



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201534331 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 09 月 16 日

(21)申請案號：103141311

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 11 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K8/27 (2006.01)* *A61Q11/00 (2006.01)*

(30)優先權：2013/12/02 世界智慧財產權組織 PCT/US13/72671

(71)申請人：美國棕欖公司 (美國) COLGATE-PALMOLIVE COMPANY (US)
美國

(72)發明人：楊英 YANG, YING (CN)；特里維迪 哈許馬亨德拉 TRIVEDI, HARSH
MAHENDRA (US)；徐國鋒 XU, GUOFENG (CN)

(74)代理人：林秋琴；陳彥希

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：0 共 21 頁

(54)名稱

口腔護理鋅組成物

ORAL CARE ZINC COMPOSITIONS

(57)摘要

本發明提供一種包含用於抑制牙周病原菌附著或侵入齒齦上皮細胞等口腔軟組織的鋅離子來源之組成物。

A composition comprising a zinc ion source for use in inhibiting the adherence to or invasion of oral soft tissue, such as gingival epithelial cells, by a periodontal pathogen is provided.

發明摘要

※ 申請案號 : 103141711

※ 申請日 : 103 11 28

※IPC 分類 : A61K 8/27 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

口腔護理鋅組成物

ORAL CARE ZINC COMPOSITIONS

【中文】

本發明提供一種包含用於抑制牙周病原菌附著或侵入齒齦上皮細胞等口腔軟組織的鋅離子來源之組成物。

【英文】

A composition comprising a zinc ion source for use in inhibiting the adherence to or invasion of oral soft tissue, such as gingival epithelial cells, by a periodontal pathogen is provided.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有式時，請揭示最能顯示發明特徵的式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

口腔護理鋅組成物

ORAL CARE ZINC COMPOSITIONS

【先前技術】

【0001】 牙周病是一種慢性細菌感染，可影響牙齦組織、牙周膜、齒莖質和齒槽骨。牙齦炎和牙周炎等疾病為與細菌和宿主細胞交互作用相關的複雜、多因性且多階段病症。若未治療，牙齦炎(牙床或牙齦的發炎)可導致牙周炎(牙周的發炎)。牙菌斑中的細菌會引起發炎及/或免疫反應，最終導致骨骼和牙床纖維遭到破壞。若未治療，牙周炎可導致齒槽骨損耗且最終導致牙齒損失。

【0002】 上皮細胞提供保護屏障功能，避免微生物攻擊口腔等位置。口腔與口腔黏膜平行，由多層扁平的上皮細胞和下方的結締組織構成。牙齦(牙床)為沿著牙齒排列並將其環繞的此軟組織之一部份。某些病原菌具有附著並侵入牙周細胞和組織的能力。此種病原菌拓殖可導致組織由於病原菌產生的細胞毒殺化合物而受損，且由於宿主免疫反應而間接受損。

【0003】 刷牙、使用牙線和由潔牙師移除牙菌斑等牙齒衛生措施係用於預防和治療牙周病。三氯沙(triclosan)等抗菌劑已知可發揮效用。然而，仍然持續需要提供替代方案和改善方案以治療和預防牙周病。

【發明內容】

【0004】 本發明的第一態樣提供一種包含用於抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞的鋅離子來源之組成物。口腔軟組織可為口腔內的任何軟組織，例如牙齦、臉頰或舌頭。

【0005】 選擇性地，牙周病原菌引起、傳播或加劇選自牙齦炎

和牙周炎的牙周病。

【0006】 選擇性地，牙周病原菌為轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)之其中一種或多種。另外選擇性地，牙周病原菌為牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)及/或伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)。

【0007】 選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)的一種或多種鋅鹽。另外選擇性地，鋅離子來源包含選自檸檬酸鋅和氧化鋅的一種或多種鋅鹽。選擇性地，鋅離子來源包含兩種或多種鋅鹽之組合。選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)之兩種或多種鋅鹽的組合。另外選擇性地，鋅離子來源包含氧化鋅和檸檬酸鋅的組合。

【0008】 選擇性地，組成物包含介於 1 和 20,000 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 1 和 10,000 ppm、介於 1 和 5,000 ppm 的鋅、介於 1 和 2,000 ppm 的鋅、介於 1 和 1,000 ppm 的鋅、介於 1 和 500 ppm 的鋅、介於 1 和 200 ppm 的鋅、介於 1 和 100 ppm 的鋅、介於 1 和 50 ppm 的鋅、介於 1 和 25 ppm 的鋅、介於 1 和 10 ppm 或介於 3 和 9 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 4 和 8 ppm 的鋅。選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 2.0 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 1.0 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.5

重量%的鋅、從 0.0001 至 0.2 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.1 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.05 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.02 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.01 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.005 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.0025 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.001 重量%的鋅或介於 0.0003 和 0.0009 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 0.0004 和 0.0008 重量%的鋅。

【0009】 選擇性地，組成物用於哺乳受試者。另外選擇性地，組成物用於人類受試者。

【0010】 選擇性地，組成物為口腔護理組成物。另外選擇性地，組成物為選自潔牙劑、牙膏、牙粉、口腔清洗劑、錠劑、口香糖(gums)、凝膠、塗料和薄膜的口腔護理組成物。

【0011】 本發明的另一態樣提供一種抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞的方法，該方法包含將含有鋅離子來源的組成物施加到口腔軟組織上皮組織。口腔軟組織可為口腔內任何軟組織，例如牙齦、臉頰或舌頭。

【0012】 選擇性地，牙周病原菌引起、傳播或加劇選自牙齦炎和牙周炎的牙周病。

【0013】 選擇性地，牙周病原菌為轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)之其中一種或多種。另外選擇性地，牙周病原菌為牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)及/或伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)。

【0014】 選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、

抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)的一種或多種鋅鹽。另外選擇性地，鋅離子來源包含選自檸檬酸鋅和氧化鋅的一種或多種鋅鹽。選擇性地，鋅離子來源包含兩種或多種鋅鹽的組合。選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)的兩種或多種鋅鹽之組合。另外選擇性地，鋅離子來源包含氧化鋅和檸檬酸鋅的組合。

【0015】 選擇性地，組成物包含介於 1 和 20,000 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 1 和 10,000 ppm、介於 1 和 5,000 ppm 的鋅、介於 1 和 2,000 ppm 的鋅、介於 1 和 1,000 ppm 的鋅、介於 1 和 500 ppm 的鋅、介於 1 和 200 ppm 的鋅、介於 1 和 100 ppm 的鋅、介於 1 和 50 ppm 的鋅、介於 1 和 25 ppm 的鋅、介於 1 和 10 ppm 或介於 3 和 9 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 4 和 8 ppm 的鋅。選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 2.0 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 1.0 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.5 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.2 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.1 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.05 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.02 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.01 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.005 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.0025 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.001 重量%的鋅或介於 0.0003 和 0.0009 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 0.0004 和 0.0008 重量%的鋅。

【0016】 選擇性地，將組成物施加到哺乳類的口腔軟組織上皮細胞。另外選擇性地，將組成物施加到人類的牙齦上皮組織。

【0017】 選擇性地，每天至少施加一次組成物。

【0018】 本發明的另一態樣提供一種包含鋅離子來源的組成物之使用，用於抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞。口腔軟組織可為口腔內任何軟組織，例如牙齦、臉頰或舌頭。

【0019】 選擇性地，牙周病原菌引起、傳播或加劇選自牙齦炎和牙周炎的牙周病。

【0020】 選擇性地，牙周病原菌為轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)之其中一種或多種。另外選擇性地，牙周病原菌為牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)及/或伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)。

【0021】 選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)的一種或多種鋅鹽。另外選擇性地，鋅離子來源包含選自檸檬酸鋅和氧化鋅的一種或多種鋅鹽。選擇性地，鋅離子來源包含兩種或多種鋅鹽的組合。選擇性地，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)的兩種或多種鋅鹽之組合。另外選擇性地，鋅離子來源包含氧化鋅和檸檬酸鋅的組合。

【0022】 選擇性地，組成物包含介於 1 和 20,000 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 1 和 10,000 ppm、介於 1 和 5,000 ppm 的鋅、介於 1 和 2,000 ppm 的鋅、介於 1 和 1,000 ppm 的鋅、介於 1 和 500 ppm 的鋅、介於 1 和 200 ppm 的鋅、介於 1 和 100 ppm 的鋅、介於 1 和 50 ppm 的鋅、介於 1 和 25 ppm 的鋅、介於 1 和 10 ppm 或介於 3 和 9 ppm 的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 4 和 8 ppm 的鋅。選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 2.0 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含從 0.0001 至 1.0 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.5 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.2 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.1 重量%

的鋅、從 0.0001 至 0.05 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.02 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.01 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.005 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.0025 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.001 重量%的鋅或介於 0.0003 至 0.0009 重量%的鋅。另外選擇性地，組成物包含介於 0.0004 和 0.0008 重量%的鋅。

【0023】 選擇性地，用於哺乳類受試者。另外選擇性地，用於人類受試者。

【0024】 選擇性地，組成物為口腔護理組成物。另外選擇性地，組成物為選自潔牙劑、牙膏、牙粉、口腔清洗劑、錠劑、口香糖、凝膠、塗料和薄膜的口腔護理組成物。

【0025】 本發明之另一態樣提供一種包含鋅的組成物之使用，用於製造抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞的藥物。口腔軟組織可為口腔內任何軟組織，例如牙齦、臉頰或舌頭。

【0026】 本發明之應用的其他部分將於以下提供的實施方式公開。應理解實施方式和特定實例雖然指出本發明的較佳實施例，但僅意圖用於例示，並未意圖限制本發明的範圍。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

【0027】 以下較佳實施例的說明其本質僅為例示，並未意圖限制本發明、其應用或用途。

【0028】 如自始至終所使用的，範圍係用作描述該範圍內每一個值的簡略表達方式。範圍內的任何值皆可選作範圍的邊界。此外，上述所列的參考文獻全體皆通過引用結合到本說明書中。若本公開之定義與引用的參考文獻之定義有所衝突，以本公開為準。

【0029】 除非另外說明，在此及規格中其他地方描述的所有百分比和數量應理解為係指重量百分比。在此提供的數量係基於材料的有效重量。

【0030】 意外的是，已發現鋅離子可提升牙齦上皮細胞等口腔軟組織上皮細胞的上皮屏障功能，因而避免口腔組織遭到牙周病原菌感染。藉由避免病原微生物附著或侵入口腔內上皮細胞，而可獲得口腔護理方面的益處。此等益處可包括例如降低牙齦炎和牙周炎等牙周病的發生及/或嚴重性。

【0031】 牙齦炎的特徵為典型的發炎跡象。牙齦炎的症狀可包含腫脹的牙床、鮮紅色或紫色牙床、敏感或觸摸即疼痛的牙床、流血的牙床及口氣惡臭(口臭)。可使用牙齦炎指數量測牙齦炎。例如，Löe 和 Silness 於 1963 年制訂指數用於評估牙齦情況以記錄牙齦的質變化。邊緣和骨內組織分別以 0 至 3 評分，其中：

0= 正常牙齦；

1= 輕度發炎 – 顏色略微變化且略微水腫、探測有出血；

2= 中度發炎 – 發紅、水腫和有光澤、探測有出血；

3= 重度發炎 – 明顯的發紅和水腫，伴隨流血傾向的潰瘍

評估流血時，沿著牙齦溝的軟組織壁輕微探測。將四個區域的評分平均得到牙齒的牙齦指數(Gingival Index/GI)。藉由將所有牙齒的值平均，可得到個別牙齒的牙齦指數。平均分數從 0.1-1.0 = 輕度發炎；1.1-2.0 = 中度發炎；及 2.1-3.0 代表重度發炎。

【0032】 牙齦炎可能會發展成牙周發炎的牙周炎。牙周發炎可能會導致牙床組織與牙齒分離並形成牙周囊袋。病原微生物隨後會拓殖於牙周囊袋，導致牙床組織進一步發炎且齒槽骨損失。牙周炎的症狀可能包含牙床發紅或流血、牙床腫脹、口臭、牙齦萎縮、牙齒和牙床之間形成深囊袋及牙齒鬆動。診斷牙周炎時，可藉由探測牙齒周圍的牙床組織(牙齦)及檢查 X 射線薄膜。牙周炎的嚴重性係指已損失的牙周韌帶纖維量。可使用臨床牙周附連喪失量表評估牙周炎，其中牙周附連喪失達 1 – 2 毫米歸類為輕度牙周炎，牙周附連喪失達 3 – 4 毫米歸類為中度牙周炎，而牙周附連喪失達 5 毫米或以上歸類為重度牙周炎。

【0033】 本發明的組成物係用於抑制病原微生物附著或侵入上皮細胞。因而提高上皮細胞的屏障功能。侵入使得病原微生物得

以避開宿主的免疫系統，且為重要的致病因子。藉由侵入上皮細胞，病原菌可成功拓殖於宿主，從宿主獲得營養並與其他微生物競爭。病原微生物對上皮細胞之拓殖可導致組織受傷並引起發炎反應。藉由阻止附著或侵入，可減輕病原微生物引起的發炎及隨後的損害。減輕發炎係指降低由於病原菌感染或侵入而造成的牙齦發炎之程度。

【0034】 可使用細胞基準分析評估發炎。例如， PGE_2 的存在可用於評估牙齦發炎的嚴重性。在細胞基準分析中，可使用 ELISA 分析經病原微生物和抗發炎組成物處理之細胞(例如 KB 細胞或小鼠巨噬細胞株 RAW264.7)內 PGE_2 程度。在一實施例中，組成物可降低發炎程度達至少 5 %、10 %、15 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、100%、2 倍、5 倍、10 倍或 20 倍。在一實施例中，組成物降低牙齦上皮細胞的發炎程度達 5%至 20 倍、例如 5 %至 5 倍或 5 %至 2 倍的發炎程度。

【0035】 亦可將組成物用於避免病原微生物侵入牙齦細胞等口腔軟組織細胞，或避免病原微生物附著牙齦細胞等口腔護理軟組織。避免侵入係指當細胞與組成物接觸時，可降低病原菌侵入細胞的比例。在一實施例中，組成物可降低病原菌侵入牙齦上皮細胞的比例達至少 5 %、10 %、15 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、100%、2 倍、5 倍、10 倍或 20 倍。在一實施例中，組成物降低病原菌侵入牙齦上皮細胞的比例達 5 %至 20 倍，例如 5 %至 5 倍、5 %至 2 倍、5 %至 80 %或 5 %至 70%。避免附著係指細胞與組成物接觸時，可降低病原菌附著細胞。在一實施例中，組成物可降低病原菌附著牙齦上皮細胞達至少 5 %、10 %、15 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %或 70 %、80 %、2 倍、5 倍、10 倍或 20 倍。在一實施例中，組成物降低病原菌附著牙齦上皮細胞達 5 至 80 %，例如 5 至 70 %。

【0036】 牙周病原菌為可引起、傳播、加劇或導致牙齦炎和牙周炎等牙周病的微生物。牙周病原菌可為細菌。牙周病原菌可為格蘭氏陰性或格蘭氏陽性。牙周病原菌可為厭氧性或好氧性。在一實

施例中，牙周病原菌為格蘭氏陰性厭氧性細菌。在一實施例中，牙周病原菌為轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)之其中一種或多種。牙齦卟啉單胞菌(*P. gingivalis*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)已知合稱為「紅色複合體」病原菌且可共同在齦下牙菌斑活動。轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)等病原微生物可拓殖於口腔並釋放氨、有機酸和揮發性硫化物等毒性產物而損害並破壞口腔的組織。雖然上皮細胞有內建防衛系統，病原細菌仍然可以調節黏膜上皮屏障而引起及/或促進牙周病。例如，病原細菌可瞄準特定宿主受器、改變宿主內的訊息傳遞而擾亂正常的細胞因子網絡以附著並侵入上皮細胞。目前已發現鋅可用於阻礙病原微生物侵入並附著牙齦上皮細胞。

【0037】 本發明的組成物包含鋅離子來源。鋅離子來源可提供 Zn^{2+} 離子至口腔，包括傳遞到口腔表面。在一實施例中，鋅離子來源可傳遞 Zn^{2+} 離子至包括牙齦上皮細胞的口腔黏膜。在一實施例中，鋅離子來源包含一或多種鋅鹽。在一實施例中，鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫

氧氯化鋅(TBZC)之其中一種或多種的鋅鹽。在一實施例中，鋅離子來源包含檸檬酸鋅和氧化鋅之其中一種或多種。組成物可包含兩種或多種鋅鹽的組合。在一實施例中，組成物包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅(TBZC)之兩種或多種鋅鹽的任何組合。在部分實施例中，組成物包含氧化鋅和檸檬酸鋅的組合。

【0038】 在一實施例中，組成物包含介於 1 和 20,000 ppm 的鋅。在一實施例中，組成物包含介於 1 和 10,000 ppm、介於 1 和 5,000 ppm 的鋅、介於 1 和 2,000 ppm 的鋅、介於 1 和 1,000 ppm 的鋅、介於 1 和 500 ppm 的鋅、介於 1 和 200 ppm 的鋅、介於 1 和 100 ppm 的鋅、介於 1 和 50 ppm 的鋅、介於 1 和 25 ppm 的鋅、介於 1 和 10 ppm 或介於 3 至 9 ppm 的鋅。在一實施例中，組成物包含介於 4 至 8 ppm 的鋅。在一實施例中，組成物包含從 0.0001 至 2.0 重量%的鋅。在一實施例中，組成物包含從 0.0001 至 1.0 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.5 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.2 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.1 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.05 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.02 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.01 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.005 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.0025 重量%的鋅、從 0.0001 至 0.001 重量%的鋅或介於 0.0003 至 0.0009 重量%的鋅。例如，組成物可包含介於 0.0004 至 0.0008 重量%的鋅。

【0039】 在一實施例中，組成物包含從 12 微莫耳至 240 毫莫耳的氧化鋅。在一實施例中，組成物包含介於 12 微莫耳和 120 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 60 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 24 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 12 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 6 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 2.4 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 1.2 毫莫耳、介於 12 微莫耳和 600 微莫耳、介於 12 微莫耳和 600 微莫耳、介於 12 微莫耳和 300 微莫耳、介於 12 微莫耳和 120 微莫耳或介於 36 微莫耳和 108 微莫耳的氧化鋅。例如，在一實施例中，組成物包含 48 微莫耳的氧化鋅。

【0040】 在一實施例中，組成物包含從 5 微莫耳至 240 毫莫耳的檸檬酸鋅。在一實施例中，組成物包含介於 5 微莫耳和 120 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 60 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 24 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 12 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 6 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 2.4 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 1.2 毫莫耳、介於 5 微莫耳和 600 微莫耳、介於 5 微莫耳和 600 微莫耳、介於 5 微莫耳和 300 微莫耳、介於 1 毫莫耳和 120 微莫耳或介於 1 微莫耳和 50 微莫耳的檸檬酸鋅，例如 13 微莫耳的檸檬酸鋅。

【0041】 在一實施例中，組成物傳遞介於 1 和 10 ppm 的鋅至牙齦上皮細胞，例如介於 3 至 9 ppm 的鋅或介於 4 至 8 ppm 的鋅。在一實施例中，組成物傳遞約 4 ppm 的鋅或約 8 ppm 的鋅。

【0042】 在一實施例中，組成物用於哺乳類受試者。在一實施例中，組成物用於人類或哺乳類受試者。例如，受試者可選自人類、綿羊、牛、馬、豬、家禽、貓和狗。在一實施例中，組成物用於人類受試者。

【0043】 在一實施例中，組成物為口腔護理組成物。在一實施例中，口腔護理組成物選自潔牙劑、牙膏、牙粉、口腔清洗劑、錠劑、口香糖、凝膠、塗料和薄膜。

【0044】 組成物可進一步包含口腔護理活性物。例如，組成物可包含選自氟離子來源、抗敏感劑、閉塞劑、牙齒潔白劑、牙齒漂白劑、抗牙結石劑、胺基酸及其混合物之其中一種或多種的口腔護理活性物。

【0045】 適用於本發明的氟來源可包含但不限於：離子氟化物，包含鹼金屬氟化物；氟化胺，例如奧拉氟(olafur) (N'-十八烷基三亞甲基二胺-N,N,N'-三(2-乙醇)-二氫氟化物)、氟化銦、氟化鈉、氟化鉀、氟化鈣、氟化鋅、氯化鋅、氟化鋁、氟化鈹、氟化亞錫、氟鎢酸亞錫、單氟磷酸鈉、單氟磷酸鉀、月桂胺氫氟酸鹽、二乙基胺基乙基辛胺氫氟酸鹽 (diethylaminoethyloctoylamide hydrofluoride)、二癸基二甲基氟化銨、十六烷基氟化吡啶鐵、二月桂基氟化嗎啉鐵(dilaurylmorpholinium fluoride)、肌胺酸氟化亞錫

(sarcosine stannous fluoride)、甘胺酸氟化鉀(glycine potassium fluoride)、甘胺酸氫氟酸鹽(glycine hydrofluoride)、氟化胺或其混合物；及包括鹼金屬單氟磷酸鹽等離子單氟磷酸，例如氟化鉀、氟化鈉和氟化銨、單氟磷酸鉀、單氟磷酸鈉和單氟磷酸銨及其混合物。在部分實施例中，本發明的口腔護理組成物亦可包含量足以提供約 50 至約 5000ppm 氟離子、例如從約 100 至約 1000、從約 200 至約 500、或約 250 ppm 的氟離子之氟離子來源或氟提供物質。可將約 0.001 重量%至約 10 重量%、例如從約 0.003 重量%至約 5 重量%、0.01 重量%至約 1 重量%或約 0.05 重量%的氟離子來源加入本發明的組成物。然而，可理解用於提供適當氟離子量的氟鹽重量將隨鹽類中的逆離子重量而有明顯差異，且本領域之習知技藝者可快速決定此含量。較佳的氟鹽可為氟化鈉。

【0046】 組成物可包含至少一種香料，其可用於例如增強組成物的味道。可使用任何口用天然或合成香料，包括但不限於香草精、鼠尾草、馬鬱蘭、洋芹油、綠薄荷油、肉桂油、冬青油(水楊酸甲酯)、薄荷油、丁香油、月桂油、茴香油、桉樹油、柑橘油、水果油和精油(包括來自檸檬、柳橙、萊姆、葡萄柚、杏、香蕉、葡萄、蘋果、草莓、櫻桃、鳳梨等)、來自豆類和堅果的香味(例如咖啡、可可、可樂果、花生和杏仁等)、吸附或包囊化的香料等。在此香料中亦包含在口中提供香味及/或其他感官效果(包括涼爽或溫暖效果)的成分。此種成分說明性地包括薄荷醇、乙酸薄荷酯、乳酸薄荷酯、樟腦、桉樹油、桉樹腦、茴香腦、丁香酚、肉桂(cassia)、口惡酮(oxanone)、 α -紫羅蘭酮、丙烯基乙基愈創木酚(propenyl guaiethol)、百里酚、沈香醇、苯甲醛、肉桂醛、N-乙基-對-薄荷燒-3-羧胺、N,2,3-三甲基-2-異丙基丁醯胺、3-(1-薄荷氧基)-丙烷-1,2-二醇、肉桂醛甘油縮醛(CGA)、薄荷酮甘油縮醛(MGA)等。選擇性地，一種或多種香料的總含量為從約 0.01 重量%至約 5 重量%，例如從約 0.1 重量%至約 2.5 重量%，以組成物的總重量為基準。

【0047】 選擇性地，本發明的組成物整合一種或多種抗敏感劑，例如硝酸鉀、碳酸氫鉀、氯化鉀、檸檬酸鉀和草酸鉀等鉀鹽、

辣椒素、丁香酚、鋁鹽和氯鹽及其組合。可加入有效量的此種藥劑，例如從約 1 重量%至約 20 重量%(以組成物的總重量為基準)，隨所選藥劑而有所不同。

【0048】 組成物可進一步包含抗氧化劑。可使用任何口用抗氧化劑，包括丁基羥基甲氧苯(BHA)、二丁基羥基甲苯(BHT)、維生素 A、類胡蘿蔔素、維生素 E、類黃酮、多酚、抗壞血酸、藥草抗氧化劑、葉綠素、褪黑激素及其混合物。

【0049】 另外選擇性地，本發明的組成物可另外包含以下提供的牙垢控制(抗牙垢)劑。在此有用的牙垢控制劑包括上述指定藥劑的鹽類，包括鹼金屬和銨鹽。藥劑包括：磷酸鹽和多磷酸鹽(例如焦磷酸鹽)、聚胺基丙磺酸(AMPS)、聚烯烴磺酸鹽、聚烯烴磷酸鹽、二膦酸鹽例如氮雜環烷-2,2-二膦酸鹽(例如氮雜環庚烷-2,2-二膦酸)、N-甲基氮雜環戊烷-2,3-二膦酸、乙烷-1-羥基-1,1-二膦酸(EHDP)和乙烷-1-胺基-1,1-二膦酸鹽、膦醯基鏈烷羧酸及其混合物。有用的無機磷酸鹽和多磷酸鹽包括磷酸單鈉、磷酸二鈉和磷酸三鈉、三聚磷酸鈉、四聚磷酸鈉、焦磷酸單鈉、焦磷酸二鈉、焦磷酸三鈉、焦磷酸四鈉、三偏磷酸鈉、六偏磷酸鈉及其混合物。其他有用的防牙垢劑包括聚羧酸鹽聚合物、聚乙烯甲基醚/馬來酸酐(PVME/MA)共聚物，例如 GANTREZ®。可加入無效量的此種藥劑，例如從 1 至 20 重量%。

【0050】 在部分實施例中，組成物可包含一種或多種胺基酸。可整合至本發明的組成物之胺基酸包括精胺酸、組胺酸、賴胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、天冬醯胺酸、麩胺醯胺、半胱胺酸、甘胺酸、脯胺酸、丙胺酸、纈胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸和色胺酸。在部分實施例中，組成物包含一種或多種胺基酸，選自左式精胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、左式賴胺酸、麩胺酸、絲胺酸及其混合物。在部分實施例中，組成物包含左式賴胺酸。

【0051】 在部分實施例中，組成物可包含多肽。例如，組成物可包括含有 25 – 30 個賴胺酸殘餘物的聚賴胺酸。

【0052】 在部分實施例中，本發明的組成物進一步包含營養成分。適合的營養成分包括維生素、礦物質、胺基酸及其混合物。維生素包含維生素 C 和 D、硫胺素、核黃素、泛酸鈣、菸酸、葉酸、菸鹼醯胺、吡哆醇、氰鈷胺、對胺苯甲酸、生物類黃酮及其混合物。營養補充劑包括胺基酸(例如左式色胺酸、左式賴胺酸、甲硫胺酸、蘇胺酸、左旋肉鹼和左式肉鹼)、親脂物(例如膽鹼、肌醇、甜菜鹼和亞麻油酸)及其混合物。

【0053】 本發明亦提供一種用於抑制牙周病原菌附著或侵入齒齦上皮細胞的方法，該方法包含施加包含鋅離子來源的組成物至齒齦上皮組織。可使用手或牙刷等工具(例如將牙刷浸入口腔護理組成物再施加至齒齦上皮組織)將組成物施加至組織。或者，能夠在液體口腔清洗劑中施加組成物。在一實施例中，能夠以每日介於 1 和 4 次的頻率(亦即在 24 小時內介於 1 和 4 次的頻率)施加組成物至齒齦上皮細胞。在一實施例中，以每日 1 次的頻率施加組成物至齒齦上皮組織。

【0054】 實例：

【0055】 細胞製備：

【0056】 將人類牙周韌帶成纖維細胞(Human periodontal ligament fibroblasts/ HPdLF, Lonza cat#CC-7049)植入平板，並使用包含基質細胞基礎培養基、hFGF-B、胰島素、FBS 和 GA-1000 的 SCGM Bullet Kit (Lonza, #CC-3205)在 37°C 下以 5 % CO₂ 培養一夜。

【0057】 細菌製備：

【0058】 在 37 °C 下將病原細菌(伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) (Aa) ATCC cat#29522 或牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*) (Pg) ATCC cat#33277)培養一夜(對伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)使用胰蛋白酶，而對牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)使用半強度的腦心浸液培養基(以酵母萃取物、氯化血紅素和 vitK1 補充)。讀取到的光學密度為 610 奈米。將細菌以 8000 轉/分離心 10 分鐘，使沈澱細胞重新懸浮在細胞培養液中，再加以稀釋至 OD₆₁₀ 為 0.1 和 0.2。

【0059】 細胞感染：

【0060】 將測試樣品(溶於水)加入細胞，在 5 % CO₂ 培養器內以 37°C 培養 30 分鐘，再加入細菌。藉由將重新懸浮的細菌加進細胞並進一步在 5 % CO₂ 培養器內以 37°C 培養 90 至 120 分鐘，使細菌感染細胞。

【0061】 細菌侵入之判定：

【0062】 使用 PBS 清洗細胞 5 次以移除非附著細菌。加入含有 1x 青黴素(100 IU)和鏈黴素(100 微克/毫升)新鮮細胞培養基，然後在 5 % CO₂ 培養器內以 37°C 培養 2 個小時以殺死細胞外細菌。然後移除培養基並以 PBS 清洗細胞 3 次。在 37 °C 下將溶於 PBS 的 1 毫升 1%皂素溶液加進受感染的細胞達 5 分鐘以溶解細胞並釋放內化的細菌。使用 100 微升樣品，將稀釋物(在 PBS 中連續稀釋，稀釋因子為 10)鋪板至合適的培養基上，並使用消毒過棒狀物塗抹展開，然後在厭氧培養室內以 37 °C 培養 2 – 3 天，並計算最終的細菌聚落。

【0063】 結果如表 1 和 2 所示。表 1 顯示氧化鋅對伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)和牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)的影響。表 1 顯示使用氧化鋅處理過的細胞具有較少的內化伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)和內化牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)。在本實例中，氧化鋅減少內化伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)約 15 % 和內化牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)約 6 %。表 2 顯示氧化鋅和檸檬酸鋅皆減少侵入人類牙周韌帶成纖維細胞的內化伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)。8 ppm 的檸檬酸鋅減少內化伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)約 66 %，而 4 ppm 的氧化鋅減少內化伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)約 23 %。

表 1

樣品	細菌數
Aa	11800
Aa +氧化鋅	10040
Pg	11460
Pg +氧化鋅	10760

表 2

樣品	細菌數
Aa + 檸檬酸鋅 8 ppm	64
Aa + 氧化鋅 4 ppm	137
Aa	178

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

無



申請專利範圍

- 1.一種組成物，包含用於抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞的鋅離子來源。
- 2.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該口腔軟組織為齒齦上皮細胞。
- 3.如上述申請專利範圍之任一項的組成物，其中該牙周病原菌引起、傳播或加劇選自牙齦炎和牙周炎的牙周病。
- 4.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該牙周病原菌為轉糖鏈球菌(*Streptococcus mutans*)、遠緣鏈球菌(*Streptococcus sobrinus*)、血鏈球菌(*Streptococcus sanguis*)、口腔鏈球菌(*Streptococcus oralis*)、牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、犬齒齦液卟啉單胞菌(*Porphyromonas cangingivalis*)、伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、福賽斯坦納菌(*Tannerella forsythia*)、革蘭氏陰性桿狀菌(*Fusobacterium nucleatum*)和牙垢密螺旋體(*Treponema denticola*)之其中一種或多種。
- 5.如申請專利範圍第4項的組成物，其中該牙周病原菌為牙齦卟啉單胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)及/或伴放線桿菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)。
- 6.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該鋅離子來源包含選自氯化鋅、醋酸鋅、葡萄糖鋅、硫酸鋅、氟化鋅、檸檬酸鋅、乳酸鋅、氧化鋅、單甘油酸鋅、酒石酸鋅、焦磷酸鋅、磷酸鋅、馬來酸鋅、蘋

果酸鋅、碳酸鋅、抗壞血酸鋅、氫氯離胺酸鋅和單水氫氧氯化鋅 (TBZC)的一種或多種鋅鹽。

7.如申請專利範圍第6項的組成物，其中該鋅離子來源包含選自檸檬酸鋅和氧化鋅的一種或多種鋅鹽。

8.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該組成物包含介於1和20,000 ppm的鋅。

9.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該組成物會傳遞介於1和50毫莫耳的鋅至口腔表面。

10.如申請專利範圍第9項的組成物，其中該組成物會傳遞介於10和50毫莫耳的鋅至口腔表面。

11.如申請專利範圍第1項的組成物，其係用於哺乳類受試者。

12.如申請專利範圍第1項的組成物，其係用於人類受試者。

13.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該組成物為口腔護理組成物。

14.如申請專利範圍第1項的組成物，其中該組成物為口腔護理組成物，選自潔牙劑、牙膏、牙粉、口腔清洗劑、錠劑、口香糖、凝膠、塗料和薄膜。

15.一種按照申請專利範圍第1和14項之任一項的組成物之使用，用於製造抑制牙周病原菌附著或侵入口腔軟組織上皮細胞的藥物。