



F1000092709B

**(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGNINGSSKRIFT****92709****C (45) Patentti myönnetty
Patent meddelat 27 12 1991****(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5****C 07K 7/10, 7/06, A 61K 37/16, C 07F 9/11****S U O M I - F I N L A N D****(FI)****Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus - Patentansökning	880629
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	11.02.88
(24) Alkupäivä - Löpdag	12.06.87
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	11.02.88
(44) Nähtävaksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.09.94
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	PCT/AU87/00172
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
12.06.86 AU 6385 PH	

(71) Hakija - Sökande

1. The University Of Melbourne, Grattan Street, Parkville, Victoria 3052, Australia, (AU)
2. Victorian Dairy Industry Authority, Domville Avenue, Hawthorn, Victoria 3122, Australia, (AU)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Reynolds, Eric Charles, 14 Kelvinside Street, North Balwyn, Victoria 3103, Australia, (AU)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab**(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning**

**Fosfopeptidejä, niiden valmistusmenetelmä ja käyttö sekä niitä sisältäviä
suunhuoltokoostumuksia
Fosfopeptider, deras framställningmethod och använd samt munnvårdkomposition innehållande
dessa**

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

FI C 67654 (A 23J 3/02), FI C 67655 (A 23J 3/02)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on fosfopeptidi tai sen suola, jolla fosfopepti-
dillä on 5 - 30 aminohappoa, käsittäen sekvenssin

A-B-C-D-E

jossa A, B, C, D ja E ovat riippumattomasti fosfoseriini, fosfotreo-
niini, fosfotyroosiini, fosfohistidiini, glutamaatti ja aspartaatti
ja koostumukset, erityisesti koostumukset hampaille, sisältäen näitä.

Uppfinningen avser en fosfopeptid eller dess salt, vari fosfopepti-
den har 5 - 30 aminosyror, inkluderande sekvensen

A-B-C-D-E

vari A, B, C, D och E är oberoende fosfoserin, fosfotreonin, fosfo-
tyrosin, fosfohistidin, glutamat och aspartat, och sammansättningar,
speciellt sammansättningar för tänder, innehållande dessa.

Fosfopeptidejä, niiden valmistusmenetelmä ja käyttö sekä niitä sisältäviä suunhuoltokoostumuksia

5 Tämän keksinnön kohteena ovat fosfopeptidit ja niitä sisältävät suunhuoltokoostumukset.

Tämän keksinnön kohteena on myös menetelmä näiden fosfopeptidien valmistamiseksi sekä niiden käyttö suunhuoltolisäaineena elintarvikkeissa, makeisissa tai juomissa.

10 FI-patenteista 67655 ja 67656 tunnetaan fosfoamino-happoja sisältäviä polypeptidijakeita, jotka ovat hyödyllisiä ravinteina tai lääkkeinä. Fosfopeptidien rakennetta ei ole ilmoitettu.

15 Tämän keksinnön mukaiselle fosfopeptidille on tunnusomaista, että sillä on sekvenssi:

Glu-Met-Glu-Ala-Glu-Pse-Ile-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Val-Glu-Gln-Lys;

Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Pse-Leu-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg;

20 Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Pse-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys;

Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Pse-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys; tai

Glu-Gln-Leu-Pse-Pth-Pse-Glu-Glu-Asn-Ser-Lys.

25 Aminohapposymbolit ovat seuraavia: Pse-fosfoseriini, Ser-seriini, Pth-fosfotreoniini, Thr-treoniini, Glu-glutamaatti, Asp-aspartaatti, Ala-alaniini, Asn-asparagiini, Gln-glutamiini, Gly-glysiini, Arg-arginiini, His-histidiini, Ile-isoleusiini, Leu-leusiini, Lys-lysiini, 30 Met-metioniini, Pro-proliini, Tyr-tyrosiini, Val-valiini.

Fosfopeptidi on edullisesti pääasiallisesti puhtaassa muodossa.

35 Tämä keksintö mahdollistaa koostumuksen, joka sisältää peptidin tai sen suolan, tämän keksinnön mukaisesti ja fysiologisesti hyväksyttävän laimentimen.

Koostumus voi olla suun kautta annettavissa.

Fosfopeptidien ja/tai niiden suolojen seosta voidaan käyttää koostumuksessa.

5 Fosfopeptidi tai fosfopeptidien seos on edullisesti pääasiallisesti puhdas, ainakin siinä määrin, että se ei sisällä pahanmakuisia epäpuhtauksia.

10 Fosfopeptidi voidaan valmistaa synteettisesti kemiallisella synteesillä tai geeniteknologian avulla tai se voidaan uuttaa luonnollisesti esiintyvistä aineista. Keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomaista, että fraktioidaan kaseiinin, α_2 -kaseiinin, β -kaseiinin tai niiden suolan uute.

15 Kustannussyistä johtuen on nykyään edullisempaa uuttaa fosfopeptidi kaseiinista ja erityisesti alfa-s-kaseiinista tai beeta-kaseiinista. Fosvitiinia voidaan myös käyttää peptidin lähteenä. Lisäksi fosfoproteiineja viljakasveista, pähkinöistä ja kasviksista, erityisesti riisin, vehnän, kauran, ohran tai rukiin leseakanoista tai kuorista voidaan käyttää tuottamaan edellä mainittua peptidiä. Soijapapu ja liha sisältävät fosfoproteiineja, joita voidaan käyttää edellä mainitun peptidin saamiseksi.

20 Kaseiini ja erityisesti alfa-s-kaseiini tai beeta-kaseiini tai niiden suolat, kuten natriumkaseinaatti, sisältävät polypeptidejä, jotka voidaan lohkaista yksinkertaisemmiksi peptideiksi. Tällainen lohkaaisu voidaan suorittaa uuttamalla, tällainen uutto voi olla kemiallinen tai proteolyttinen.

25 Tällä hetkellä on edullista uuttaa kaseiini jollakin seuraavista aineista, trypsiini, pepsini, kymotrypsiini, papaiini, termolysiini tai pronaasi. Näistä trypsiini on edullinen.

30 Uutettu kaseiini voidaan fraktioida peptideiksi, käsittäen keksinnön mukaiset ja muut peptidit. Mainittujen muiden peptidien läsnäolo ei ole vahingollista tehokkuudelle, kuitenkin, tietyillä mainituilla muilla peptideilla

35

on epämiellyttävä maku ja senmukaisesti, mikäli jonkin mainituista muista peptideistä on oltava mukana, on edullista poistaa ne, joilla on epämiellyttävä maku. Yleensä ne mainituista peptideistä, joilla on epämiellyttävä maku, vaikuttavat olevan hydrofobisia.

Seuraavilla peptideillä on havaittu olevan epämiellyttävä maku:

1. Glu-Val-Leu-Asn
 2. Asn-Glu-Asn-Leu-Leu
 3. Ala-Pro-Phe-Pro-Gln-Val-Phe-Gly
 4. Leu-Arg-Phe
 5. Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Gln-Val-Phe-Gly-Lys
 6. Leu-Arg-Leu
 7. Phe-Tyr-Pro-Glu-Leu-Phe
- (Glu-glutamaatti; Val-valiini; Leu-leusiini; Asn-asparagiini; Ala-alaniini; Pro-proliini; Phe-fenyylialaniini; Gln-glutamiini; Gly-glysiini; Arg-arginiini; Lys-lysiini; Tyr-tyrosiini.)

Edullisesti peptidi on sellainen, joka osoittaa ainakin 15 %:n hydroksiapatiittiliukenemisnopeuden vähentymistä tässä määritetyissä koeolosuhteissa.

Edullisesti peptidi on sellainen, joka osoittaa ainakin 26 %:n hydroksiapatiittiliukenemisnopeuden vähentymistä tässä määritetyissä koeolosuhteissa.

Edullisesti peptidi on sellainen, joka osoittaa ainakin 30 %:n hydroksiapatiittiliukenemisnopeuden vähentymistä tässä määritetyissä koeolosuhteissa.

Edullisesti peptidi on sellainen, joka osoittaa ainakin 32 %:n hydroksiapatiittiliukenemisnopeuden vähentymistä tässä määritetyissä koeolosuhteissa.

Edullisesti peptidiä on läsnä 0,01 - 10 paino-%

Edullisesti peptidiä on läsnä 0,01 - 5 paino-%

Edullisesti peptidiä on läsnä 0,01 - 2 paino-%.

Tämän keksinnön mukainen koostumus voi olla syötäväksi kelpaavassa muodossa, kuten hammaspuhdistusaineen,

tabletin muodossa tai se voi käsittää fysiologisesti hyväksyttävän apuaineen tai suspension liuoksen paikallista käyttöä varten hampaille tai suun pesuun. Muut peptidin antomuodot ovat hyväksyttäviä, mikäli ne ovat fysiologisesti hyväksyttäviä.

Erityisen kiinnostavia koostumuksia, joihin fosfopeptidit voidaan lisätä, ovat purukumi, aamiaisruoat, jäätelö ja muut jäädytetyt makeiset, leivokset, makeiset ja kakut.

Erityisen kiinnostavia ovat myös hampaanpuhdistusaineet, suunpesunesteet ja valmisteet paikallista levittämistä varten hampaille.

Koska tämän keksinnön mukaisen koostumuksen, joka on vesipitoinen liuos, käytöllä hampaiden pinnoille, jotka ovat muodostuneet poistettaessa vaurioitunut aine olemassa olevista rei'istä tai murtumalla, on epätodennäköisesti pitkäaikainen vaikutus, on lisäksi yritetty valmistaa koostumuksia, joilla voi olla tämä haluttu pitkäaikainen vaikutus.

Tämän mukaisesti tämän keksinnön kohteena on myös tämän keksinnön mukainen koostumus, joka on sovellettu pysymään kosketuksessa hammaspinnan kanssa pitkitetty aika. Tämä keksintö mahdollistaa myös menetelmät ja keinot tämän keksinnön mukaisten koostumusten ylläpitämiseksi kosketuksessa hampaan pinnan kanssa pitkitetyn ajanjakson ajan.

Tähän viimeiseen nähden, pitkitetty ajanjakso tulisi tulkita sopusoinnussa haluttuun tehokkuuteen ja aikaan nähden, joka tarvitaan saavuttamaan tämä riittävä tehokkuus, jolla on arvoa. Kuitenkin, joissakin tapauksissa tämä pitkitetty aika voi olla niin lyhyt kuin yksi päivä, mutta on edullisemmin viikkojen tai kuukausien jakso.

Eräässä mallissa koostumus on formuloitu, niin, että se on sovellettu pysymään paikoillaan pitkitetty ajanjakso. Tässä tapauksessa keksinnön mukainen koostumus voi muodostaa osan hampaiden täytekoostumuksesta.

Tämän mukaisesti tämän keksinnön kohteena on myös hampaiden täytekoostumus, joka sisältää keksinnön mukaista fosfopeptidiä, ja sitä varten sovellettu kannin, joka pitää koostumuksen hampaan pinnalla.

5 Tällainen hampaantäytekoostumus voi sisältää hampaantäyttöaineita, jotka ovat sinänsä tunnettuja, mukaan lukien amalgaamit ja kovettumiskykyiset polymeerit.

Erityisen kiinnostavia ovat hampaan täytekoostumukset, jotka sisältävät kalsiumia. Kalsium on halutusti 10 kalsiumfosfaatin tai hydroksiapatiitin muodossa.

Keksinnössä käytettävät fosfopeptidit voidaan erottaa monilla tavoilla, mutta fraktiointitekniikan käyttö on yleensä edullista.

15 Fosfopeptidit voidaan erottaa fraktioimalla, perustuen molekyylin kokoon tai ominaisvarauksiin. Johtuen peptidien ainutlaatuisesta negatiivisesta varaustiheydestä ja kyvystä muodostaa kaksiarvoisia ionikomplekseja, edullinen fraktiointimenetelmä on anioni-ioninvaihtokromatografia tai selektiivinen sakkauttaminen tai niiden molempien yh- 20 distelmä.

Seuraavat menetelmät kuvaavat erästä erotusmuotoa. Erotusmenetelmä I

Esimerkki fosfopeptideistä ovat ne, jotka on valmistettu uuttamalla trypsiinillä sarvikarjan maidon kaseiini. Koko natriumkaseinaatin tai fraktioiden (alfa- tai beeta), jotka on valmistettu selektiivisellä sakkauttamisella (Zittle, C.A. ja Custer J.H; J. Dairy Sci 46L 1183 - 1188, 1963) uutto suoritetaan käyttäen proteiini: 25 trypsiiniä suhteessa 50:1. 20 mM Tris HCl pH 8,0, 2,5 mM NaCl 37 °C:ssa yksi tunti. Peptidit fraktioitiin käyttäen 30 Pharmacia FPLC -systeemiä Mono Q HR 5/5 pylväässä ja eluoitiin NaCl-gradientilla; puskuri A 20 mM Tris HCl pH 8,0, 2,5 mM NaCl; puskuri B 20 mM Tris HCl pH 8,0, 500 mM NaCl, gradientti 0 - 100 % puskuri B/30 min; virtausnopeus 1 ml/min. Fraktiot pestiin ja väkevöitiin käyt- 35

täen Amicon Ultrafiltration Cell'iä UM05 suodattimella. Peptidit tunnistettiin käyttäen Water Associates PICO-TAG aminohappoanalyysisysteemiä, käyttäen fenyyli-isotiosyanaatti-aminohappojohtamista. Fosfaatti määritettiin
5 Itaya'n ja Ui'n (Clin. Chim. Acta. 14:361-366, 1960) menetelmällä. Peptidit sekvensoitiin (fosfaatin poiston jälkeen alkalisella fosfataasilla) käyttäen manuaalista Edman-menetelmää ja saadut PTH-aminohapot tunnistettiin käyttäen käänteisfaasi HPLC:tä Zorbax ODS pylväässä 25 x
10 0,46 cm (DuPont).

Seuraavat fosfopeptidit saatiin yksittäisesti natriumkaseinaatin trypsiiniuutolla käyttäen edellä esitettyä menetelmää.

15 T1. Glu-Met-Glu-Ala-Glu-Pse-Ile-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Val-Glu-Gln-Lys.

T2. Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Pse-Leu-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg.

T3. Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Pse-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys.

20 T4. Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Pse-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys.

T5. Glu-Gln-Leu-Pse-Pth-Pse-Glu-Glu-Asn-Ser-Lys.

Lisäksi saatiin myös seuraavat peptidit:

25 T6. Asp-Ile-Gly-Pse-Glu-Pse-Thr-Glu-Asp-Gln-Ala-Met-Glu-Asp-Ile-Lys.

T7. Val-Pro-Gln-Leu-Gln-Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Ala-Glu-Glu-Arg.

T8. Thr-Val-Asp-Met-Glu-Pse-Thr-Glu-Val-Phe-Thr-Lys.

30 T9. Leu-Pth-Glu-Glu-Lys.

Peptidit T1, T6 ja T7 saatiin myös α_{s1} -kaseinaatin (sisältäen α_{s1} 'sen ja α_{s0} 'n) TPCK-trypsiiniuutosta. Peptidi T2 saatiin myös beeta-kaseinaatin TPCK-trypsiiniuutosta. Peptidit T3, T4, T5, T8 ja T9 saatiin myös
35 α_{s2} -kaseinaatin (käsittäen α_{s2} , α_{s3} , α_{s4} ja

alfa₆) TPCK-trypsiiniuutosta. Aminohapposymbolit ovat seuraavat: Pse-fosfoseriini, Ser-seriini, Pth-fosfotreonini, Thr-treoniini, Glu-glutamaatti, Asp-aspartaatti, Ala-alaniini, Asn-aspargiini, Gln-glutamiini, Gly-glysiini, Arg-arginiini, His-histidiini, Ile-isoleusiini, Leu-leusiini, Lys-lysiini, Met-metioniini, Pro-proliini, Tyr-tyrosiini, Val-valiini.

Erotusmenetelmä II

Seuraava menetelmä kuvaa yhtä selektiivistä sak-
kauttamismallia.

Natriumkaseinaattiliuosta uutettiin trypsiinillä (50:1, kaseiini:trypsiini) yksi tunti 37 °C:ssa, samalla kun pH pidettiin 8,0:ssa lisäämällä NaOH. HCl (0,1 M) lisättiin sitten liuokseen huoneen lämpötilassa pH-arvoon 4,7 ja aikaansaatu sakka poistettiin BaCl₂ lisättiin sakan yläpuolella olevaan liuokseen arvoon 0,25 % paino/tilavuus, mitä seurasi yhtä suuri tilavuus absoluuttista etanolia ja saatu sakka poistettiin ja kuivattiin. Sakka liuotettiin kymmenesosaan alkuperäisestä tilavuudesta vetä (liukenemisen helpottamiseksi pH nostettiin NaOH:lla) ja liuos tehtiin happamaksi pH-arvoon 3,5 1 M HCl:llä. Yhtä suuri tilavuus asetonia lisättiin ja sakka poistettiin ja kuivattiin. Sakka liuotettiin sitten uudelleen H₂O:hon ja tehtiin happamaksi arvoon pH 2,0 lisäämällä HCl. Saatu sakka poistettiin ja hylättiin ja sakan yläpuolella olevan liuoksen pH säädettiin takaisin 3,5:een NaOH:lla ja yhtä suuri tilavuus asetonia lisättiin. Saatu sakka kerättiin, liuotettiin uudelleen veteen ja H₂SO₄ lisättiin sak-
kauttamaan BaSO₄, joka hylättiin. Sitten sakan yläpuolella oleva liuos dialysoitiin ja kylmäkuivattiin tai sumutuskuivattiin. Tällä menetelmällä saatiin viiden fosfopeptidin seos.

Seuraavassa ovat saadut fosfopeptidit:

T1. Glu-Met-Glu-Ala-Glu-Pse-Ile-Pse-Pse-Pse-Glu-
Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Val-Glu-Gln-Lys.

T2. Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Pse-Leu-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg.

T3. Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Pse-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys.

5 T4. Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Pse-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys.

T5. Glu-Gln-Leu-Pse-Pth-Pse-Glu-Asn-Ser-Lys.

10 Fosfopeptidien (T1:T2:T3:T4:T5) suhde lopullisessa valmisteessa riippuu lähtöaineesta ja hydrolyysiolosuhteista. Natriumkaseinaatin uutto TPCK-trypsiinillä antaa enimmäkseen T2, joissa oli pieniä määriä T1, T3 ja T4. Kuitenkin T2 osoittaa suurempaa epävakaisuutta kuin muut peptidit niin, että voimakkaampi uutto, kuten tapahtuu joissakin kaupallisissa kaseiiniuutoissa, antaa valmis-

15 teen, joka sisältää enimmäkseen T1, jossa on pieniä määriä T3 ja T4.

Mikäli tässä menetelmässä käytetään natriumkaseinaatin asemesta alfa-s1-kaseiinia, saadaan puhdasta T1. Kun beeta-kaseiini on lähtöaineena, saadaan puhdasta T2.

20 Tavallisimpia aktiivisten peptidien sekvenssejä on pentapeptidi Pse-Pse-Pse-Glu-Glu. Fosfaatti- ja karboksyyli-ryhmien etäisyydet tämän pentapeptidin beeta-konformaatioissa on esitetty kuviossa 1.

25 Fosfaattien ja karboksyylien 6,88 Ångström:in etäisyys sallii spesifisen kiinnittymisen kalsiumatomeihin hydroksiapatiittikiteiden c-akselia pitkin. Tämä pentapeptidisekvenssi tapahtuu peptideissä T1 - T4 ja tapahtuu modifioituna peptideissä T 5 - Pse-Pth-Pse-Glu-Glu, mitä seuraa fosfoseriinin varovainen korvaaminen fosfotreoniinilla.

30 Varovaiset substituutiot aktiivisessa sekvenssissä olisivat fosfoseriinin korvaaminen fosfotreoniinilla ja pienemmässä määrässä fosfotyrosiinilla tai fosfohistidiinillä, vaikka fosfoseriini on edullinen. Toinen mahdollinen fosfoseriinin korvaaminen saattaisi olla glutamaatilla

35

tai aspartaatilla, mutta jälleen fosfoseriini on edullinen. Mahdollinen korvaaja glutamaatille on aspartaatti.

Aktiiviset peptidit voivat muodostaa komplekseja kalsiumfosfaatin ja muiden kaksiarvoisten metalli-ionisuolojen kanssa. Yksi mooli T1 sitoo 16 moolia CaHPO_4 , niin
5 että 10 mg/ml T1-liuosta pH 7,0:ssa voi liuottaa 60 mM CaHPO_4 , muodostaen metastabiilin ylikyllästetyn liuoksen suhteessa kalsiumfosfaattiyhdisteisiin. Kun kloridi on vastaionina, 1 mooli T1 sitoo ainoastaan 5 moolia Ca^{++} ,
10 joka sitoutuu ainoastaan seriinifosfaatteihin. Yhteen mooliin T1, johon on sitoutunut 16 moolia CaHPO_4 (M.W. 4883) viitataan tämän jälkeen kalsiumfosfaatti T1:nä. Kalsiumfosfaatin T1 tärkeä kemiallinen ominaisuus on, että se yli
15 2 % paino/tilav. vesikoostumuksessa on tiksotrooppinen geeli. T1 - T5:n on osoitettu olevan potentiaalisesti hammasmätää vastustavia aineita, käyttämällä seuraavia koemenetelmiä:

Testi 1

Hydroksiapatiitin liukenemisnopeuskoe

20 Tämä koe on jo kuvatun testimenetelmän (Raynolds, E.C., Riley, P.F. ja Storey, E. Calcif. Tiss Int 34:s52 - s56, 1982) modifiointi. Tämän kokeen tarkoituksena on määrittää peptidien vaikutus hydroksiapatiitin liukenemiseen ja tässä suhteessa, koska hammaskiille koostuu suurelta
: 25 osalta hydroksiapatiitista, on uskottu, että voidaan tehdä hyödyllisiä vertailuja.

Käytettiin kahdesti tislattua, deionisoitua vettä (18 mega ohmia/cm). Puhtaat analyysireagenssikemikaalit saatiin Ajax Chemicals'ilta, Australia. Pallomainen hydroksiapatiitti ostettiin BDH'lta. Kromatografiapylvästä,
30 joka sisälsi 0,1 g hydroksiapatiittipalloja, käytettiin kivennäisaineiden poistokokeessa. Tris 5 mM, pH 8,3, joka sisälsi 50 mM NaCl, käytettiin pylvään puskurina 20 °C:ssa ja sitä pumpattiin pylvään läpi nopeudella 0,1 ml/min.
35 Peptidiliuosta 0,1 mg/ml puskuria laskettiin pylvääseen ja

0,2 ml:n fraktiot kerättiin sekä ennen peptidin käyttöä että sen jälkeen ja analysoitiin kokonaismäärälle kalsiumia, fosfaattia ja peptidiä. Näistä arvoista saatiin liu-
kenemisnopeus (nmol kalsiumia tai fosfaattia/min) jokaista
5 0,2 ml:n fraktiota kohti.

Kaikki fosfopeptidit T1 - T5 vähensivät hydroksi-
apatiittiliukoisuusnopeuden n. 32 %:lla.

Fosfopeptidien T6 - T9 havaittiin olevan huomatta-
vasti tehottomampia.

10 Fluoridi ja fosfopeptidi T1 antoivat yhdistetyn
pienentymisen hydroksiapatiitin liukoisuudessa (40 %:n
alentuminen). Fosfopeptidi T1 aiheutti 50 % suuremman
fluoriretention hydroksiapatiittipylväässä.

Tämä työ osoittaa, että nämä fosfopeptidit sitou-
15 tuvat hydroksiapatiittiin ja vähentävät kivennäisaineiden
liukenemisnopeutta ja parantavat fluoridin retentiota ki-
teiseen sideaineeseen. Hydroksiapatiitin liukoisuuden pie-
nentyminen oli suhteessa fosfoseriinipitoisuuteen ja etäi-
syyksiin peptidien välillä.

20 Testi 2

Suunsisäinen plakkikoe

Fosfopeptidin T1 plakkiin kohdistuva vaikutus mää-
ritettiin käyttäen Koulourides'in ja Ostrom'in suunsisäi-
sen plakkitestin (Caries Res. 10:442 - 482, 1976) muunnos-
25 ta. Emalilevyt sijoitettiin siirrettävään suunsisäiseen
laitteeseen jäljittelemään hampaiden välistä tilaa. Tämä
tehtiin siirrettävän laitteen molemmille puolille (vasen
ja oikea). Laitetta kulutettiin sallimaan plakin kasautu-
minen hampaiden välistä tilaa jäljittelevillä alueilla.

30 Kahdeksan kertaa päivässä laite poistettiin ja pantiin
37 °C:n liuokseen. Liuos sisälsi 2 paino/ tilavuus-% sakka-
roosia, 2 paino/tilavuus-% glukoosia, 140 mM KCl, 20 mM
NaCl pH:ssa 7,0. Kahdesti päivässä oikeanpuoleiset emali-
levyt altistettiin liuokselle, joka sisälsi 1,8 paino/ti-
35 lavuus-% kalsiumfosfaattia T1 140 mM KCl:ssä, 20 mM

NaCl:ssä pH:ssa 7,0 samalla kun vasen puoli altistettiin ainoastaan suolaliuokselle. Kokeen päätyttyä emalilevyt poistettiin. Plakkia otettiin laitteen molemmilta puolilta ja analysoitiin kalsiumfosfaatin, seriinifosfaatin ja peptidin T1 suhteen käyttäen kilpailukykyistä, kvantitatiivista, entsyymisitoutunutta immunosorptiokoetta (ELISA) käyttäen monoklonaalista antipeptidi-T1-vasta-ainetta.

Tämä osoitti, että plakki laitteen oikealla puolella, joka oli altistettu kahdesti päivässä peptidi-T1-liuokselle, sisälsi peptidiä vähintään 0,4 % paino/plakin märkäpaino ja kalsiumfosfaatin pitoisuus oli kohonnut 2 - 4-kertaiseksi.

Tämä työ osoitti, että peptidi T1 on yhdistynyt plakkiin ja täten kohottanut plakin kalsium- ja fosfaattipitoisuutta. Tätä yhdistymis- ja akkumuloitumismenetelmää hammasplakissa voidaan käyttää siirtämään uudelleen kivennäisaineita ja antibakteerisia ioneja plakkiin ja kiilteeseen, esim. Ca, PO_4 , FPO_3 , Zn, Cu, Sn, Ag, Al, Fe ja La.

Testi 3

Suun sisäinen kivennäisaineiden lisääminen

Käytettiin suun sisäistä laitetta, joka oli samanlainen kuin edellisessä testimenetelmässä, paitsi että emalilevyt oli ennalta altistettu kivennäisaineita vähentävälle liuokselle, joka aiheutti kaksi pinnanalaista kivennäisaineen vähentymisestä aiheutunutta vauriota kussakin levyssä. Kivennäisaineita poistavassa liuoksessa oli 0,1 M laktaattipuskuria pH 5,0, joka sisälsi 500 mg/l hydroksiapatiittia ja 1 % agaria. Koehenkilöt käyttivät laitteita 10 päivää. Kahdesti päivässä laitteet poistettiin ja tippa kivennäisainetta lisäävää liuosta pantiin emalilevyille laitteen oikealle puolelle. Emalilevyjen vasen puoli toimi kontrollina. 10 päivän kuluttua emalilevyt poistettiin, poikkileikattiin ja saatettiin mikroradiografiaan. Kivennäisainemäärä, joka oli kerrostunut ta-

kaisin pinnanalaisiin vaurioikohtiin, määritettiin käyttäen mikrodensitometriä. Kivennäisainetta lisäävä liuos, joka sisälsi 1,8 % paino/tilav. Tl-kalsiumfosfaattia, pH 7,0, palautti 57 % kivennäisainehäviöstä verrattuna ai-
 5 noastaan syljessä aiheutuneeseen 13 %:iin.

Testi 4

Plakin pH:n aleneminen

Koehenkilöt pidättäytyivät suun hygieniasta 3 - 5 päivää, sen jälkeen seurasi yhden minuutin huuhtelu
 10 5-%:isella sakkaroosiliuoksella. Plakkinäytteet poistettiin ja pH mitattiin käyttäen yhden tipan menetelmää. Noin viiden minuutin kuluttua pH putosi n. 5,0:aan. Kuitenkin, mikäli koehenkilöt huuhtelivat liuoksella, joka sisälsi 1,8 % paino/tilav. Tl-kalsiumfosfaattia, pH 7,0, 15 mi-
 15 nuuttia ennen huuhtelua 5-%:isella sakkaroosiliuoksella, plakin pH ei pudonnut alle 6,7, mikä osoittaa Tl-kalsiumfosfaatin huomattavaa pH-puskurointia.

Koska tarkkaa mekanismia, jolla fosfopeptidit osoittavat plakkia vastustavaa aktiivisuutta, ei tunneta,
 20 jatkossa esitetään seuraavat spekuloiivat teoriat, mutta niitä ei tulisi pitää sitovina tai rajoittavina.

Fosfopeptidit voivat akkumuloitua plakkiin ja kiilteeseen, puskuroida plakkihappoa, estää kivennäisaineiden vähentymistä hammaskiilteestä ja lisätä kivennäisaineiden
 : 25 lisääntymistä. Fosfopeptidien pieni molekyylipaino saattaa aiheuttaa läpätunkeutumista ja kasaantumista plakin ja kiilteen huokosissa. Fosfopeptidit, johtuen seriinifosfaattijäännösten sopivasta välistä, voivat sitoa hammaskiilteen kivennäisaineita ja estää kivennäisaineiden vä-
 30 hentymistä. Peptidit voivat myös siirtää kalsiumia ja fosfaattia (fluorifosfaattia modifioitaessa) plakkiin ja
 :: kiilteeseen, sopivassa muodossa mahdollisesti sallien spontaanin kivennäisaineiden lisääntymisen. Fosfoseriini-
 jäännökset voivat myös puskuroida plakkihappoa. Fosfopep-
 35 tidi voi myös siirtää antibakteerisia metalli-ioneja,

esim. Zn, Cu, Sn, Ag, Al, Fe ja La plakkiin ja tällä tavalla sillä on plakkia vastustava vaikutus. Metallionit siirtyvät ensisijaisesti fosfopeptideissä, johtuen fosfoseriini- ja -tyrosiini-esteristä. Fosfopeptidit voivat sitoa plakkibakteereita ja estää sokerin hyväksikäytön.

Hakijat ovat formuloineet erilaisia koostumuksia tämän keksinnön mukaisesti seuraavassa. Yleensä koostumukset sisältävät 0,01 - 10 paino-% fosfopeptidiä.

Esimerkki 1

10 Jauho:

Laitteessa kuivien aineiden sekoittamiseksi, sekoitettiin 1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia jauhon kanssa.

Esimerkki 2

Viljavalmistus:

15 Aamiaisviljavalmistus suihkutettiin liuoksella, jossa oli Tl-kalsiumfosfaattia vedessä. Sitten viljahiutaleet kuivattiin antamaan lopputuote, joka sisälsi 1 % Tl-kalsiumfosfaattia.

Esimerkki 3

20 Leipä:

1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia lisättiin jauhoon aineosien sekoittamisen aikana leivän valmistamiseksi.

Esimerkki 4

Kakkujauhe:

25 1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia lisättiin aineosiin kakkutaikinan valmistuksessa.

Esimerkki 5

Makeiset:

30 Makeisten valmistuksessa lisättiin 1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia lopulliseen seokseen.

Esimerkki 6

Keksi:

35 Valmistettaessa keksi/seos lisättiin 1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia muihin kuiviin aineosiin sekoituksen aikana.

Esimerkki 7

Virvoitusjuoma:

Valmistettiin virvoitusjuoma, johon oli liuotettu
0,1 paino-% Tl-kalsiumfosfaattia.

5

Esimerkki 8

Tabletti:

Valmistettiin tabletti, joka sisälsi 10 paino-% Tl-
kalsiumfosfaattia yhdessä täyteaineiden, jotka olivat ma-
ku- ja sideaineita, kanssa.

10

Tavallisen hampaidenpuhdistusaineen valmistuksessa
tämän keksinnön piirin mukaisesti tarvittava suola ja fos-
fopeptidin valikoidut suolat yhdistetään hampaanpuhdistus-
ainekoostumukseen jollakin sopivalla tavalla riippuen sii-
tä, onko valmistettu jauhe, tahna tai nestevalmiste. Tätä
tarkoitusta varten lisätään tarkoituksenmukaisia valmis-
teita, kuten pinta-aktiivisia aineita, sideaineita, maku-
aineita ja muita tarvittavia täyteaineita hampaidenpuhdis-
tusaineen tarvittavan muodon aikaansaamiseksi.

15

Keksintöä kuvataan vielä seuraavien esimerkkien
avulla:

20

Esimerkki 9

Hammastahna:

Valmistettiin hammastahna, jolla oli seuraava koos-
tumus:

25

	Paino-%
Tl-kalsiumfosfaatti	5,0
CMC 7MF	1,0
Saccharin 450	0,2
Glyseriini (B.P.)	25,0
30 Natriumlauryylisulfaatti	
(Empicol 0919)	5,0
Natriumbentsoaatti	0,5
Makuaine 9/693090	0,8
Kalsiumfosfaatti	1,0
35 Deionisoitu vesi	39,5

- | | | |
|----|---|--------------|
| | Thixosyl 33J | 9,5 |
| | Syloid Al-1 | 12,0 |
| | Titanium Dioxide 3328 | 0,5 |
| | Esimerkki 10 | |
| 5 | Hammastahna: | |
| | Valmistaminen, kuten esimerkissä 9 on esitetty, toistettiin, mutta lisättiin 0,2 % natriumfluoridia sopivassa muodossa. | |
| | Esimerkki 11 | |
| 10 | Hammastahna: | |
| | Valmistaminen, kuten esimerkissä 9 on esitetty, toistettiin, mutta 0,4 %:n tinafluoridinlisäyksellä sopivassa muodossa. | |
| | Esimerkki 12 | |
| 15 | Hammastahna: | |
| | Valmistus, kuten esimerkissä 9 on esitetty, toistettiin, mutta 0,76 % mononatriumfluorifosfaattia lisättiin sopivassa muodossa. | |
| | Esimerkki 13 | |
| 20 | Hammasjauhe: | |
| | Tehtiin seuraava valmiste: | |
| | Tl-kalsiumfosfaatti | 5,0 paino-% |
| | liukoinen sakkariini | 0,1 paino-% |
| | väriaine | pieni määrä |
| 25 | kaksiarvoinen kalsiumfosfaatti | 94,1 paino-% |
| | Esimerkki 14 | |
| | Hammasjauhe: | |
| | Tehtiin valmiste, kuten esimerkissä 13 on esitetty, mutta lisättiin 0,76 % mononatriumfluorifosfaattia sopivassa muodossa. | |
| 30 | Esimerkki 15 | |
| | Nestemäinen hampaidenpuhdistusaine: | |
| | Tehtiin valmiste, joka sisälsi: | |
| | natriumalginaattia | 1,4 paino-% |
| 35 | Tl-kalsiumfosfaattia | 2,0 paino-% |

	natriumlauryylisulfaattia	1,0 paino-%
	makuainetta	pieni määrä
	väriainetta	pieni määrä
	vettä	95,5 paino-%
5	Esimerkki 16	
	Nestemäinen hampaidenpuhdistusaine:	
	Kuten esimerkissä 15, mutta lisättiin 0,5 % natriumfluoridia.	
	Esimerkki 17	
10	Suunpesuneste:	
	Tehtiin seuraava valmiste:	
	Tl-kalsiumfosfaatti	2,0 paino-%
	natriumfluoridi	0,5 paino-%
	makuaine	pieni määrä
15	väriaine	pieni määrä
	vesi	97,5 paino-%
	Esimerkki 18	
	Hiilihapotettu virvoitusjuoma:	
	0,1 paino-% kalsiumfosfopeptidiä Tl lisättiin kaupallisesti saatavaan hiilihapotettuun virvoitusjuomaan.	
20	Esimerkki 19	
	Hedelmämehu:	
	0,1 paino-% Tl-kalsiumfosfopeptidiä lisättiin kaupallisesti saatavaan hedelmämehuun.	
25	Esimerkki 20	
	Liuos käytettäväksi paikallisesti hampaisiin:	
	Tl-kalsiumfosfaatti	2 %
	NaF	0,6 mM
	Zn-asetaatti	0,1 mM
30	SrCl ₂	0,1 mM
	(tämä liuos voidaan muodostaa geeliksi lisäämällä Tl-kalsiumfosfaatin määrää).	

Esimerkki 21

Hampaiden täyteaine

	Tl-kalsiumfosfaatti	5 % paino/paino
	kalsiumfosfaatti	95 % paino/paino
5	polymerointiainetta	pieni määrä

Tehdään tahnaaksi veden kanssa.

Tässä esimerkissä käytetty polymerointiaine oli glutaraldehydi.

Esimerkki 22

10 Hampaiden täyteaine:

	Tl-kalsiumfosfaatti	5 % paino/paino
	kalsiumfosfaatti	70 %
	akryylipolymeeri	25 %
	katalyytti polymeerille	pieni määrä

15 Esimerkki 23

Paikallinen geeli yliherkkien hampaiden hoitoon:

	Tl-kalsiumfosfaatti	4,0 paino-%
	SrF ₂	1,0 paino-% maku-
	aine	pieni määrä
20	vesi	95 %

Edellisessä käytettiin Tl-kalsiumfosfaattia kuvaamistar-koituksessa, mutta sen asemesta voidaan käyttää mitä tahansa tarkoituksenmukaista fosfopeptidiä ja/tai suolaa.

25 Muunnokset ja sovellutukset voidaan tehdä edellä kuvattuun.

Patenttivaatimukset

5 1. Fosfopeptidi, t u n n e t t u siitä, että sil-
lä on sekvenssi:

Glu-Met-Glu-Ala-Glu-Pse-Ile-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-
Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Val-Glu-Gln-Lys;

Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-
Glu-Pse-Leu-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg;

10 Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-
Ile-Ile-Pse-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys;

Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Pse-Pse-
Pse-Glu-Glu-Pse-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys; tai
Glu-Gln-Leu-Pse-Pth-Pse-Glu-Glu-Asn-Ser-Lys.

15 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen fosfopeptidi,
t u n n e t t u siitä, että se on hapon tai suolan muo-
dossa.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen fosfopeptidi,
t u n n e t t u siitä, että se on natriumsuolan muodossa.

20 4. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 3 mukainen fos-
fopeptidi, t u n n e t t u siitä, että se on oleellisesti
puhtaassa muodossa.

5. Jonkin edeltävistä patenttivaatimuksista mukai-
nen fosfopeptidi, t u n n e t t u siitä, että se on pe-
25 räisin kaseiinista, α_2 -kaseiinista, β -kaseiinista tai nii-
den suolasta.

6. Menetelmä jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5
mukaisen fosfopeptidin saamiseksi, t u n n e t t u siitä,
että fraktioidaan kaseiinin, α_2 -kaseiinin, β -kaseiinin tai
30 niiden suolan uute.

7. Suunhuoltokoostumus, t u n n e t t u siitä,
että se sisältää yhden tai useamman jonkin patenttivaati-
muksista 1 - 5 mukaisen fosfopeptidin.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen koostumus, t u n-
35 n e t t u siitä, että se sisältää kalsiumfosfaattia tai
hydroksiapatiittia.

:

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se sisältää noin 16 moolia CaHPO_4 moolia kohti fosfopeptidiä/fosfopeptidejä.

10. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 9 mukainen
5 koostumus, t u n n e t t u siitä, että se lisäksi sisältää fysiologisesti hyväksyttävän laimentimen.

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen koostumus,
t u n n e t t u siitä, että laimennin on suun kautta otettava aine.

10 12. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 11 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se lisäksi sisältää yhtä tai useampaa suolaa, joka sisältää kahdenarvoisia metalli-ioneja.

15 13. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 12 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se lisäksi sisältää yhtä tai useampaa remineralisoivaa ja bakteerinvastaista ionia.

20 14. Patenttivaatimuksen 13 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että ionit on valittu seuraavista: Ca , PO_4 , FPO_3 , Zn , Cu , Sn , Ag , Al , Fe ja La .

15. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 14 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että siinä ei oleellisesti ole pahanmakuisia epäpuhtauksia.

25 16. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 15 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että fosfopeptidiä on läsnä 0,01 - 10 paino-%.

17. Patenttivaatimuksen 16 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että fosfopeptidiä on läsnä 0,01 - 5 paino-%.

30 18. Patenttivaatimuksen 17 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että fosfopeptidiä on läsnä 0,01 - 2 paino-%.

35 19. Jonkin patenttivaatimuksista 7 - 18 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se on hammastahnan, hammasjauheen, hampaanpuhdistusaineen, suunpesunes-

teen, hampaan täytekoostumuksen tai hampaille paikallisesti laitettavan valmisteen, liuoksen tai geelin muodossa.

20. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 5 mukaisen yhden tai useamman fosfopeptidin käyttö suunhuoltolisäaineena elintarvikkeessa, makeisissa tai juomissa.

Patentkrav

1. Fosfopeptid, k ä n n e t e c k n a d därav, att den har sekvensen:

5 Glu-Met-Glu-Ala-Glu-Pse-Ile-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Pse-Val-Glu-Gln-Lys;

 Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Pse-Leu-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg;

10 Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Pse-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys;

 Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Pse-Pse-Pse-Glu-Glu-Pse-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys; eller

 Glu-Gln-Leu-Pse-Pth-Pse-Glu-Glu-Asn-Ser-Lys.

15 2. Fosfopeptid enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att den är i form av en syra eller ett salt.

 3. Fosfopeptid enligt patentkravet 2, k ä n n e t e c k n a d därav, att den är i form av ett natriumsalt.

20 4. Fosfopeptid enligt något av patentkraven 1 - 3, k ä n n e t e c k n a d därav, att den föreligger i väsentligen ren form.

 5. Fosfopeptid enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a d därav, att den härstammar från kasein, α_1 -kasein, β -kasein eller ett salt därav.

30 6. Förfarande för erhållande av en fosfopeptid enligt något av patentkraven 1 - 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att man fraktionerar ett extrakt av kasein, α_1 -kasein, β -kasein eller ett salt därav.

 7. Munvårdskomposition, k ä n n e t e c k n a d därav, att den innehåller en eller flere av fosfopeptiderna enligt något av patentkraven 1 - 5.

35 8. Komposition enligt patentkravet 7, k ä n n e t e c k n a d därav, att den innehåller kalsiumfosfat eller hydroxiapatit.

:

9. Komposition enligt patentkravet 8, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att den innehåller ca 16 mol CaHPO_4
per mol fosfopeptid/fosfopeptider.

5 10. Komposition enligt något av patentkraven 7 - 9,
k ä n n e t e c k n a d därav, att den dessutom innehåll-
ler en fysiologiskt godtagbar diluent.

11. Komposition enligt patentkravet 10, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att diluenten är ett via munnen in-
tagbart ämne.

10 12. Komposition enligt något av patentkraven 7 -
11, k ä n n e t e c k n a d därav, att den dessutom in-
nehåller ett eller flere salter, som innehåller tvåvärda
metalljoner.

15 13. Komposition enligt något av patentkraven 7 -
12, k ä n n e t e c k n a d därav, att den dessutom in-
nehåller en eller flere remineraliserande och bakteriehäm-
mande joner.

20 14. Komposition enligt patentkravet 13, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att jonerna valts bland följande:
 Ca , PO_4 , FPO_3 , Zn , Cu , Sn , Ag , Al , Fe och La .

15. Komposition enligt något av patentkraven 7 -
14, k ä n n e t e c k n a d därav, att den väsentligen
inte innehåller illasmakande föroreningar.

25 16. Komposition enligt något av patentkraven 7 -
15, k ä n n e t e c k n a d därav, att däri ingår 0,01 -
10 vikt-% fosfopeptid.

17. Komposition enligt patentkravet 16, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att däri ingår 0,01 - 5 vikt-% fos-
fopeptid.

30 18. Komposition enligt patentkravet 17, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att däri ingår 0,01 - 2 vikt-% fos-
fopeptid.

35 19. Komposition enligt något av patentkraven 7 -
18, k ä n n e t e c k n a d därav, att den är i form av
tandpasta, tandpulver, tandrengöringsmedel, tandrengö-

;

ringsvätska, tandfyllningskomposition eller ett preparat för lokal applikation på tänderna, en lösning eller ett gel.

- 5 20. Användning av en eller flere av fosfopeptiderna enligt något av patentkraven 1 - 5 som munvårdstillsatämne i livsmedel, sötsaker eller drycker.