

NORGE



**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

Utlekningsskrift nr. 126062

Int. Cl. A 61 k 7/16 Kl. 30h-13/10

Patentsøknad nr. 5233/68 Inngitt 30.12.1968

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 3.1.1970

Søknaden utlagt og utlegningsskrift utgitt 18.12.1972

Prioritet begjært fra: 1.7.1968 Østerrike,
nr. A 6287/68

BLENDAX-WERKE,
R. Schneider & Co.,
Postfach 1580, 65 Mainz, Tyskland.

Oppfinnere: Karl Rau, Nietzschestrasse 39, Wiesbaden-
Sonnenberg og Helmut Harth, Rheinallee 3 D,
Mainz, Tyskland.

Fullmektig: A/S Oslo Patentkontor Dr. ing. K. O. Berg.

Vannholdige tann- og munnpfleiemidler.

Anvendelsen av proteolytiske enzymer som terapeutika ved tannbehandling er tidligere kjent. Således er behandlingen av betennelser i kjeveområdet ved anvendelse av trypsin allerede en vanlig metode. Anvendelsen av pepsin har likeledes vært foreslått men støter dog fremfor alt på vanskeligheter på grunn av innstilling av det lave pH-området som er nødvendig for optimal aktivitet.

Ut fra den overveielse at proteolytiske enzymer formår å av-
bygge proteinholdige matrester, ble også anvendelsen av disse

126062

enzymer i tann- og munnpleiemidler som for eksempel tannpasta foreslått. Fra det tyske patentskrift nr. 734 765 er rensemidler for tenner og tannerstatninger, særlig tannproteser kjent, som inneholder tryptiske eggehviteoppløsende enzymer, som særlig pankreastryptase, videre også muggsoppenzymer eller planteproteaser som papain i blanding med et tørket peroxyd eller et peroxyderivat.

For å gjøre det, tross mekanisk behandling, mellom tennene tilbakeblivende belegg flytende, foreslås i det amerikanske patent nr. 3 194 738 tilsetningen av et enzym med samtidig proteplytisk og amylolytisk virkning som ble utvunnet fra kulturer fra *Aspergillus oryzae*, til tannpastaer, tyggegummi og munnvann. Den samme foranstaltning, nemlig anvendelsen av enzymer med amylase- og proteaseaktivitet fra *Aspergillus oryzae* i tannpleiemidler, er også gjenstand for det franske patent nr. 1 377 415. Til slutt beskriver det britiske patentskrift nr. 544 505 tannpastaer som inneholder et proteolytisk enzym fra *Carica papaya*, altså papain. Det ble dog iaktatt at papainholdige tannpastaer fremkaller irritasjon i munnslimhinnene. Et ytterligere hittil uløst problem var den sterke reduksjon av den proteolytiske aktivitet som inntreffer ved lagring av vannholdige tann- og munnpleiemidler, som tannpastaer, som inneholder de hittil for dette formål foreslåtte proteaser.

Det ble nå funnet at vannholdige tann- og munnpleiemidler, fortrinnsvis tannpastaer som inneholder de bestemte, gjennom dyrkning av bakterier utvunne proteolytiske enzymer, nemlig protease fra *Bacillus subtilis*, ikke oppviser disse ulemper. Ved siden av disse, i sammenligning med soppenzymenes absolutte toksikologiske uskadelighet overstiger lagringsbestandigheten til proteaser fra *Bacillus subtilis* i vannholdige tann- og munnpleiemidler etter foreliggende oppfinnelse vesentlig de fra sopp-proteaser og pankreasproteaser i vannholdige tann- og munnpleiemidler, som følgende forsøksberetning viser:

Forsöksberetning

I en tannpasta - grunnmasse med sammensetning.

Dikalsiumfosfatdihydrat	42,00	vekts-%
Glycerin, 86%ig	35,00	" "
Karboxymetylcellulose	1,00	" "
p-Hydroxybenzoesyremetylester	0,10	" "
p-Hydroxybenzoesyrepropylester	0,04	" "
Aerosil ^(R)	1,80	" "
Saccharin-Natrium	0,05	" "
Fettalkoholsulfat, Natriumsalt	1,50	" "
Vann	17,51	" "

ble 1 vekts-% proteolytiske enzymer av samme utgangsaktivitet (0,8 Anson-enheter/g) innarbeidet. Lagringsprøvene gav følgende resultat:

Proteolytiske enzymer i ovenstående grunnmasse	% av utgangsproteaseaktivitet etter lagring i			
	1 mnd.	3 mnd.	6 mnd.	1 år
Pankreasprotease	38	0	0	0
Protease fra <i>Aspergillus oryzae</i>	75	53	42	36
Protease fra <i>Bacillus subtilis</i>	92	84	77	68

Målingen av den proteolytiske aktivitet fulgte, etter den av M.L. Anson, J. gen. Physiol. 22, 79 (1938) beskrevne metode ved avbygning av hemoglobin. En Anson-enhet er enzyemmengden som ved 35,5°C avbygger 6 cm³ 2,5% hemoglobinoppløsning i en slik hurtighet at en slik mengde spaltningsprodukter som med Folin'sk fenol-reagens gir den samme farge som et milliekvivalent tyrosin, frigjøres pr. minutt.

Det muliggjøres altså ved den foreliggende oppfinnelse å fremstille protease- og vannholdig tann- og munnpleiemiddel med et vanninnhold inntil fortrinnsvis 20 vekts-%, hvis proteolytiske aktivitet forblir opprettholdt over et lengere tidsrom.

Tann- og munnpleiemiddelet etter nærværende oppfinnelse er på fremragende måte egnet til å forhindre dannelse av myke og hårde tannbelegg. Da slike tannbelegg vanligvis inneholder kariogent virkende substanser, oppnås ved forhindring av dannelsen henholdsvis fjerningen av det allerede dannede belegg et viktig bidrag til kariesprofylakset. Tann- og munnpleiemiddel etter nærværende oppfinnelse kan også med hell anvendes til bekjempelse av parodontalsykdommer. Således ble det fastslått at ved betennelser lar de fra eksudat resulterende påliggende belegg seg lett fjerne ved behandling med munnpleiemidlene etter oppfinnelsen, som har et innhold av protease fra *Bacillus subtilis*, og anvendelsen av dette munnpleiemiddel understøtter vesentlig helbredelsestendensen i indre vev. Ved foreliggende oppfinnelse oppnås således et praktisk talt generelt anvendelig munn- og tannpleiemiddel.

En ifølge oppfinnelsen anvendt protease oppnås ved submerskultur fra *Bacillus subtilis*. Etter avsluttet fermentering skilles fermenteringsoppløsningen fra de uoppløselige bestanddeler, og den dannede protease utvinnes ved fraksjonær felling så vel som eventuell videre rensning. Den er til stede i tann- og munnpleiemidlene etter foreliggende oppfinnelse i en mengde på 0,05 - 10,0 vekts-% av den totale mengde, fortrinnsvis i en mengde på 0,25 - 2,5 vekts-% og oppviser fortrinnsvis en aktivitet på 0,2 - 5,0 Anson-enheter/g.

Tann- og munnpleiemidlene ifølge oppfinnelsen, som tannpastaer inneholder de vanlige oppbyggings- og tilsetningsstoffer som dog ikke må virke inaktiverende på protease fra *Bacillus subtilis*.

Som poleringsmidler kan alle hittil for dette formål foreslåtte stoffer, som kalsiumkarbonat, dikalsiumfosfat og/eller dettes dihydrat, trikalsiumfosfat, kalsiumpyrofosfat, aluminiumoksyd,

silisiumoxyd, magnesiumkarbonat, kaolin, vannuoppløselig alkali-metafosfat, så vel som pulveriserte kunststoffer som polyvinyl-klorid, polyamid, polymetylmetakrylat, polystyrol, fenol-formaldehyd-harpiks, malamin-formaldehyd-harpiks, urea-formaldehyd-harpiks, epoxyharpiks og polykarbonat, finne anvendelse. Det kan også anvendes blandinger av disse stoffer.

Som binde- og tykningsmiddel i tannpastaer kan nevnes for eksempel stivelse, tragant, alginat, pektin, cellulosederivater, polyakrylsyre og dennes salter, polyvinylpyrrolidon så vel som forskjellig gummi. Egnede fuktningsemidler er glycerin, sorbit, 1,3-propandiol og/eller 1,4-butandiol.

Ved siden av de vanlige smak- og aromastoffer kan tann- og munnpleiemidlene også inneholde konserveringsmidler som p-hydroxybenzosyreester så vel som eventuelle optiske klarning- og fargestoffer.

For anvendelse i tannpastaer er også overflateaktive substanser egnet, for så vidt de ikke virker inaktiverende på protease fra *Bacillus subtilis*. Nevnes skal for eksempel fettalkoholsulfater, salter av sulfonerte monoglycerider av fettsyrer med fra 10 - 20 karbonatomer, fettsyre-eggehvite-kondensasjonsprodukter, salter av fettsyreamider og tauriner og/eller salter av fettsyreestere av isetionsyrer så vel som eventuelle ikke ioniske, kationiske og/eller amfotere tensider. Det kan også anvendes blandinger av de forskjellige overflateaktive substanser.

For å forsterke den kariesbeskyttende virkning for tannpleiemidlene etter oppfinnelsen, kan også fluorforbindelser i små mengder tilsettes. Det dreier seg her fortrinnsvis om vannoppløselige fluorforbindelser, som alkalifluorid, ammoniumfluorid, kopperfluorid, sølvfluorid, sinkfluorid, tinnfluorid, jernfluorid, indiumfluorid, zirkoniumfluorid, nikkelfluorid, palladiumfluorid, komplekst bundne fluorforbindelser som alkalifluorzirkonat, tinnfluorzirkonat, fluorsilikat, fluorborat, fluorstannit eller alkalifluorfosfat. Som særlig egnet til med anvendelse i tann- og munnpleiemidlene etter oppfinnelsen har vist seg å være alkali-

monofluorfosfat, som natrium-, kalium- eller ammoniummonofluorfosfat. Også tilsetning av vannoppløselige organiske fluorforbindelser er mulig, som for eksempel av aminhydrofluorider, alkanolaminhydrofluorider, kvaternære ammoniumfluorider, vannoppløselige addisjonsforbindelser av aminosyrer og fluorvannstoff eller fluorider som betainhydrofluorid eller glycinkaliumfluorid. Det kan også anvendes blandinger av foran angitte fluorforbindelser i ethvert ønskelig blandingsforhold, forutsatt at de ikke virker inaktiverende på protease fra *Bacillus subtilis*. Mengden av de anvendte fluorforbindelser skal ikke overstige 2,0 vekts-% av den totale blandingen.

Det er fordelaktig å tilsette tann- og munnpleiemidler etter nærværende oppfinnelse enda et beskyttelseskolloid for proteasen fra *Bacillus subtilis* i en ekvivalent mengde til proteaseinnholdet. For dette formål har karboxymetylcellulose vist seg som særlig egnet.

pH-verdien for munn- og tannpleiemiddelet etter oppfinnelsen skal ligge mellom 5,5 og 8,5. Vanninnholdet skal ikke overstige 20 vekts-%.

De følgende sammensetningseksempler for vannholdige munn- og tannpleiemidler fremlegges for å illustrere oppfinnelsen.

EKSEMPEL 1: Tannpasta

Dikalsiumfosfatdihydrat	45,11	Vekts-%
Calcium carbonicum praec.	3,00	" "
Glycerin, 86%-ig	30,00	" "
Karboxymetylcellulose	1,00	" "
p-Hydroxybenzsyremetylester	0,15	" "
Protease fra <i>Bacillus subtilis</i> (1 Ansonenhet/g)	1,00	" "
Silisiumdioxid, amorf.	1,50	" "
Natriumlaurylsulfat	1,20	" "
Natriumlauroylsarcosinat	0,30	" "
Aromastoffer	1,10	" "

126062

Sakkarin-natrium	0,05 veks-%
Vann	15,70 " "

EKSEMPEL 2: Tannpasta

Kalsiumfosfat	40,00 Veks-%
polyamidpulver	5,00 " "
Glycerin, 86%-ig	30,00 " "
Sorbit, 70%-ig	5,00 " "
Karboxymetylcellulose	1,20 " "
p-Hydroxybenzoesyre-metylester	0,08 " "
p-Hydroxybenzoesyre-propylester	0,04 " "
Protease fra <i>Bacillus subtilis</i> (1,5 Anson-enheter/g)	0,70 " "
Natriummonofluorofosfat	1,00 " "
Natriumlaurylsulfat	1,50 " "
Aromastoffer	1,00 " "
Sakkarin-natrium	0,03 " "
Vann	14,45 " "

P a t e n t k r a v

1. Vannholdige tann- og munnpleiemidler med et innhold av proteolytiske enzymer samt vanlige oppbygnings- og tilsetningsstoffer og eventuelt, fortrinnsvis vannoppløselige, fluorforbindelser, og med en pH-verdi mellom 5,5 og 8,5, k a r a k t e r i s e r t v e d at de inneholder proteolytiske enzymer fra *Bacillus subtilis*.

2. Vannholdige tann- og munnpleiemidler etter krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at de inneholder 0,05 - 10,0 veks%, fortrinnsvis 0,25 - 2,5 veks%, protease fra *Bacillus subtilis*.

126062

8

3. Vannholdige tann- og munnpleiemidler etter krav 1 og 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at proteasen fra
Bacillus subtilis har en aktivitet på 0,2 - 5 Anson-enheter/g.

Anførte publikasjoner:

Britisk patent nr. 1033229
Dansk patent nr. 59959
Fransk patent nr. 1505418
U.S. patent nr. 3194738