



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 36 251 T2** 2008.02.07

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 010 430 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 36 251.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/JP99/02223**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 917 168.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1999/056762**

(86) PCT-Anmeldetag: **27.04.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **11.11.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **21.06.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **06.06.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **07.02.2008**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 38/02** (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 11/00 (2006.01)

A23J 3/08 (2006.01)

A23L 1/305 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

13424398 30.04.1998 JP

(73) Patentinhaber:

**Snow Brand Milk Products Co., Ltd., Sapporo,
Hokkaido, JP**

(74) Vertreter:

Vossius & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

CH, DE, ES, FR, GB, IT, LI, NL

(72) Erfinder:

**TAKADA, Yukihiro, Kawagoe-shi Saitama-ken
350-0811, JP; AOE, Seiichirou, Sayama-shi
Saitama-ken 350-1331, JP; SERIZAWA, Atsusi
Arbeein Kawagoe Fujimikoen, Kawagoe-shi
Saitama-ken 350-1165, JP; SUGURI, Toshiaki,
Tokyo 116-0011, JP; DOUSAKO, Shunichi,
Urawa-shi Saitama-ken 336-0002, JP**

(54) Bezeichnung: **MITTEL ZUR VORBEUGUNG UND LINDERUNG DER PERIODONTOSE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Technischer Bereich

[0001] Diese Erfindung betrifft ein Mittel zur Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung mit einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraktion als wirksamem Bestandteil. Diese Erfindung betrifft auch die Verwendung des Mittels zur Verhinderung und Linderung der parodontalen Erkrankung mit einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraktion als wirksamem Bestandteil für ein Nahrungsmittel/Getränk und Medikament.

Hintergrund

[0002] In den letzten Jahren wurde die parodontale Erkrankung zum Ziel öffentlicher Besorgnis. Anders als dentales Karies ist die parodontale Erkrankung eine Erkrankung, bei der das Fundament der Zähne schwach wird, und die Verwendbarkeit von Zähnen, die nicht kariöse Zähne sind, geht schließlich verloren. Zusätzlich ist zu sagen, dass es eine große Anzahl an Menschen gibt, die Symptome einer parodontalen Erkrankung zeigen. In diesem Sinne ist die parodontale Erkrankung eine schwerwiegendere Erkrankung als dentales Karies.

[0003] Herkömmlicherweise wird die Vorbeugung der parodontalen Erkrankung von dem Standpunkt her durchgeführt, dass Bakterien, die Ursache der Erkrankung, durch Entfernung von Zahnbelag oder Gurgeln mit einer Mundspülung, die ein antibakterielles Mittel enthält, an der Ausbreitung gehindert werden. Jedoch wird die Wirksamkeit dieser Verfahren für fortgeschrittene Fälle parodontaler Erkrankung als gering angesehen. Mit anderen Worten wird im Endstadium der parodontalen Erkrankung eine Verringerung des Alveolarknochens beobachtet, und, ist der Alveolarknochen einmal geschwunden, ist es schwierig, ihn wieder herzustellen. Deshalb ist, wenn ein Zahn auf Grund einer parodontalen Erkrankung verloren ist, das tägliche Leben der Menschen beeinträchtigt, denn, unnötig zu sagen, Essen ist mit Schwierigkeiten verbunden und er verursacht Schmerzen etc.. Deshalb wird ein sofortiges und wirksames vorbeugendes/linderndes Mittel gefordert. Im Moment ist jedoch kein Mittel zur Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung verfügbar, das bei der Beschränkung des Rückgangs des Alveolarknochens wirksam ist.

[0004] FR2651433 betrifft Zusammensetzungen zur Behandlung einer parodontalen Erkrankung, erhalten durch Beimischen von Lactoperoxidase, Lactoferrin und einigen anderen Enzymen.

[0005] US5149647 stellt ein Verfahren zum Erhalten von Lactoperoxidase und Lactoferrin aus Milch durch Kationen-Austauschchromatographie zur Verfügung, stellt jedoch nur gereinigte Fraktionen zur Verfügung, die die Polypeptide jeweils in ihrer isolierten Form enthalten, und offenbart nicht die Verwendung eines dieser Fraktionen zur Behandlung oder Verhinderung der parodontalen Erkrankung.

Offenbarung der Erfindung

[0006] Ein Problem, das diese Erfindung lösen soll, ist die Bereitstellung eines Mittels zur Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung mit einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraktion als wirksamen Bestandteil. Ein anderes Problem, das diese Erfindung lösen soll, ist die Bereitstellung eines Medikaments und Nahrungsmittels/Getränks, in dem dieses Mittel zur Verhinderung und Linderung der parodontalen Erkrankung mit einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraktion als wirksamen Bestandteil enthalten ist.

[0007] Die Erfinder dieser Erfindung wiesen nach, dass basische Proteinfraktion, die in einer sehr kleinen Menge in Milch enthalten ist, eine bemerkenswerte Wirkung auf die Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung hat und vervollständigten damit diese Erfindung.

[0008] Als Bestandteile kann Milch wie Kuhmilch, Ziegenmilch und Schafmilch verwendet werden. Die vorstehend erwähnten verschiedenen Milchtypen können so, wie sie sind, in Form von Frischmilch oder in Form von hergestellten Produkten wie Milchpulver, Magermilch, reduzierte Milch, Molke etc. verwendet werden.

[0009] Die in dieser Erfindung verwendete basische Proteinfraktion wird durch Inkontaktbringen der vorstehend erwähnten Milch mit Kationenaustauschharz und darauffolgendes Eluieren einer Fraktion, die durch das Harz adsorbiert wird, unter Verwendung einer Elutionslösung mit einer Salzkonzentration von 0,1 M–1,0 M erhalten. Des Weiteren kann das erhaltene basische Protein ggf. nach Entsalzen oder Kondensieren verwendet werden.

[0010] Eine so erhaltene basische Proteinfraktion ist eine aus Milch stammende basische Proteinfraktion, die bei Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gel (SDS-PAGE)-Elektrophorese eine Molekulargewichtsverteilung von 3.000–80.000 Dalton und einen isoelektrischen Punkt von 7,5–11 hat. Ihre Hauptbestandteile sind Lactoferrin und Lactoperoxidase und sie enthält als Aminosäurebestandteil im Protein zu mehr als 15 Gewichtsprozent basische Aminosäuren.

[0011] Zusätzlich hat das die parodontalen Erkrankung verhindernde und lindernde Mittel dieser Erfindung die vorstehend erwähnte basische Proteinfraktion als Hauptbestandteil, und es kann in ein Nahrungsmittel/Getränk und Medikament gemischt werden, zum Beispiel in Form von Zahnpasta, Gurgelmittel, Bonbons, Kaugummi, Pastillen etc.. Als ein Verfahren zur Dosierung als Medikament ist es wünschenswert, etwa 1–50 mg/Tag für einen Erwachsenen, verteilt auf mehrere Anwendungen, auf die Oberfläche der Zähne aufzubringen.

[0012] Weiterhin ist die basische Proteinfraktion dieser Erfindung im Wesentlichen der Bestandteil von Milch und wird als sicher angesehen. In der Tat wurde in der Folge von Toxizitätstest unter Verwendung von Ratten keine akute Toxizität gefunden.

Die beste Art zur Durchführung der Erfindung

<Herstellungsbeispiel>

Herstellung von aus Milch stammender basischer Proteinfraktion

[0013] Nach vollständigem Ausspülen einer Säule, in der 100 g Kationenaustauschharz (sulfonierte Chitokügelchen, hergestellt durch Fujibouseki) platziert war, unter Verwendung von entionisiertem Wasser, ließ man bei einem Durchfluss von 10 ml/min 10 l unsterilisierte Magermilch durch die Säule laufen. Nach vollständigem Ausspülen der Säule mit entionisiertem Wasser ließ man 2 l 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7), der 0,1 M Natriumchlorid enthielt, durchlaufen. Daraufhin wurde unter Verwendung von 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7), der 0,1 M Natriumchlorid enthielt, und 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7), der 1,0 M Natriumchlorid enthielt, eine Gradientenelution von 0,5 M bis 1,0 M durchgeführt, um das basische Protein, das durch das Harz adsorbiert wurde, zu eluieren und zu gewinnen. Dieses Eluat wurde unter Verwendung einer reversen Osmosemembran entsalzt. Nach seiner Aufkonzentrierung wurde es lyophilisiert und eine pulverisierte basische Proteinfraktion wurde erhalten. Durch achtmalige Wiederholung dieses Arbeitsgangs wurden 821 g basische Proteinfraktion erhalten.

<Testbeispiel>

Bewertung des zurückgegangenen Alveolarknochens

[0014] 54 sechs Wochen alte Goldhamster wurden vorbereitend für eine Woche aufgezogen. Unter Etherbetäubung wurde sterilisierte Seidenfaden Nr. 4 für operative Verwendung fünfmal um den Zahnhalsteil von M1 der Goldhamster gelegt. Sie wurden aufgezogen, wobei Nahrung gefüttert wurde (D#2000: Keyes, P.H. und Jordan: Archs. Oral. Biol. 9: 377–400, 1964), die bei ihnen eine parodontale Erkrankung verursachte. Die Hamster wurden dann in drei gleiche Gruppen von jeweils 18 aufgeteilt, die Kontrollgruppe, die Gruppe mit basische Proteinfraktion (0,5 mg/ml) und die Gruppe basischer Proteinfraktion (5 mg/ml). Eine Behandlung, bei der das Innere der Mundhöhle der Hamster kontinuierlich mit basischem Protein der jeweiligen Konzentration durchgespült wurde, wurde zweimal am Tag über etwa 10 Minuten durchgeführt. Drei Tage, sieben Tage und vierzehn Tage nach Beginn dieser Behandlung wurden unter Auswahl von 6 Hamstern aus jeder Gruppe nach Durchführen einer fixierten Perfusion unter Verwendung von 2,5% Glutaraldehyd-Lösung (pH 7,4) über etwa 20 Minuten beide Seiten des Unterkieferknochens entfernt und die Menge des zurückgegangenen Alveolarknochens wurde bewertet. Nach Fixierung der entfernten Kieferknochen mit 2,5% Glutaraldehyd-Lösung wurde eine weiche Röntgenfotografie gemacht. Die Fotos wurden unter Verwendung eines Bildanalysegeräts (PIAS LA-555) analysiert. Durch Messen eines Bereichs zwischen einer Schmelz-Zement-Grenze und der Spitze des Alveolarknochens nahe M1 wurde die Menge an zurückgegangenen Alveolarknochen bewertet.

[0015] Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 gezeigt. Die Menge an zurückgegangenen Alveolarknochen der Hamster in der Gruppe, der basische Proteinfraktion (0,5 mg/ml und 5 mg/ml) verabreicht worden war, ist signifikant gering, und diese Wirkung war konzentrationsabhängig. Diese Ergebnisse zeigen, dass aus Milch stammende basische Proteinfraktion den Rückgang des Alveolarknochens hemmt und für die Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung wirkungsvoll ist.

[Tabelle 1]

Wirksamkeit der Kontrolle des zurückgegangenen Alveolarknochens durch aus Milch stammendes basisches Protein

Kontrolle	Basische Proteinfraktion	Basische Proteinfraction
	0,5 mg/ml	5 mg/ml
Zurückgegangener Bereich (mm ²)		
nach 3 Tagen 0,25	0,22	0,14
nach 7 Tagen 1,21	0,83 **	0,36 **
nach 14 Tagen 1,64	1,01 **	0,45 **

** Man beachte: Im Vergleich zur Kontrollgruppe bestehen signifikante Unterschiede ($P < 0,01$)

<Beispiel 1>

Herstellung von Zahnpasta zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung

[0016] Zahnpasta zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung wurde durch Vermischen jedes Bestandteils mit dem in der nachstehenden Tabelle 2 gezeigten prozentualen Anteil und Platzieren des Produkts in einem Behälter hergestellt.

[Tabelle 2]

Glycerin	70,0 (Gewichtsprozent)
Siliciumdioxid	20,0
Xanthangummi	1,0
Minzgeschmack	1,0
Titanoxid	0,7
Natriumfluorid	0,3
Destilliertes Wasser	6,5
Basische Milchprotein-Fraktion	0,5

<Beispiel 2>

Herstellung eines Mundwassers zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung

[0017] Ein Mundwasser zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung wurde durch Vermischen jedes Bestandteils in dem in Tabelle 3 gezeigten prozentualen Anteil hergestellt.

[Tabelle 3]

Ethanol	8,0 (Gewichtsprozent)
Parfüm	0,9
Sorbit	5,0
Propylenglykol	5,0
Basische Milchprotein-Fraktion	0,1
Destilliertes Wasser	81,0

<Beispiel 3>

Herstellung eines Kaugummi zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung

[0018] Gemäß den in Tabelle 4 gezeigten Gewichtsprozenten wurde das Produkt, nachdem die Kaugummi-Base gelöst und jeder Bestandteil untergemischt war, geformt, was einen Kaugummi zum Zweck der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung ergab.

[Tabelle 4]

Gummibasis	20,0 (Gewichtsprozent)
Maissirup	9,0
Dextrose-1-hydrat	10,0
Lactose	5,0
Glycerin	5,0
Zucker	50,0
Basische Milchprotein-Fraktion	1,0

<Beispiel 4>

Herstellung von Bonbons zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung

[0019] Zucker und klebriger Stärkesirup wurden in den in Tabelle 5 gezeigten prozentualen Gewichtsanteilen vermischt. Das Gemisch wurde bei 150°C (302°F) gekocht, bis es kondensiert war. Nachdem es auf 115°C (239°F) abgekühlt war, wurde basische Milchprotein-Fraktion in einer Menge von 0,1 Gewichtsprozent eingebracht. Nachdem es auf einer Kühlscheibe abgekühlt war, wurde es geformt, was Bonbons zu Zwecken der Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung ergab.

[Tabelle 5]

Zucker	69,9 (Gewichtsprozent)
Klebriger Stärkesirup	30,0
Basische Milchprotein-Fraktion	0,1

Industrielle Anwendbarkeit

[0020] Das Mittel zur Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung dieser Erfindung mit einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraction als wirksamem Bestandteil kann den Rückgang des Alveolarknochens verhindern, der im Endstadium der parodontalen Erkrankung auftritt. Somit trägt es zur Verhinderung und Linderung dieser Krankheit in großem Maße bei.

[0021] Ebenfalls können wesentliche verhindernde und lindernde Wirkungen erreicht werden, da das Mittel zur Verhinderung und Linderung einer parodontalen Erkrankung dieser Erfindung in ein Nahrungsmittel/Getränk und Medikament gemischt werden kann, zum Beispiel in Form von Zahnpasta, Gurgelmittel, Bonbons, Kaugummi, Pastillen etc., die wirksam auf die Oberfläche der Zähne aufgebracht werden.

Patentansprüche

1. Verwendung einer aus Milch stammenden basischen Proteinfraction für die Herstellung eines Arzneimittels zur Verhinderung oder Linderung einer parodontalen Erkrankung wobei
 - (a) die Proteinfraction eine Molekulargewichtsverteilung von 3000–8000 Dalton und einen isoelektrischen Punkt innerhalb eines Bereichs von 7,5–11 aufweist,
 - (b) die Proteinfraction als Hauptbestandteile Lactoferrin und Lactoperoxidase hat,
 - (c) die Proteinfraction als ihre Aminosäurebestandteile im Protein basische Aminosäuren von mehr als 15 Gewichtsprozent enthält, und
 - (d) die Proteinfraction erhältlich ist durch das Durchleiten von Milch oder eines Milch-entstammenden Bestand-

teils durch ein Kationenaustauschharz und das Durchführen einer Gradientenelution unter Verwendung eines Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7, enthaltend 0,1 M Natriumchlorid, und eines Phosphatpuffers mit einem pH-Wert von 7, enthaltend 1,0 M Natriumchlorid.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung in Form eines Nahrungsmittels oder Getränks vorliegt.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung in Form einer Zahnpasta oder eines Gurgelmittels vorliegt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen