出了与细菌对应的培养基。

然后将 20 微升接种物加入每个孔中，这导致第一孔中制剂 A 和制剂 B 的终浓度为贮备液浓度的 $1/8$ ，制剂 C 是贮备液浓度的 $1/4$ 稀释。

96 孔板在根据微生物变化的条件下培养。表 1 列出了微生物及其特定培养条件，除了表 1 所列细菌，还用到了直肠弯曲杆菌 (CR)。CR 的培养基为 0.74% (重量/体积比) 脑心浸出液，0.01% 的酵母提取物，0.2% 甲酸钠，0.03% 延胡索酸钠，0.005% 氯化高铁血红素，和 999 毫升蒸馏水。CR 的培养条件为 37°C ，厌氧条件下 48 小时。然后用分光光度计测定滴定板的光密度以确定微生物的生长情况。对于每种制剂，含分光光度计读出值低于 0.05OD 的最低稀释度的加样孔被认为代表该组合。通过计算起始贮备液的浓度和 96 孔板中所得稀释度测定每种制剂的最低抑制浓度。

所得数据总结于表 17-35。

表 17 香柏油、柠檬醛和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
A	B	C	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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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 其左侧表示每种制剂单独使用时的最低抑制浓度;
- 2 其左侧表示每种制剂在第二种制剂存在的时最低抑制浓度;
- 3 其左侧表示每种制剂在另外两种制剂存在时的最低抑制浓度

表 18 香柏油、盐酸小檗碱和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 19 红香柏油、盐酸小檗碱和扁柏酚单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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	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
制剂 A, B&C 三联组合 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	15.6
+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

表 20 红香柏油、盐酸小檗碱和浆果罗勒油单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 21 香柏油、扁柏酚和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 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
制剂 A, B&C 三联组合 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	3.9	7.8	1.0
+HK1			0.4	0.1	0.2	0.4	0.5

表 22 香柏油、扁柏酚和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
+CIT1			31.3	31.3	15.6	31.3	31.3
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 23 香柏油、扁柏酚和浆果罗勒油单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
+JFB1			31.3	31.3	15.6	31.3	15.6
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 24 香柏油、盐酸小檗碱和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 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
制剂 A, B&C 三联组合 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	3.9
BX1			3.9	3.9	1.0	1.0	3.9

表 25 盐酸小檗碱、扁柏酚和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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	62.5	31.3	31.3	31.3
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 26 盐酸小檗碱、扁柏酚和桉果罗勒油单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 27 盐酸小檗碱、扁柏酚和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
BX1			15.6	31.3	7.8	15.6	15.6
+HK1			0.8	1.6	0.2	0.8	0.8
BX1			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
制剂 A, B&C 三联组合 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

表 28 扁柏酚、香叶醇和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
--	--	CIT1	125	62.5	62.5	125	125
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 29 香柏油、香叶醇和桉果罗勒油单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
RC1			15.6	15.6	3.9	3.9	7.8
+GRA1			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

表 30 香柏油、浆果罗勒油和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 31 盐酸小檗碱、桉果罗勒油和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 32 盐酸小檗碱、浆果罗勒油和香叶醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 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
制剂 A, B&C 三联组合 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
GRA1			31.3	31.3	31.3	31.3	31.3
+BX1			7.8	1	15.6	7.8	7.8
+JFB1			15.6	2	31.3	15.6	15.6

表 33 盐酸小檗碱、柠檬醛和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 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
制剂 A, B&C 三联组合 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

表 34 扁柏酚、浆果罗勒油和柠檬醛单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
HK1			0.8	1.6	3.2	0.8	0.8
+JFB1			31.3	62.5	125	31.3	31.3
HK1			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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
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

表 35 扁柏酚、桉果罗勒油和香叶醇单独使用，两两配对及在组合中的最低抑制浓度

单独制剂 ¹			针对所测细菌的 MIC($\mu\text{g/ml}$)				
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
制剂 A, B&C 两两配对 ²							
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
制剂 A, B&C 三联组合 ³							
HK1			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

本实施例举例说明抗微生物制剂 A、B 和 C 在组合中的最低抑制浓度低于在缺少其它抗微生物制剂时单独抗微生物制剂的最低抑制浓度。

实施例 3 牙膏配方

以下实施例描述了根据本发明配制的含抗微生物制剂 A、B 和 C 的牙膏。

表 36 配方 18-12: 0.2% 香柏油, 0.1% 浆果罗勒油, 0.02% 柠檬醛(重量比)

成分	重量百分比(%)
水中 70 % 山梨醇	39.72
波洛沙姆 407(PLURONIC®F127)	5.0
去离子水	25.901
卡波姆 940(CARBOPOL®940)	0.3
氢氧化钠	0.205
黄原胶	0.40
甘油	2.5
氯化钠	0.254
糖精钠	0.400
SYLODENT® 750(二氧化硅)	10.0
SYLODENT® 15(二氧化硅)	12.0
香味剂	1.0
二氧化钛	0.50
十二烷基磺酸钠	1.5
香柏油	0.200
浆果罗勒油	0.100
柠檬醛	0.020

表 37 配方 18-36: 0.4%香柏油, 0.01%小檗碱(重量比)

成分	重量百分比 (%)
水中 70%山梨醇	40.050
泊洛沙姆 407(PLURONIC®F127)	5.0
去离子水	25.386
卡波姆 940(CARBOPOL®940)	0.3
氢氧化钠	0.2
黄原胶	0.4
甘油	5.0
氯化钠	0.254
糖精钠	0.800
SYLODENT® 750(二氧化硅)	10.0
SYLODENT® 15(二氧化硅)	10.0
香柏油	0.40
水合盐酸小檗碱	0.01
香味剂	1.00
FD&C 蓝色#1, 1%溶液	0.2
十二烷基磺酸钠	1.00

表 38 配方 18-35: 0.4%香柏油, 0.1%香叶醇和 0.01%小檗碱(w/w)

成分	重量百分比 (%)
山梨醇 70%	40.05
去离子水	24.486
水合盐酸小檗碱	0.01
卡波姆 940(CARBOPOL® 940)	0.30
泊洛沙姆 407(PLURONIC® F127)	5.00
氢氧化钠	0.20
黄原胶	0.40
氟化钠	0.254
糖精钠	0.80
SYLODENT® 750(二氧化硅)	10.0
SYLODENT® 15(二氧化硅)	10.0
香味剂	1.0
二氧化钛	1.0
十二烷基磺酸钠	1.0
甘油	5.0
香柏油	0.4
香叶醇	0.10

表 39 配方 18-37: 0.4%香柏油, 0.1%香叶醇和 0.05%柠檬醛(重量比)

成分	重量百分比 (%)
水中 70%山梨醇	40.050
泊洛沙姆 407(PLURONIC® F127)	5.0
去离子水	25.246
卡洛姆 940(CARBOPOL® 940)	0.3
氢氧化钠	0.2
黄原胶	0.4
甘油	5.0
氯化钠	0.254
糖精钠	0.800
SYLODENT®750(二氧化硅)	10.0
SYLODENT®15(二氧化硅)	10.0
香柏油	0.40
香叶醇	0.10
柠檬醛	0.050
香味剂	1.00
FD&C 蓝色#1, 1%溶液	0.2
十二烷基磺酸钠	1.00

卡波姆是指由丙烯酸与丙烯基蔗糖交联组成的多聚体, 所得到的如 CARBOPOL®940。CARBOPOL®904 是 B.F.Goodrich 公司的产品, SYLODENT 750 和 SYLODENT 15 是硅胶(二氧化硅)。SYLODENT® 可从 W.R. Grace & Co.-Conn. Davison Chemical Division 购买。

表 40 配方 18-58: 0.4% 香柏油, 0.1% 香叶醇(重量比)

成分	重量百分比 (%)
山梨醇 70%	40.05
去离子水	25.286
盐酸小檗碱水合物	0.01
卡波姆 940(CARBOPOL® 940)	0.3
波洛沙姆 407(PLURONIC® F127)	5.0
氢氧化钠	0.2
黄原胶	0.4
氟化钠	0.254
糖精钠	0.8
SYLODENT® 750(二氧化硅)	10.0
SYLODENT® 15(二氧化硅)	10.0
香味剂	1.0
FD&C Blue#1, 1%溶液	0.2
十二烷基磺酸钠	1.0
甘油	5.0
香柏油	0.4
香叶醇	0.1

泊洛沙姆 407 可从 BASF 公司得到, 商标为 PLURONIC® F127。PLURONIC® F127 是一种非离子的双功能嵌断共聚物, 在伯羟基团上终止, 分子量在 1, 000 至约 15, 000 之间变动。它们包括丙二醇的聚氧乙烯衍生物。

在真空混合器中配制如上配制物, 抽真空的同时, 加入去离子水并分散卡波姆, 当卡波姆很好混匀后, 加入氢氧化钠。在另一个容器中, 将 70% 的山梨醇和泊洛沙姆加热并混匀。随后将泊洛沙姆溶液加入真空混合器并与卡波姆混合物混合。将黄原胶加入甘油中, 将所得溶液加入真空混合器并掺入混合物中。然后将盐类加入真空混合器中, 缓慢混入二氧化硅。随

后加入活性成分、香味剂、十二烷基磺酸钠及着色剂，使之混匀直至完全分散。

实施例 4 用户认可

本实施例说明了根据本发明配制的含抗微生物制剂 A、B 和选择性地 C 的组合的牙膏的用户认可程度。

对表 36-40 列出的配方进行用户认可评估。配方 5-99 是一种商品牙膏，名为 Listerine® Cool Mint gel。

对一纽约 20 人进行偏爱研究。每人发给一管牙膏配制物并使用一周。参与者在周末填写一个问卷表，结果总结于下表 41 中。评分范围为 1-10，其中 1 表示差，10 表示好。记录并计算评分的平均值。

表 41 用户评价

配方	18-12	18-36	18-55	18-37	18-58	5-99
颜色	6.61	6.52	3.20	7.13	7.17	7.25
外表	6.27	6.74	3.75	6.91	6.89	6.75
味道	5.09	4.96	5.05	4.17	6.50	4.00
余味	5.22	5.13	5.20	4.48	6.50	3.85
香味	5.00	6.35	5.35	4.52	6.94	4.55
洁净	6.22	6.48	5.95	6.39	6.78	6.10
泡沫	6.22	6.30	6.00	6.19	6.00	5.85
稠度	6.09	6.39	6.25	6.04	5.67	5.75
口干	6.09	6.26	7.05	6.78	7.94	5.70
次日晨感觉	5.43	5.87	5.50	5.28	6.33	5.15
总口感	5.61	5.78	5.80	5.57	6.61	4.45
总满意度	5.04	5.37	5.20	5.53	6.44	4.20

本实例说明含有根据本发明的抗微生物制剂的配制物的用户总满意度，优于商业产品 Listerine® Cool Mint gel 的用户总满意度。

实施例 5 光果甘草的乙醇提取

将 25 克光果甘草植物材料粉末与 250 克 95:5 的乙醇/水混合物组合，室温下将混合物搅拌过夜，在布氏漏斗中用 Whatman 4 号滤纸滤除混合物中的固体，随后用 Whatman 5 号滤纸在布氏漏斗中进一步除去固体。用

Whatman 1 μ m 滤膜在布氏漏斗中除去其它的固体。最后用真空泵装置和 0.2 微米滤膜使溶液澄清。澄清溶液用旋转蒸发器浓缩得到固体。大约得到 2.5 克赭色固体，为光果甘草粗取物。

虽然本文说明并描述了发明的优选实施方案，但可预期在不超出本发明的精神和范围的情况下可进行各种修改。

