

(11) Número de Publicação: **PT 1313440 E**

(51) Classificação Internacional:

**C07K 17/00** (2007.10) **A61K 38/16** (2007.10)

**A61K 38/04** (2007.10) **A61P 19/08** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2001.08.09**

(30) Prioridade(s): **2000.08.16 US 225879 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2003.05.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.07.16**  
**207/2008**

(73) Titular(es):

**ACOLOGIX, INC.**

**3960 POINT EDEN WAY HAYWARD, CA 94545**

**US**

(72) Inventor(es):

**TOSHIYUKI YONEDA**

**MOTOYOSHI NOMIZU**

**YOSHINARI KUMAGAI**

**US**

**JP**

**US**

(74) Mandatário:

**JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO**

**R DO SALITRE 195 RC DTO 1250-199 LISBOA**

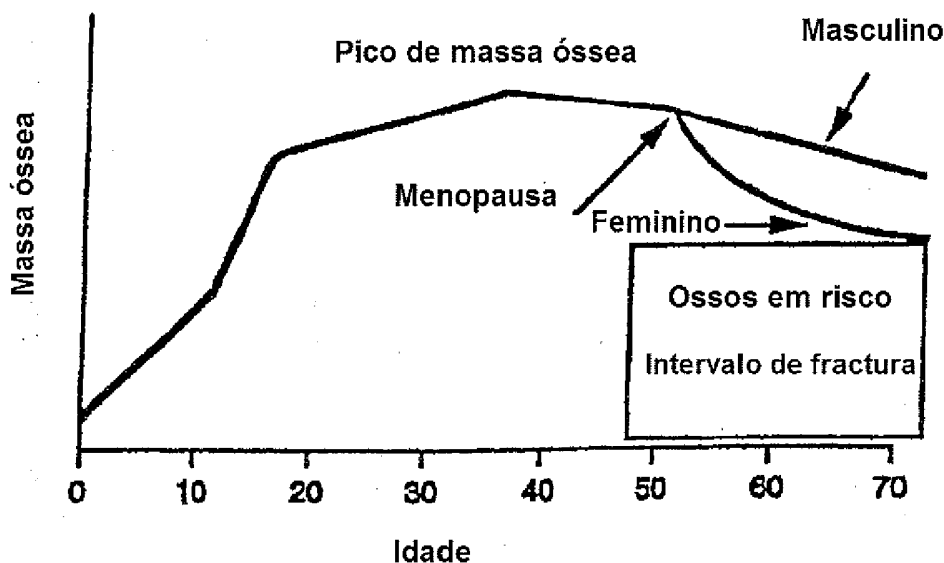
**PT**

(54) Epígrafe: **PRODUTOS DENTÍFRICOS QUE CONTÊM UM PÉPTIDO QUE POTENCIA O CRESCIMENTO DOS OSSOS**

(57) Resumo:

## RESUMO

### PRODUTOS DENTÍFRICOS QUE CONTÊM UM PÉPTIDO QUE POTENCIA O CRESCIMENTO DOS OSSOS



A presente invenção tem por objecto produtos dentífricos tal como pastas de dentes, colutórios e fios dentais, produtos esses que são potenciados por terem neles dissolvidos, dispersos ou sob a forma de revestimento, um composto que promove o crescimento dos ossos. Os compostos preferidos, que se descrevem, são sequências de péptidos que contêm 10 a 50 aminoácidos. As sequências são caracterizadas por conterem um elemento de ligação da integrina tal como uma sequência RGD e a parte remanescente dos aminoácidos contíguos à sequência RGD sequência numa fosfo-glicoproteína extracelular da matriz. As sequências podem ser formuladas para serem dispersas na pasta de dentes ou em colutórios e podem ser administradas para potenciar o crescimento dos ossos/dentes. Quando os produtos dentífricos são utilizados repetidamente ao longo do tempo, potenciam uma boa saúde dentária.

## DESCRIÇÃO

### PRODUTOS DENTÍFRICOS QUE CONTÊM UM PÉPTIDO QUE POTENCIA O CRESCIMENTO DOS OSSOS

#### ÁREA TÉCNICA

A presente invenção tem por objecto, de uma forma geral, a área dos produtos dentífricos e, mais particularmente, esses produtos complementados de tal modo que se-jam úteis no tratamento de doenças dos ossos.

#### ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Utiliza-se uma vasta gama de produtos dentífricos incluindo pastas de dentes, colutórios e fios dentais. Estes produtos destinam-se geralmente a reduzir as doenças dentífricas. Contudo, está muito bem documentado que os distúrbios dos tecidos dos ossos e do metabolismo mineral ligados ao esqueleto causam numerosos e significativos problemas de saúde e isso pode ser específico dos problemas dentífricos.

Nos seres humanos, o máximo da massa óssea ocorre entre a idade dos 15 e os 40 anos e refere-se como "o pico da massa óssea." Depois da idade desse pico da massa óssea, a massa óssea começa a declinar gradualmente e a força mecânica dos ossos vai-se reduzindo de acordo com isto. Consequentemente, quando a força mecânica declina até a um certo nível, o indivíduo incorre num risco maior de fracturas ósseas. Esta ocorrência natural é designada por osteoporose se for suficientemente severa para ser patogénica.

A velocidade à qual ocorre a perda óssea difere de indivíduo para indivíduo e especialmente no que respeita ao

gênero. Nas mulheres, a velocidade da perda óssea acelera imediatamente após a menopausa (ver figura 1) por causa de um declínio significativo do estrogênio disponível, uma hormona que desempenha um papel crítico na manutenção de um metabolismo saudável dos ossos. A osteoporose após a menopausa constitui um importante problema clínico porque aflige um Número significativo de mulheres. Nomeadamente, a relação entre mulheres e homens para pacientes com osteoporose é de 3:1.

A maioria das doenças ósseas é caracterizada pela perda dos minerais dos ossos, enfraquecimento dos ossos e consequentemente, um aumento da frequência e da severidade das fracturas ósseas, que são chamadas "fracturas patológicas." Na população mais velha, isto tem impactos sociais significativos assim como muitas das pessoas que fazem fracturas ósseas têm dificuldades com a mobilidade, o que leva muitas vezes à deterioração de outras funções mentais e físicas, resultando em demência, enfraquecimento muscular e/ou fadiga. Além disso, a morbidez e a dor aumentam significativamente por eventos trombóticos, tal como embolias pulmonares que ocorrem em resultado de fracturas da bacia ou pélvicas.

Nos Estados Unidos apenas, diz-se que 52 milhões de mulheres com idade superior a 45 anos irão sofrer de osteoporose nos anos 2000. A população mundial que neste momento tem osteoporose anda à volta de 200 milhões. A incidência anual das fracturas patológicas apenas nos Estados Unidos é de aproximadamente 1,5 milhões. Estima-se que os custos médios anuais com estes pacientes com osteoporose nos Estados Unidos e no mundo sejam de \$14 mil milhões e \$60 mil milhões, respectivamente.

A insuficiência renal é também um problema de saúde significativo relacionado com o metabolismo dos minerais e

com a formação dos ossos do esqueleto e o número de pacientes com este problema está a aumentar rapidamente. Nestes pacientes a função renal vai diminuindo gradualmente por um período de vários anos, até dez anos. Quando a função renal se reduz aproximadamente até a um quarto ( $1/4$ ) do nível de uma pessoa saudável, os pacientes são classificados como tendo uma insuficiência renal crónica. Quando passa para aproximadamente para um sexto ( $1/6$ ), os pacientes necessitam de começar a fazer diálise e designa-se este estado por doença renal em estágio terminal (DRET, designada por ESRD na terminologia inglesa). Em pacientes com insuficiência renal crónica, os níveis no soro de minerais importantes tal como o cálcio e o fosfato perdem a sua homeostase normal, o que resulta em malformações do esqueleto. Designa-se por osteodistrofia renal (ODR), que é uma osteoporose secundária da insuficiência renal. A ODR pode também causar uma fractura patológica como a osteoporose. A prevalência da doença renal em estágio terminal (DRET) nos Estados Unidos está a aumentar rapidamente e atingiu aproximadamente 300 milhares em 2000. Como a DRET é uma parte da insuficiência renal, deve haver um número muito maior de pacientes com ODR.

Há várias outras doenças dos tecidos do esqueleto e do metabolismo dos minerais tal como doença de Paget, raquitismo, osteopetrose, hiperparatiroidismo e outras e um certo número de pacientes são afectados por estas doenças.

Metabolicamente, os ossos são órgãos muito activos com a reabsorção e a formação dos ossos a ocorrer continuamente (remodelação). A reabsorção óssea é facilitada pelos osteoclastos que se diferenciam da linha de células de monócitos/macrófagos. Os osteoclastos aderem à superfície dos ossos e degradam o tecido dos ossos pela secreção de ácidos e das enzimas. Os osteoblastos facilitam a formação dos ossos por

meio da aderência ao tecido degradado dos ossos e a secreção de proteínas da matriz dos ossos, que são mineralizados principalmente pelo cálcio e pelo fosfato. Os osteoblastos diferenciam-se dentro das células dos ossos (osteócitos) e tornam-se parte do tecido ósseo.

Têm-se tentado numerosas abordagens experimentais quer para acelerar a formação óssea ou para diminuir a reabsorção óssea. Por exemplo, factores de crescimento conhecidos como PMOs (proteínas morfogenéticas dos ossos), FTC $\beta$  (factor de transformação do crescimento  $\beta$ ), FCI (factor de crescimento semelhante à insulina), factor de crescimento do fibroblasto (FCF) são conhecidos por terem actividades biológicas potentes na formação dos ossos. Em particular, algumas moléculas da sub-família das PMO, tal como PMO-2 são olhadas como uns dos factores de crescimento mais potentes para tecidos duros. Contudo, estes factores não têm sido desenvolvidos como agentes terapêuticos para doenças sistémicas dos ossos. Por nenhum deles poder ser libertado selectivamente para os ossos, alguns destes factores tal como as PMOs convertem tecido mole em tecido duro. Designa-se por calcificação ectópica e é um efeito adverso para eles quando se utilizam sistemicamente. Além disso, os processos de formação e de reabsorção dos ossos estão tão fortemente ligados o que faz aumentar de forma selectiva a formação dos ossos ou a inibição selectiva e torna a reabsorção dos ossos extremamente difícil.

Actualmente, há uma necessidade de um tratamento efectivo para a perda óssea. Agentes terapêuticos tais como estrogénio, calcitonina, vitamina D, fluoreto, Iprifravon, bisfosfonatos, e alguns outros falharam em providenciar meios de tratamento satisfatórios. (Gennari et al., Drug Saf. (1994) 11 (3): 179-95).

O estrogénio e os seus análogos são administrados frequentemente aos pacientes com osteoporose postmenopausa. A terapia de substituição com estrogénios envolve a administração de estrogénio imediatamente antes ou depois do início da menopausa. Contudo, como é muitas vezes o caso com hormonas de esteróides, a utilização de estrogénios a longo prazo tem efeitos adversos significativos tais como cancros da mama e outros cancros ginecológicos (Schneider et al., Int. J. Fertil. Menopausal Study (1995) 40 (1): 40-53).

A calcitonina, uma hormona endógena produzida pela tiróide, liga-se selectivamente aos osteoclastos, por via do seu receptor, e inactiva-os. Dado que o osteoclasto é a única célula que pode dissolver o tecido ósseo, a ligação da calcitonina pode bloquear ou retardar a degradação dos ossos causada pelo osteoclasto. Contudo, este mecanismo biológico tem um período de vida muito curto, porque os osteoclastos se tornam tolerantes a este fármaco de uma forma relativamente rápida. Por isso, a utilização de calcitonina não consegue ser uma opção terapêutica a eficaz.

O fluoreto tem mostrado que aumenta a massa óssea quando é administrado a seres humanos. Contudo, embora a massa óssea seja aumentada, a força mecânica não o é. Por isso, apesar do aumento aparente da massa óssea, permanece o risco de fractura (Fratzl et al., J. Bone Mineral Res. (1994) 9 (10): 1541-1549). Além disso, a administração de fluoreto tem riscos significativos para a saúde.

O iprifravon tem sido utilizado para tratar a osteoporose em áreas limitadas no mundo. Contudo, a eficácia actual deste composto é questionável e não é amplamente aceite como um agente terapêutico para doenças ósseas.

Os bisfosfonatos são compostos derivados de pirofosfato. As sínteses envolvem a substituição de um átomo de oxigénio, situado entre dois átomos de fósforo, por carbono e a modificação do carbono com vários substituintes. Embora os bisfosfonatos sejam conhecidos por suprimir a reabsorção óssea, têm pouco efeito na formação dos ossos. Além disso, os bisfosfonatos aderem à superfície óssea e permanecem aí durante um tempo muito longo causando uma diminuição, a longo prazo, da renovação do tecido ósseo. Como o tecido ósseo necessita de ser renovado continuamente, esta diminuição da renovação resulta, em última análise, na deterioração dos ossos (Lufkin et al., Osteoporos. Int. (1994) 4 (6): 320-322; Chapparel et al., J. Bone Miner. Res. (1995) 10 (1): 112-118).

Outro problema significativo com os agentes descritos antes é que, com excepção do fluoreto e do iprifravon, eles não são apropriados para administração oral e assim devem ser dados parentericamente. Dado que os distúrbios dos ossos são muitas vezes crónicos e requerem uma terapia de longo prazo, é importante que os agentes terapêuticos sejam apropriados para administração oral.

Em resumo, existe uma necessidade significativa de um agente terapêutico que previne ou trata a perda óssea. Em particular, é altamente desejável um novo fármaco que possa aumentar selectivamente a formação óssea e/ou o número de osteoblastos sem afectar a reabsorção óssea ou os tecidos moles.

Um outro problema de saúde da maior importância relacionado com o esqueleto e o metabolismo dos minerais relacionado com os dentes. Apenas nos Estados Unidos estima-se que 67 milhões de pessoas são afectadas por doença perio-



dontal e que o custo anual do seu tratamento foi de aproximadamente \$6,0 mil milhões em 2000. Diz-se que 90 % de toda a população vai ter cáries dentárias na sua vida. O custo anual para as tratar é superior a \$50 mil milhões por ano apenas nos Estados Unidos.

As cáries dentárias são uma doença universal e afectam crianças e adultos. A doença periodontal, por outro lado, afecta principalmente adultos e, em particular, os idosos. Em muitos casos, a gengiva dos pacientes está inflamada e destruída, o osso alveolar que suporta os dentes está deteriorado. O cimento que constitui o núcleo da raiz está também danificado e, conseqüentemente, os dentes caem. Um dos tratamentos mais comuns para a perda dos dentes envolve a utilização de um implante dental. Coloca-se um implante artificial (implantes dentífricos integrados nos ossos) no espaço que perdeu o dente. Em vários casos, substitui-se uma dentadura inteira por implantes. Contudo, os implantes frequentemente perdem-se, ou caem porque a sua fixação no osso alveolar nem sempre tem sucesso. Dado que o osso alveolar está de alguma forma danificado nestes pacientes, o implante nem sempre pode ser bem suportado no osso alveolar. Quando o osso alveolar está severamente danificado, faz-se um enxerto de um osso autógeno. Neste caso, retira-se o enxerto do osso de outro tecido do esqueleto do mesmo paciente e enxerta-se na área alveolar danificada para que o tecido duro seja regenerado e o sinus fique aí elevado. Dado que estes tratamentos requerem materiais biocompatíveis caros e/ou técnicos altamente competentes, o custo do tratamento é normalmente muito alto.

Crê-se que as cáries dentárias são causadas por condições ácidas na cavidade oral. Por exemplo, os açúcares são convertidos em ácido e dissolvem a superfície dos dentes.

Embora em muitos casos apenas o esmalte e uma parte da dentina sejam afectados, os danos podem atingir a cavidade da polpa dentária em casos severos o que causa uma dor significativa. O tratamento mais típico é o enchimento da lesão da cárie com materiais que não se degradam tal como metais ou óxido de metal. O tratamento das cáries dentárias depende principalmente dos materiais e das técnicas utilizadas pelos dentistas, que são muitas vezes caros.

Embora alguns agentes terapêuticos tenham sido desenvolvidos e utilizados na área dentária, são geralmente apenas fármacos anti-inflamatórios, analgésicos e antibióticos. Não se desenvolveram, de uma forma geral, agentes terapêuticos eficazes que melhorem directamente os tecidos duros periodontais. A patente WO 99/60017 descreve a sequência de aminoácidos do elemento fosfatúrico excretado de tumores metastásicos (EFEM). Os péptidos derivados de EFEM que contêm tanto os elementos RGD como os SGDГ ou apenas a sequência RGD estão também explicitamente descritos naquele documento. Diz-se que o elemento de ligação à integrina (RGD) e a sequência de ligação ao glicosamino-glicano (SGDГ) regulam interacções importantes com o osso e a matriz dentária mineral e desempenham um papel importante na mineralização óssea. Sugere-se que a utilização dos péptidos referidos antes, que compreendem estes elementos, induz o crescimento dos ossos. Obviamente, há uma procura significativa de um agente terapêutico que promova a regeneração do osso alveolar e/ou dos dentes e aumente o número e a actividade dos odontoblastos/osteoblastos que ajudam a formar os tecidos dentários.

## RESUMO DA INVENÇÃO

A invenção tem por objecto produtos dentífricos incluindo pasta de dentes, colutórios, e fio dental, produtos esses que contêm um material de base e um composto que aumenta o crescimento dos ossos. O composto é um péptido escolhido nas SEQ ID NO: 44 e 46 que é útil no tratamento ou na prevenção de um estado clínico associado a perda óssea ou à fraqueza dos ossos. A sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 44 ou 46 contém um elemento de ligação da integrina que pode estar na conformação D (dextrógira) ou L (levógira). As unidades remanescentes do monômero (a sequência diferente do elemento de ligação da integrina) no composto são aminoácidos de ocorrência natural com uma sequência que é praticamente igual à sequência de aminoácidos contígua à sequência RGD na proteína da sequência ocorrência natural, a fosfoglicoproteína extracelular da matriz (Rowe et. al., Genomics (2000) 67:56-68).

Um dos aspectos da presente invenção é um péptido que consiste na SEQ ID NO: 44 ou 46.

Um outro aspecto da presente invenção consiste em providenciar pasta de dentes que compreende uma concentração suficiente de um composto da presente invenção para melhorar os dentes e/ou o crescimento dos ossos alveolares ossos em que ocorreu a deterioração.

Ainda um outro aspecto da presente invenção consiste em providenciar um colutório que compreende uma concentração suficiente de um composto da presente invenção para melhorar os dentes e/ou o crescimento dos ossos alveolares ossos em que ocorreu a deterioração.

Ainda um outro aspecto da presente invenção consiste num fio dental com um revestimento e/ou que está embebido num composto da presente invenção numa quantidade tal que a aplicação repetida aos dentes e/ou nos ossos alveolares resulta numa melhoria dos dentes e/ou no crescimento dos ossos alveolares em que ocorreu a deterioração.

Uma característica da presente invenção consiste no facto de um composto da presente invenção conter uma sequência de um elemento de ligação da integrina numa conformação D ou L.

Uma vantagem da presente invenção consiste no facto de um composto da presente invenção melhorar o crescimento do esqueleto.

Uma outra vantagem da presente invenção consiste no facto de um composto da presente invenção aumentar a quantidade de osteoblastos e possivelmente das células de odontoblastos na superfície esquelética de crescimento recente.

Um outro aspecto da presente invenção consiste em providenciar uma formulação para utilização terapêutica que contém uma concentração suficiente de um composto da presente invenção e que pode ser injectada na polpa dos dentes, o espaço entre a raiz dos dentes e a gengiva, ou nos ossos alveolares para prevenir os danos nos dentes e/ou nos ossos alveolares ou para regenerar o tecido duro nos dentes danificados e/ou os ossos alveolares. Um dos objectos da presente invenção consiste em providenciar uma composição para ser utilizada num processo de tratamento da perda óssea, por meio da administração/ aplicação de qualquer formulação/composição da presente invenção.

Estes e outros objectos, aspectos, características e vantagens tornar-se-ão evidentes para os especialistas na matéria depois de lerem a presente descrição.

#### BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A figura 1 representa um gráfico que mostra a relação entre a massa óssea e a idade em seres humanos.

A figura 2 é um desenho esquemático de uma matriz extracelular de fosfoglicoproteína em que a área designada por "A" inclui sequências que correspondem aos péptidos da presente invenção e a área designada por "B" é um elemento bastante homólogo em relação a um grupo de fosfoglicoproteínas da matriz dos ossos-dentes tal como osteopontina (OPN), sialofosfoproteína de dentina (SFFD), proteína 1 da matriz de dentina (PMD1), e sialoproteína II dos ossos (SPOII).

As figuras 3A, 3B, 3C, e 3D são fotografias actuais de secções transversais dos ossos (de um estudo de uma cultura de órgãos do escalpe de ratos com sete dias) que mostram os efeitos de um controlo (figura 3A), factor de crescimento do fibroblasto 1 (FCF-1) (figura 3B), e dois péptidos da presente invenção designados por D-00004 e D-00006 (figura 3C e 3D, respectivamente).

A figura 4 representa um gráfico que compara os efeitos de diferentes compostos no escalpe.

#### DESCRIÇÃO DETELHADA DOS ENQUADRAMENTOS PREFERIDOS

Antes de se descrever a pasta de dentes, os colu-tórios, os produtos de fio dental, os péptidos, as formula-ções, e as

utilizações da presente invenção, deve entender-se que a presente invenção não está limitada a nenhum dos enquadramentos particulares descritos, e como tal pode, obviamente, variar. Também se deve entender que a terminologia aqui utilizada tem apenas a finalidade de descrever enquadramentos, e não pretende limitar o âmbito da presente invenção que estará limitada apenas pelas reivindicações em anexo.

Quando se dá um intervalo de valores, entende-se que cada valor interveniente, até às décimas da unidade do limite inferior, a menos que o contexto claramente o dite doutra forma, entre os limites superior e inferior do intervalo, está também especificamente descrito. Cada intervalo mais pequeno entre qualquer valor estabelecido ou qualquer valor interveniente num dado intervalo e qualquer outro valor estabelecido ou interveniente está englobado na presente invenção. Os limites superiores ou inferiores destes intervalos mais pequenos podem, independentemente, estar incluídos ou excluídos do intervalo, e em cada intervalo em que qualquer um dos limites ou ambos estão incluídos em intervalos mais pequenos, estão também englobados na presente invenção, sujeitos a qualquer limite especificamente excluído no intervalo referido. Quando o intervalo estabelecido inclui um ou ambos os limites, os intervalos, excluindo um qualquer ou ambos os que incluem os limites, estão também englobados na presente invenção.

A menos que seja definido de outra forma, todos os termos técnicos e científicos aqui utilizados têm o mesmo significado que é normalmente entendido por um especialista na matéria a que esta invenção pertence. Embora se possa utilizar qualquer processo ou material similar ou equivalente aos descritos aqui, na prática ou nos ensaios da presente invenção, os processos e os materiais preferidos vão

agora ser descritos. Todas as publicações mencionadas aqui descrevem os processos e/ou os materiais em relação com as publicações aqui citadas.

Deve notar-se que, tal como se utilize aqui e nas reivindicações em anexo, as formas no singular "um, uma", e "o, a" incluem os referente plurais a menos que o contexto claramente o dite de outra forma. Assim, por exemplo, a referência a "um péptido" inclui uma pluralidade desses péptidos e a referência a "o processo" inclui a referência a um ou mais processos e equivalentes conhecidos pelos especialistas na matéria, etc.

As publicações discutidas aqui são indicadas apenas para a sua descrição antes da data de registo do presente pedido de patente de invenção. Nada aqui foi feito como uma admissão de que a presente invenção tenha sido autorizada antes da data dessa publicação em virtude de invenções anteriores. Além disso, as datas das publicações indicadas podem ser diferentes das datas da presente publicação que podem ter de ser confirmadas independentemente.

#### DEFINIÇÕES

A expressão "produto dentífrico" refere-se a todo e qualquer produto utilizado na boca. Preferencialmente o produto utilize-se numa base regular pelos consumidores tal como pasta de dentes, colutórios e fio dental. Contudo, o termo inclui produtos utilizados apenas por cirurgiões da boca e dentistas tal como implantes dentífricos e materiais utilizados para preencher as cavidades dentárias.

Os termos "tratar", "tratamento", e similares são utilizados aqui intermutavelmente e significam a obtenção de um

efeito farmacológico ou fisiológico desejado. O efeito pode ser profilático em termos de prevenir completamente ou parcialmente uma doença ou um seu sintoma e/ou pode ser uma terapêutica em termos da cura parcial ou completa de uma doença e/ou de um efeito adverso atribuído à doença tal como o aumento do efeito da vitamina D. "Tratamento" tal como se utiliza aqui cobre o tratamento de uma doença num vertebrado e particularmente num mamífero e mais particularmente num ser humano e inclui:

- (a) a prevenção de que a doença ocorra num indivíduo que pode ser predisposto para a doença mas a quem ainda essa doença não foi diagnosticada;
- (b) a inibição da doença, isto é, parando o seu desenvolvimento; ou
- (c) o alívio da doença, isto é, causando a regressão da doença.

A presente invenção tem por objecto, particularmente os péptidos aqui descritos que tornam possível tratar pacientes que tenham experimentado perda óssea ou que se espera que venham a ter uma perda óssea e assim tem particularmente por objecto a prevenção, a inibição ou o alívio dos efeitos da perda óssea. Um indivíduo é "tratado" desde que se submeta a experiências terapêuticas com efeitos detectáveis e benéficos que possam ser medidos com base numa variedade de critérios diferentes incluindo um aumento do crescimento ósseo, aumento da resistência dos ossos ou outras características que são entendidas, de uma forma geral pelos especialistas na matéria e que são desejáveis no que respeita ao tratamento de doenças relacionadas com os ossos.

O termo "anticorpo" significa uma proteína de imunoglobulina capaz de se ligar ao antigénio. O termo "anticor-



po" tal como se utilize aqui, entende-se como incluindo fragmentos de anticorpos (por exemplo,  $F(ab')_2$ ,  $Fab'$ , e  $Fab$ ) capazes de se ligar a um antígeno ou a um fragmento antigénico de interesse.

O termo "liga-se especificamente" significa uma elevada avidéz e/ou uma ligação de elevada afinidade de um anticorpo a um péptido específico - especificamente um péptido da presente invenção. A ligação do anticorpo ao seu epítopo alvo específico é mais forte do que a ligação do anticorpo a outros epítomos no péptido ou a outros epítomos noutros péptidos. Os anticorpos que se ligam especificamente a um péptido de interesse podem ser capazes de se ligar a outros péptidos a um nível fraco, mas ainda de-tectável (por exemplo 10 % ou menos do que a ligação exibida com o péptido de interesse). Essa ligação fraca ou ligação de fundo é facilmente discernível a partir da ligação do anticorpo específico ao péptido de interesse, por exemplo por meio da utilização dos controlos apropriados.

A expressão "perda óssea" refere-se a qualquer situação em que a massa óssea, substância ou matriz ou qualquer componente do esqueleto, tal como cálcio e fosfato, está diminuída ou os ossos estão enfraquecidos tal como em termos da sua capacidade para resistirem a partirem-se.

O termo "esqueleto" inclui tantos ossos como dentes. Da mesma maneira, o termo "esquelético" significa tantos ossos como dentes.

O termo "osteoporose" entende-se como referindo-se a qualquer estado clínico que envolva perda óssea, isto é, envolvendo uma redução na quantidade da massa óssea ou da substância, resultantes de qualquer causa. O termo resulta

particularmente numa perda óssea resultante da desmineralização dos ossos, diminuição dos estrogénios post menopausa ou peri-menopausa ou danificação dos nervos.

O termo "indivíduo" refere-se a qualquer vertebrado, particularmente qualquer mamífero e, mais particularmente, incluindo indivíduos humanos.

#### INVENÇÃO NO GERAL

No geral, a presente invenção compreende qualquer produto dentífrico que contenha um composto conforme aqui descrito, que aumenta o crescimento ósseo. O produto é preferencialmente uma pasta de dentes, um colutório ou um fio dental. O composto é um péptido escolhido das SEQ ID NO: 44 e 46. Os aminoácidos são um dos vinte L-aminoácidos de ocorrência natural. Contudo, os D-aminoácidos podem estar presentes assim como aminoácidos análogos. Uma sequência da presente invenção compreenderá um elemento de ligação da integrina tal como a sequência RGD quer na forma L ou D, mas preferencialmente na conformação L. O péptido da presente invenção pode ser amidado ou não-amidado na sua terminação C ou carboxilado ou não carboxilado na sua terminação N. O péptido da presente invenção contém um elemento de ligação de glicosaminoglicano tal como a sequência SGDG na forma de isómero L ou D. Um composto da presente invenção é ainda caracterizado pela actividade biológica, isto é, potencia o crescimento dos ossos assim como o crescimento ou o reforço dos osteoblastos ou das células de odontoblastos na superfície do esqueleto de crescimento recente.

## PRODUTOS DENTÍFRICOS ESPECÍFICOS

A presente invenção é amplamente aplicável a todos os tipos de produtos dentífricos e é particularmente útil no que respeita aos produtos utilizados pelos consumidores numa base regular tal como pasta de dentes, colutório e fio dental.

Exemplos específicos de pasta de dentes que podem ser modificados pelo facto de terem um composto da presente invenção dissolvido, suspenso ou misturado incluem as composições de pasta de dentes descritas nas patentes norte-americanas 6.045.780; 5.951.966; 5.932.193; 5.932.191; e 5.876.701. Estas patentes assim como as patentes e publicações citadas nessas patentes, têm por fim descrever várias composições de pastas de dentes que podem ser utilizadas de acordo com a presente invenção.

Os compostos da presente invenção podem também ser utilizados em combinação com todos os tipos de colutórios. Os vários compostos incluindo os péptidos específicos aqui descritos pode ser dissolvidos ou dispersos dentro de uma vasta gama de composições diferentes incluindo as composições de colutórios descritas nas patentes norte-americanas 5.993.785; 5.817.295; 5.723.106; 5.707.610; 5.549.885; 5.470.561; 5.466.437; 5.455.023; 5.407.664; 5.328.682; e 5.256.401 em conjunto com as patentes e as publicações aí citadas de modo a descrever as várias composições de colutórios úteis no âmbito da presente invenção.

Os compostos da presente invenção podem também ser revestidos ou absorvidos em vários tipos de materiais filamentosos utilizados como fios dentais. Exemplos específicos de fios dentais que podem ser utilizados em combinação com a presente invenção incluem os descritos nas

patentes norte-americanas 6.102.050; 6.080.481; 6.027.592; 6.026.829; 6.016.816; 5.967.155; 5.937.874; 5.915.392; 5.904.152; 5.875.797; e 5.845.652 em conjunto com as patentes e as publicações aí citadas de modo a descrever os vários materiais filamentosos de fios dentais que podem ser utilizados em combinação com a presente invenção.

#### PÉPTIDOS ESPECÍFICOS

Exemplos específicos de outros péptidos aqui descritos compreendem sete a quarenta e sete aminoácidos em cada um dos lados da sequência RGD da sequência de ocorrência natural da fosfoglicoproteína extracelular da matriz. Assim, exemplos destes péptidos compreendem sequências que se podem retirar da sequência que se segue e incluem a sequência RGD que se mostra a negrito:

**DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQERGDNDISPFSG**  
**DGQPFKDIPGKGEATGPDLEGKDIQTGFAGPSEAFSTHL** (SEQ ID NO: 1)

Exemplos específicos de péptidos que compreendem a sequência RGD como a sequência terminal incluem os seguintes:

AQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQERGD (SEQ ID NO: 2).  
**RGDAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 3)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDRGD (SEQ ID NO: 4)  
**RGDSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 5)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGRGD (SEQ ID NO: 6)  
**RGDTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 7)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSDFERGD (SEQ ID NO: 8)  
**RGDLKHL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 9)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKVKKIPSRGD (SEQ ID NO: 10)  
**RGDL SKVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 11)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKHL SKRGD (SEQ ID NO: 12)  
**RGDVKKIPSDFEGSGYTDLQE** (SEQ ID NO: 13)  
DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDYFLKRGD (SEQ ID NO: 14)

RGDIPSPFEGSGYTDLQE (SEQ ID NO: 15)  
 DSQAQKSPVKSKSTHRIQHNIDRGD (SEQ ID NO: 16)  
 RGDDFEGSGYTDLQE (SEQ ID NO: 17)  
 DSQAQKSPVKSKSTHRRGD (SEQ ID NO: 18)  
 RGDGSGYTDLQE (SEQ ID NO: 19)  
 DSQAQKSPVKRGD (SEQ ID NO: 20)  
 RGDGYTDLQE (SEQ ID NO: 21)  
 DSQAQKSRGD (SEQ ID NO: 22)  
 RGDNDISPFSGDGQPFKDIPGKGEATGPDLEGKDIQTGFA (SEQ ID NO: 23)

Exemplos específicos de péptidos que compreendem a sequência RGD internamente incluem os seguintes:

NDIRGDSPFSGDGQPFKDIPGKGEATGPDLEGKDIQTGFA (SEQ ID NO: 24)  
 NDISPFRGDSGSGDGQPFKDIPGKGEATGPDLEGKDI (SEQ ID NO: 25)  
 NDISPFSGDRGSGDGQPFKDIPGKGEATGPD (SEQ ID NO: 26)  
 FSGDGQPFKDIPGKGEATGPDLEGKDIQTGFAGPSEAESRGDTHL (SEQ ID NO: 27)  
 IPGKGEATGPDLEGKDIQTGFAGPSERGDAESTHL (SEQ ID NO: 28)  
 EATGPDLEGKDIQTGFAGRGDPSEAESTHL (SEQ ID NO: 29)  
 NDISPFSGSGDGQPFKDRGDIPGKGEATGPDLEGK (SEQ ID NO: 30)  
 GKGEATGPDLEGKDIRGDDQTGFAGPSEAESTHL (SEQ ID NO: 31)  
 FSGDGQPFKDIPGKGEATGRGDPDLEGKDIQTGFAGPSEA (SEQ ID NO: 32)  
 DGQPFKDIPGKGEATGRGDPDLEGKDIQTGF (SEQ ID NO: 33)  
 PFKDIPGKGEATGRGDPDLEGKDIQ (SEQ ID NO: 34)  
 DIPGKGEATGRGDPDLEGKDIQTGFAGP (SEQ ID NO: 35)  
 DGQPFKDIPGKGEATGRGDPDLEGKDIQTGF (SEQ ID NO: 36)  
 GKGEATGRGDPDLEGKDIQTGFAGPSEA (SEQ ID NO: 37)  
 EATGRGDPDLEGKDIQTGF (SEQ ID NO: 38)  
 EATGRGDPDLEGK (SEQ ID NO: 39)  
 EATGRGDPDL (SER ID NO: 40)

Todos ou qualquer um dos aminoácidos nas sequências anteriores pode estar na conformação D ou L e podem ser substituídos por análogos equivalentes. Preferencialmente, as sequências anteriores compreendem aminoácidos de ocorrência natural na conformação L.

Todas ou qualquer uma das sequências anteriores podem ser amidadas ou não amidadas na sua terminação C ou carboxiladas ou não-carboxiladas na sua terminação N.

A fosfoglicoproteína extracelular da matriz foi clonada e caracterizada a partir de um tumor humano que causou osteomalácia nos pacientes. Este tipo de tumor extremamente raro designado por tumor oncogénico de osteomalácia hipofosfatémico (OOH) tem sido conhecido por causar perda do fosfato renal, hipofosfatomia (níveis baixos de fosfato no soro), nível baixo de calcitriol no soro (1,25-vitamina D3) e anomalias na mineralização do esqueleto (osteomalácia). Nos pacientes com um tumor OOH, a ressecção dos tumores resulta na remissão de todos os sintomas anteriores e tem sido proposto que um factor fosfatúrico em circulação, segregado pelo tumor OOH, desempenha um papel na osteomalácia. A fosfoglicoproteína extracelular da matriz foi proposta como uma candidata desta fosfoglicoproteína do factor fosfatúrico (Rowe et. al., Genomics (2000) 67: 56-68).

O fosfato desempenha um papel central em muitos dos processos básicos essenciais para a célula e a mineralização do esqueleto. Em particular, a mineralização do esqueleto está dependente da regulação do fosfato e do cálcio no corpo e quaisquer distúrbios na homeostase do fosfato-cálcio podem ter repercussões severas na integridade dos ossos. Nos rins, o fosfato perde-se passivamente no filtrado glomerular e é reabsorvido activamente por via do co-transportador do fosfato dependente do sódio ( $\text{Na}^+$ ). No intestino, o fosfato é absorvido a partir dos alimentos. Encontrou-se um co-transportador do fosfato dependente do sódio ( $\text{Na}^+$ ) expresso no intestino e foi recentemente clonado (Hilfiker, PNAS 95 (24) (1998), 14564-14569). O fígado, a pele e os rins estão envolvidos na conversão da vitamina D3 no seu metabolito activo,

calcitriol, que desempenha um papel activo na manutenção do equilíbrio do fosfato e na mineralização do esqueleto.

A deficiência de vitamina D causa raquitismo nas crianças e osteomalácia em adultos. Ambos os estados clínicos são caracterizados por insuficiência da calcificação dos osteóides, que são a matriz do esqueleto.

Assim, todas as funções humorais mediadas pela fosfoglicoproteína extracelular da matriz, nomeadamente, a perda do fosfato renal, a hipofosfatomia (níveis baixos de fosfato no soro), o calcitriol baixo no soro (1,25-vitamina D3), são prejudiciais para uma formação saudável do esqueleto.

A fosfoglicoproteína extracelular da matriz é um grande polipéptido com 525 aminoácidos com uma sequência de sinal do terminal N. Por isso, é altamente provável que esta molécula seja segregada a partir das células que a produz no fluido do corpo e na circulação. Dos 525 aminoácidos da sequência, 23 elementos aminoácidos na terminação C mostraram elevadas semelhanças com um grupo de fosfoglicoproteínas de matriz mineral dos ossos-dentes tal como osteopontina (OPN), sialofosfoproteína de dentina (DSPP), proteína da matriz de dentina 1 (PMD1), e sialo-proteína II do osso (SPOII). Tem sido sugerido que estas fosfoproteínas da matriz mineral dos ossos-dentes podem desempenhar papéis importantes na mineralização do esqueleto.

Apesar das observações anteriores acerca da fosfoglicoproteína extracelular da matriz, a sequência de péptidos mais pequenos contendo o elemento de ligação da interina que está localizada dentro da sequência de aminoácidos e longe da sua sequência de terminal C com um elevado grau de semelhança

com outras fosfoglicoproteína da matriz mineral dos ossos-dentes, demonstraram uma actividade muito potente de formação do esqueleto e um aumento do número de osteoblastos nessa superfície de formação do esqueleto. A potência dessas actividades foi equivalente ao factor de crescimento do fibroblasto (FCF). Foi surpreendente verificar que esses pequenos elementos dentro de uma grande proteína, proteína que tem uma função destrutiva no esqueleto, demonstraram uma potente actividade de formação dos ossos e que esses pequenos elementos estavam localizados longe das sequências que exibiam homologia com outras proteínas conhecidas da matriz dos ossos-dentes.

Outro facto surpreendente foi verificar que elementos potentes de formação do esqueleto continham um elemento de ligação da integrina, em particular, a sequência RGD. Já tinha sido relatado que um péptido sintético que continha a sequência RGD inibia a formação dos ossos e a reabsorção num sistema de cultura de órgãos de mineralização do esqueleto fetal de ratos (Gronowicz et. al. Journal of Bone and Mineral Research 9 (2): 193-201 (1994)), que é um processo experimental muito semelhante ao utilizado para ensaiar o tema da presente invenção.

Além disso, a actividade de formação do esqueleto providenciada pelos péptidos pequenos da presente invenção foi tão potente quanto a de um factor intacto de crescimento tal como o FCF.

#### EXEMPLOS

Os exemplos que se seguem são dados para fornecer aos especialistas na matéria uma descrição completa de como realizar e utilizar a presente invenção, e não pretendem



indicar que essas experiências dadas a seguir são as únicas experiências realizáveis. Têm-se feito esforços para assegurar a precisão no que respeita aos números utilizados (por exemplo, quantidades, temperatura, etc.), mas devem ter-se em conta alguns erros e desvios experimentais. A menos que seja indicado de outra forma, partes são partes em peso, peso molecular é o peso molecular médio do peso, a temperatura está em graus centígrados e a pressão é próxima da pressão atmosférica.

#### EXEMPLO 1

##### Síntese de D-00001, etc.

Sintetizaram-se manualmente seis péptidos diferentes por meio de uma estratégia com 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc) e preparado sob a forma de uma amida de terminal. Os seis péptidos são como se segue:

D-00001:	IPSDFEGSGYTDLQE (SEQ ID NO: 41)
D-00002:	DFEGSGYTDLQERGD (SEQ ID NO: 42)
D-00003:	YTDLQERGDNDISPF (SEQ ID NO: 43)
D-00004:	ERGDNDISPFSGDGQ (SEQ ID NO: 44)
D-00005:	NDISPFSGDGQPFKD (SEQ ID NO: 45)
D-00006:	TDLQERGDNDISPFSGDGQPFKD (SEQ ID NO: 46)

(terminação C amidada)

Compraram-se derivados de aminoácidos e resinas na Sachem, Inc., Torrance, CA., e na Novabiochem, La Jolla, CA. Condensaram-se os respectivos aminoácidos manualmente, por etapas, utilizando a resina de 4-(2',4'-dimetoxifenil-Fmoc-aminometil)-fenoxi. Utilizou-se durante a síntese, co-mo dissolvente, N-metil pirrolidona. Para a condensação, utilizou-se di-isopropilcarbodi-imida/N-hidroxibenzotriazole,

e para a desprotecção dos grupos Na-Fmoc, piperidina a 20 % em N-metil-pirrolidona. Utilizaram-se os seguintes grupos de protecção da cadeia lateral: Asn e Gln, tritilo; Asp, Glu, Ser, e Tre, t-butilo; Arg, 2,2,5,7,8-pentame-tilcroman-6-sulfonilo; e Lis, t-butoxicarbonilo. As resinas se péptido protegidas resultantes foram desprotegidas e clivadas da resina utilizando ácido trifluoroacético-tioanisole-*m*-cresol-etanoditiol-H<sub>2</sub>O (80:5:5:5:5, v/v) a 20 °C durante 2 h. Os péptidos impuros resultantes precipi-taram e lavaram-se com éter de etilo e depois purificaram-se por cromatografia líquida de alta resolução de fase inversa e um gradiente de água/ acetonitrilo contendo ácido trifluoroacético a 0,1 %). Obtiveram-se todos os péptidos com um rendimento de 5-20% (a partir da resina inicial). A pureza dos péptidos foi confirmada por cromatografia líquida de elevada resolução analítica. A identidade dos péptidos foi confirmada por meio de um espectrómetro de massa de pulverização iónica triplo quadruplo Sciex API IIIIE

## EXEMPLO 2

### Ensaio no calvária (escalpe) de rato fetal

#### *Reagentes*

Comprou-se FCF-1 na Peprotech Inc. (Rocky Hill, NJ). RGD-1, 2, 3, 4, 5 e 6 (referidos aqui por D-00001, D-00002, D-00003, D-00004, D-00005 e D-00006) que foram fornecidos pelo Dr. Nomizu (Universidade de Hokkaido, Japão).

#### *Ratos*

Os ratos-fêmeas grávidas foram comprados na SLC Japan Co. Ltd. (Shizuoka, Japão).

## *Cultura de órgão da calvária (revestimento externo do crânio) de rato*

A cultura de órgão da calvária de rato foi realizada conforme descrito em Mundy G et al. Science 286: 1946-1949, 1999 e Traianedes K et al. Endocrinology 139: 3178-3184, 1998. Excisou-se a calvária de ratos com 4 dias de idade e cortou-se ao meio ao longo da sutura sagitária. Colocou-se cada metade da calvária numa rede de aço inoxidável num prato de cultura de tecidos com 12 cavidades (Asahi Glass Techno Corp., Funabashi, Japão). Cada cavidade continha 1,5 ml de meio BGJ (Sigma, St. Louis, MO) complementado com albumina de soro bovino a 0,1 % (Sigma) e cada um dos compostos. Utilizou-se FCF-1 como um controlo positivo tal como descrito por Mundy et al. Mudou-se o meio nos dias 1 e 4, e o ensaio terminou no dia 7.

## *Análise histomorfométrica*

Fixou-se a calvária com formalina tamponada até estar neutra, a 10 %, descalcificou-se com EDTA a 4,13 % e embebeu-se em parafina. Fizeram-se secções de 4 mm de espessura hematoxilina e eosina. Mediu-se a nova área óssea utilizando Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

Analísaram-se os seis péptidos do exemplo 1 quanto à sua capacidade para potenciar o crescimento dos ossos, tendo-se realizado os ensaios tal como se descreveu no exemplo 2. Os péptidos que não incluíam a sequência RGD não deram resultados positivos. Os outros quatro péptidos deram resultados positivos, sendo obtidos os melhores resultados com as sequências

D-00004: ERGDNDISPFSGDGQ, (SEQ ID NO: 44) e

D-00006: TDLQERGDNDISPFSGDGQPFKD (SEQ ID NO: 46)

Os melhores resultados estão na figura 3 (especificamente na figura 3C e na 3D). Os dados destes resultados estão ilustrados graficamente nas figuras 4.

#### LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

<110> Yoneda, Toshiyuki

Nomizu, Motoyoshi

Kumagai, Yoshinari

<120> Produtos dentífricos contendo péptidos que potenciam o crescimento dos ossos

<130> BEAR-007WO

<140> Disponível

<141>

<150> US 60/225.897

<151> 2000-08-16

<160> 46

<170> FastSEQ para Windows Versão 4.0

<210> 1

<211> 97

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 1

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis
			20					25					30		
Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu	Arg
	35						40					45			
Gli	Asp	Asn	Asp	Ile	Ser	Pro	Fen	Ser	Gli	Asp	Gli	Gln	Pro	Fen	Lis
	50					55					60				
Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis
65				70					75					80	
Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	Ala	Gli	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ser	Tre	His
				85				90						95	

Leu

<210> 2

<211> 47

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 2

Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg	Ile	Gln	His
1				5					10					15	
Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis	Ile	Pro	Ser
			20					25					30		
Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu	Arg	Gli	Asp	
	35						40					45			

<210> 3

<211> 47

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 3

Arg	Gln	Asp	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis
			20					25					30		
Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu	
			35				40					45			

<210> 4

<211> 47

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 4

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis
			20					25					30		
Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Arg	Gln	Asp	
			35				40					45			

<210> 5

<211> 44

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 5

Arg	Gli	Asp	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg	Ile	Gln	His
1				5					10					15	
Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis	Ile	Pro	Ser
			20					25					30		
Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu				
			35				40								

<210> 6

<211> 44

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 6

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis
			20				25						30		
Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Arg	Gli	Asp				
			35				40								

<210> 7

<211> 37

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 7

Arg	Gli	Asp	Tre	His	Arg	Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His
1				5					10					15	
Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis	Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir
			20					25					30		
Tre	Asp	Leu	Gln	Glu											
			35												

<210> 8

<211> 41

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 8

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis
			20					25					30		
Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Arg	Gli	Asp							
			35				40								

<210> 9

<211> 27

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 9

Arg	Gli	Asp	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Val	Lis	Lis	Ile	Pro	Ser	Asp
1				5					10					15	



Fen Glu Gli Ser Gli Tir Tre Asp Leu Gln Glu

20

25

<210> 10

<211> 38

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 10

Asp Ser Gln Ala Gln Lis Ser Pro Val Lis Ser Lis Ser Tre His Arg

1

5

10

15

Ile Gln His Asn Ile Asp Tir Leu Lis His Leu Ser Lis Val Lis Lis

20

25

30

Ile Pro Ser Arg Gli Asp

35

<210> 11

<211> 24

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 11

Arg Gli Asp Leu Ser Lis Val Lis Lis Ile Pro Ser Asp Fen Glu Gli

1

5

10

15

Ser Gli Tir Tre Asp Leu Gln Glu

20

<210> 12

<211> 32

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 12

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	His	Leu	Ser	Lis	Arg	Gli	Asp
			20				25						30		

<210> 13

<211> 21

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 13

Arg	Gli	Asp	Val	Lis	Lis	Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir
1				5					10					15	
Tre	Asp	Leu	Gln	Glu											
			20												

<210> 14

<211> 28

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 14

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	
Ile	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Tir	Leu	Lis	Arg	Gli	Asp				
				20					25						

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 15

Arg	Gli	Asp	Ile	Pro	Ser	Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu
1				5					10					15	
Gln	Glu														

<210> 16

<211> 25

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 16

Asp	Ser	Gln	Ala	Gln	Lis	Ser	Pro	Val	Lis	Ser	Lis	Ser	Tre	His	Arg
1				5					10					15	

Ile Gln His Asn Ile Asp Arg Gli Asp

20

25

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 17

Arg Gli Asp Asp Fen Glu Gli Ser Gli Tir Tre Asp Leu Gln Glu

1

5

10

15

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 18

Asp Ser Gln Ala Gln Lis Ser Pro Val Lis Ser Lis Ser Tre His Arg

1

5

10

15

Arg Gli Asp

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 19

Arg Gln Asp Gln Ser Gln Thr Tre Asp Leu Gln Glu

1

5

10

<210> 20

<211> 13

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 20

Asp Ser Gln Ala Gln Lis Ser Pro Val Lis Arg Gln Asp

1

5

10

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 21

Arg Gln Asp Gln Thr Tre Asp Leu Gln Glu

1

5

10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 22

Asp Ser Gln Ala Gln Lis Ser Arg Gli Asp

1

5

10

<210> 23

<211> 40

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 23

Arg Gli Asp Asn Asp Ile Ser Pro Fen Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen

1

5

10

15

Lis Asp Ile Pro Gli Lis Gli Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli

20

25

30

Lis Asp Ile Gin Tre Gli Fen Ala

35

40

<210> 24

<211> 40

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 24

```
Asn Asp Ile Arg Gli Asp Ser Pro Fen Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen
 1           5           10           15
Lis Asp Ile Pro Gli Lis Gli Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli
           20           25           30
Lis Asp Ile Gln Tre Gli Fen Ala
           35           40
```

<210> 25

<211> 35

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 25

```
Asn Asp Ile Ser Pro Fen Arg Gli Asp Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen
 1           5           10           15
Lis Asp Ile Pro Gli Lis Gli Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli
           20           25           30
Lis Asp Ile
           35
```

<210> 26

<211> 30

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 26

Asn	Asp	Ile	Ser	Pro	Fen	Ser	Gli	Asp	Arg	Gli	Asp	Gli	Gln	Pro	Fen
1				5				10					15		
Lis	Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Pro	Asp	Leu		
			20				25					30			

<210> 27

<211> 45

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 27

Fen	Ser	Gli	Asp	Gli	Gln	Pro	Fen	Lis	Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu
1				5				10				15			
Ala	Tre	Gli	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis	Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	Ala
			20				25					30			
Gli	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ser	Arg	Gli	Asp	Tre	His	Leu			
		35				40					45				

<210> 28

<211> 35

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 28

Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis	Asp
1				5				10				15			
Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	Ala	Gli	Pro	Ser	Glu	Arg	Gli	Asp	Ala	Glu	Ser
			20				25					30			



Tre His Leu

35

<210> 29

<211> 30

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 29

Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli Lis Asp Ile Gln Tre Gli Fen

1 5 10 15

Ala Gli Arg Gli Asp Pro Ser Glu Ala Glu Ser Tre His Leu

20 25 30

<210> 30

<211> 33

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 30

Asn Asp Ile Ser Pro Fen Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen Lis Asp Arg

1 5 10 15

Gli Asp Ile Pro Gli Lis Gli Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli

20 25 30

Lis

<210> 31

<211> 33  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial

<220>  
<223> péptido do produto dentífrico

<400> 31

Gli Lis Gli Glu Ala Tre Gli Pro Asp Leu Glu Gli Lis Asp Ile Arg  
1 5 10 15  
Gli Asp Gln Tre Gli Fen Ala Gli Pro Ser Glu Ala Glu Ser Tre His  
20 25 30  
Leu

<210> 32  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial

<220>  
<223> péptido do produto dentífrico

<400> 32

Fen Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen Lis Asp Ile Pro Gli Lis Gli Glu  
1 5 10 15  
Ala Tre Gli Arg Gli Asp Pro Asp Leu Glu Gli Lis Asp Ile Gln Tre  
20 25 30  
Gli Fen Ala Gli Pro Ser Glu Ala  
35 40

<210> 33  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 33

Asp	Gli	Gln	Pro	Fen	Lis	Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli
1				5					10					15	
Arg	Gli	Asp	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis	Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	
				20				25						30	

<210> 34

<211> 25

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 34

Pro	Fen	Lis	Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Arg	Gli	Asp
1				5					10					15	
Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis	Asp	Ile	Gln							
				20				25							

<210> 35

<211> 28

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 35

Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Arg	Gli	Asp	Pro	Asp	Leu
1				5					10					15	
Glu	Gli	Lis	Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	Ala	Gli	Pro				
				20				25							

<210> 36

<211> 31

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 36

Asp	Gli	Gln	Pro	Fen	Lis	Asp	Ile	Pro	Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli
1				5					10					15	
Arg	Gli	Asp	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis	Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	
				20				25					30		

<210> 37

<211> 28

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 37

Gli	Lis	Gli	Glu	Ala	Tre	Gli	Arg	Gli	Asp	Pro	Asp	Leu	Glu	Gli	Lis
1				5					10				15		
Asp	Ile	Gln	Tre	Gli	Fen	Ala	Gli	Pro	Ser	Glu	Ala				
				20				25							

<210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 38

Glu Ala Tre Gli Arg Gli Asp Pro Asp Leu Glu Gli Lis Asp Ile Gln  
1                      5                      10                      15  
Tre Gli Fen

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 39

Glu Ala Tre Gli Arg Gli Asp Pro Asp Leu Glu Gli Lis  
1                      5                      10

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> péptido do produto dentífrico

<400> 40

Glu Ala Tre Gli Arg Gli Asp Pro Asp Leu

1

5

10

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> D-00001

<221> AMIDAÇÃO

<222> 15

<400> 41

Ile Pro Ser Asp Fen Glu Gli Ser Gli Tir Tre Asp Leu Gln Glu

1

5

10

15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> D-00002

<221> AMIDAÇÃO

<222> 15

<400> 42

Asp	Fen	Glu	Gli	Ser	Gli	Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu	Arg	Gli	Asp
1				5					10					15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> D-00003

<221> AMIDAÇÃO

<222> 15

<400> 43

Tir	Tre	Asp	Leu	Gln	Glu	Arg	Gli	Asp	Asn	Asp	Ile	Ser	Pro	Fen
1				5					10					15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> D-00004

<221> AMIDAÇÃO

<222> 15

<400> 44

Glu	Arg	Gli	Asp	Asn	Asp	Ile	Ser	Pro	Fen	Ser	Gli	Asp	Gli	Gln
1				5					10					15

<210> 45  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial

<220>  
<223> D-00005

<221> AMIDAÇÃO  
<222> 15

<400> 45  
Asn Asp Ile Ser Pro Fen Ser Gli Asp Gli Gln Pro Fen Lis Asp  
1 5 10 15

<210> 46  
<211> 23  
<212> PRT  
<213> Sequência artificial

<220>  
<223> D-00006

<221> AMIDAÇÃO  
<222> 23

<400> 46  
Tre Asp Leu Gln Glu Arg Gli Asp Asn Asp Ile Ser Pro Fen Ser Gli  
1 5 10 15  
Asp Gli Gln Pro Fen Lis Asp  
20

Lisboa, 10 de Outubro de 2008



## REIVINDICAÇÕES

1. Produto dentífrico caracterizado pelo facto de compreender
  - (a) um material de base; e
  - (b) um composto de péptido escolhido entre:  
ERGDNDISPFSGDGQ (SEQ ID NO: 44); e  
TDLQERGDNDISPFSGDGQPFKD (SEQ ID NO: 46).
2. Produto dentífrico de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de compreender a sequência TDLQERGDNDISPFSGDGQPFKD (SEQ ID NO: 46).
3. Produto dentífrico de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo facto de o material de base ser uma pasta e o produto dentífrico ser formulado como uma pasta de dentes.
4. Produto dentífrico de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo facto de o material de base ser uma pasta de uma pasta de dentes, um líquido de um culo-tório ou uma fibra de um fio dental.
5. Produto dentífrico de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo facto de o material de base ser uma solução aquosa aromatizada e o produto dentífrico ser formulado como um culotório.
6. Péptido caracterizado pelo facto de consistir na sequência de aminoácidos ilustrada na SEQ ID NO: 44 ou na SEQ ID NO: 46.
7. Utilização de um péptido de acordo com a reivindicação 6 caracterizada pelo facto de se destinar à preparação de

uma composição farmacêutica para o tratamento da perda  
óssea.

Lisboa, 10 de Outubro de 2008

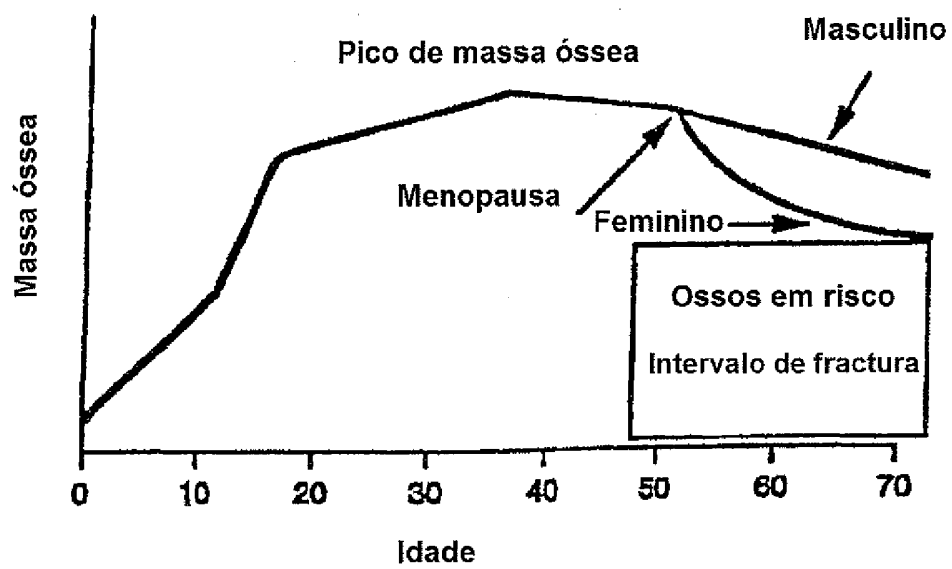
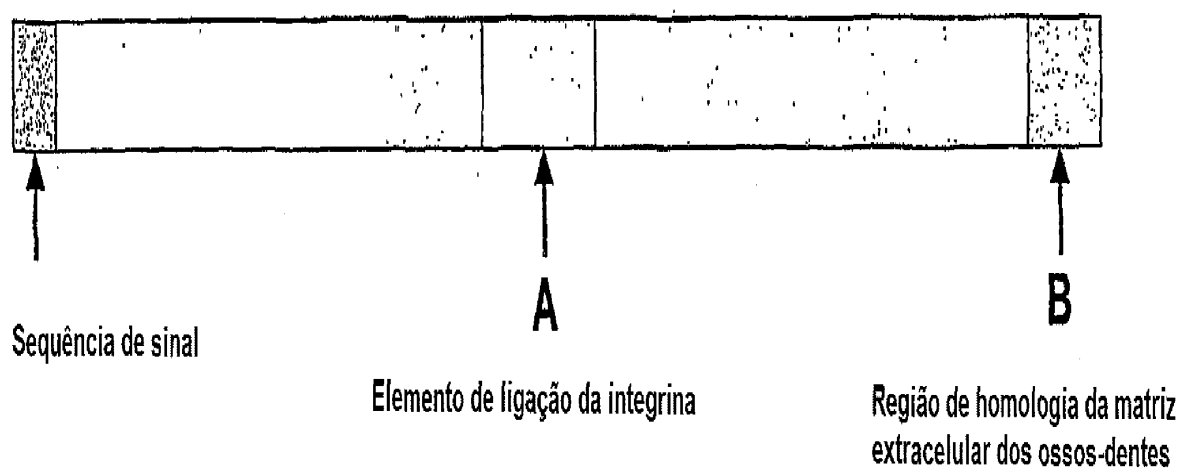


Fig. 1



**Figura 2. Estrutura da matriz extracelular**

**Fosfoglicoproteína**

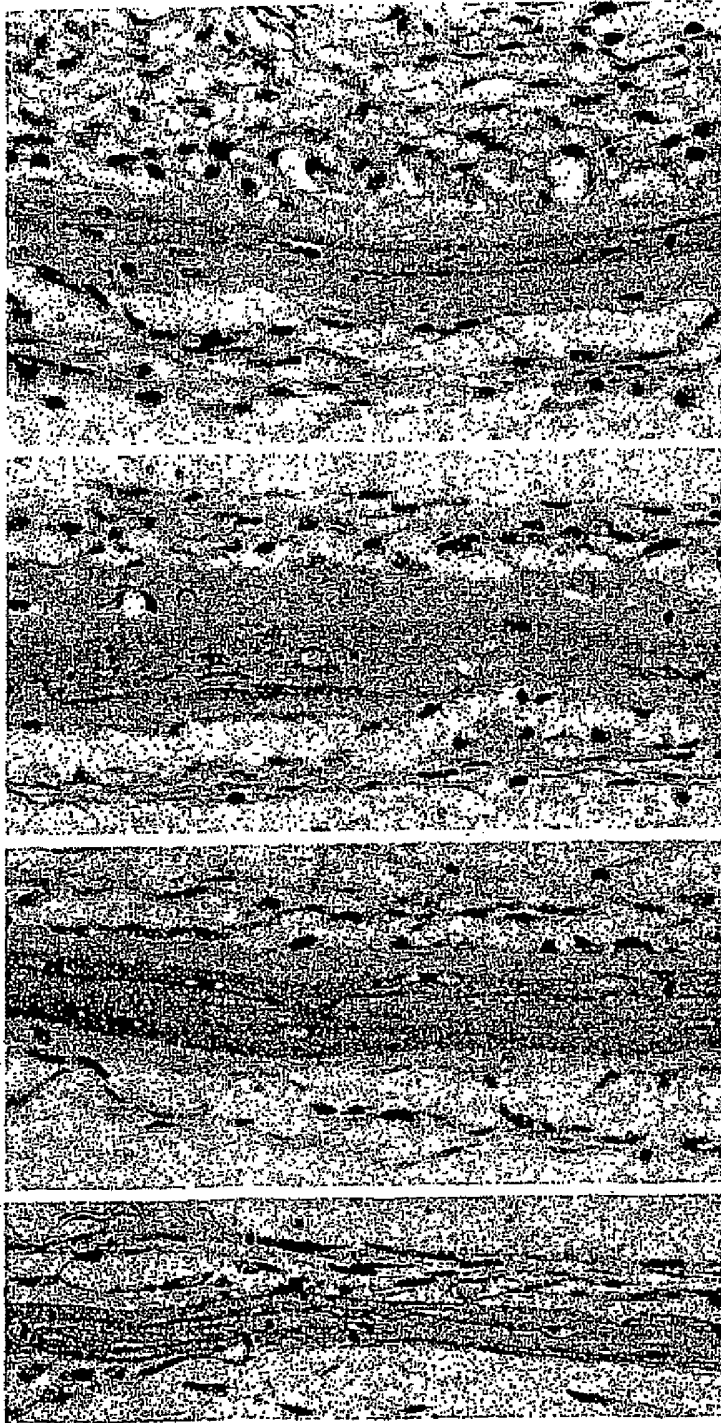


FIG. 3A CONTROL  
FIG. 3B FGF-1  
FIG. 3C D-00004  
FIG. 3D D-00006

Figura 3. Formação óssea e aumento dos osteoblastos

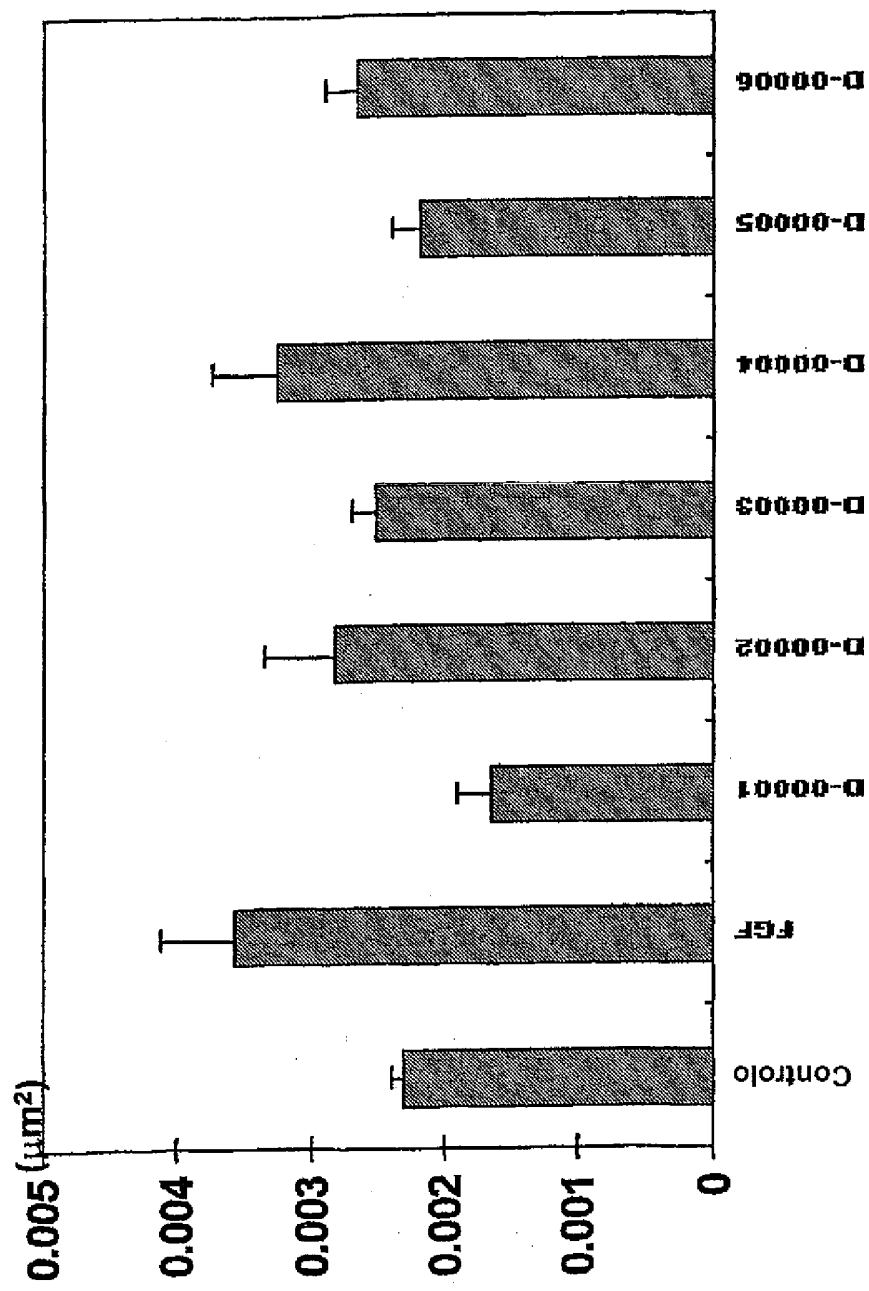


Figura 4. Nova área óssea no ensaio do crânio de rato