

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 38/48

A61K 38/47

B65D 81/32

A61P 1/02

/(A61K38/48,38:47)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03819472.4

[43] 公开日 2005 年 9 月 28 日

[11] 公开号 CN 1674930A

[22] 申请日 2003.5.16 [21] 申请号 03819472.4

[30] 优先权

[32] 2002.8.15 [33] DE [31] 10237317.5

[86] 国际申请 PCT/EP2003/005183 2003.5.16

[87] 国际公布 WO2004/017988 英 2004.3.4

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.16

[71] 申请人 3M 埃斯佩股份公司

地址 德国塞费尔德

[72] 发明人 I·哈伯莱恩 R·古根伯格

W·维恩曼 O·卡普勒

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 周承泽

权利要求书 3 页 说明书 26 页 按照条约第 19 条的修改 3 页

[54] 发明名称 包含组合物的酶,所述组合物的生产工艺及其用途

[57] 摘要

本发明涉及一种组合物,它包含至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶,其中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1-1:1000000,其中组合物的总酶活性至少 2U/ml。本发明还涉及制备这种含酶组合物的方法和除龋的方法。此外,本发明还涉及一种或多种包含组合物的酶的用途,用于制备除龋处理剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种组合物，它包含至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶，其中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1—1:1000000，其中总酶活性至少 2U/ml。
2. 权利要求 1 所述组合物，其特征在于所述组合物包含作为蛋白酶的至少一种蛋白酶 K、胶原酶或链酶蛋白酶或以上两种或多种酶的混合物。
3. 权利要求 1 或 2 所述组合物，其特征在于所述组合物包含作为糖苷酶的至少一种溶菌酶型、 α -淀粉酶型或葡聚糖酶型的糖苷酶，或以上两种或多种酶的混合物。
4. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少两种类型的蛋白酶和至少一种类型的糖苷酶。
5. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含蛋白酶 K、胶原酶、溶菌酶和葡聚糖酶。
6. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种溶剂。
7. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种极性溶剂。
8. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种缓冲液。
9. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种磷酸盐缓冲液。
10. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种辅剂，它们选自以下辅剂中的一种或多种：
- i. 络合剂
 - ii. 酶底物
 - iii. 酶效应物
 - iv. 增稠剂
 - v. 防腐剂
 - vi. 稳定剂。
11. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述至少一种酶在 pH 值范

围为 1—10 之间具有酶活性。

12. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述至少一种酶在 pH 值范围为 5—8 之间具有酶活性。

13. 制备权利要求 1—12 中任一项所述组合物的方法，其特征在于混合至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶，所述组合物中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1—1:1000000，总酶活性至少 2U/ml。

14. 包含至少两种酶的试剂盒，其特征在于所述酶可溶混，得到权利要求 1—12 中任一项所述组合物。

15. 权利要求 14 所述试剂盒，其特征在于所述试剂盒包含独立的溶剂。

16. 包含至少一种权利要求 1—12 中任一项所述组合物和至少一种处理溶液的试剂盒，其特征在于，所述处理溶液包含至少一种蛋白酶，该蛋白酶在酸性 pH 值低于 4 时具有最佳蛋白酶解催化作用的蛋白酶。

17. 权利要求 1—12 中任一项所述组合物的用途，用于制备除龋的治疗试剂。

18. pH 值为 4.0 或更低的组合物，它包含水、酸、胃蛋白酶和流变添加剂，其中胃蛋白酶的浓度为 1—50000U/mg，组合物的粘度为 10—1000mPas。

19. 权利要求 18 所述组合物，其特征在于它还包含聚醚或两性表面活性剂，或聚醚和两性表面活性剂的混合物。

20. 权利要求 18 或 19 所述组合物，其特征在于所述组合物包含抑制剂。

21. 包含组分 A 和 B 的组合物，其中

a) 组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值；

b) 组分 B 包含水、酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值。

22. 权利要求 21 所述组合物，其特征在于组分 A 包含的胃蛋白酶的活性小于 50000U/ml。

23. 权利要求 21 或 22 所述组合物，其特征在于组分 A 包含小于 20mg 胃蛋白酶/ml。

24. 权利要求 21—23 任一项所述组合物，其特征在于组分 A 包含磷酸盐缓冲液的 pH 值为 5—6。

25. 权利要求 21—24 任一项所述组合物，其特征在于组分 B 包含磷酸的 pH

值为 1.5—4.0。

26. 权利要求 21—25 任一项所述组合物，其特征在于组分 A 包含作为增稠剂的多糖。

27. 权利要求 21—26 任一项所述组合物，其特征在于组分 B 包含聚乙二醇或甜菜碱，或二者。

28. 权利要求 21—27 任一项所述组合物，其特征在于组分 B 包含流变添加剂。

29. 酶的用途，其特征在于所述酶在 pH 值低于 7 时具有蛋白酶解活性，由此可制备除垢的处理剂。

30. 权利要求 29 所述用途，其特征在于酶在 pH 值最多为 4 时具有最佳催化作用。

31. 权利要求 29 或 30 所述用途，其特征在于所述酶是胃蛋白酶。

32. 糖苷酶在制备除垢处理剂中的用途。

33. 储存和分发液体的多室器具，其特征在于至少有一个室包含组分 A，至少有一个室包含组分 B，其中组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、流变添加剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值。

包含组合物的酶，所述组合物的生产工艺及其用途

5 发明领域

本发明涉及一种组合物，该组合物包含至少一种生物活性蛋白酶，或者至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶，其中蛋白酶和糖苷酶以活性比为 1000000U:1U—1U:1000000U 存在。此外，本发明涉及生产这种包含组合物的酶的工艺和除龋齿的工艺。本发明还涉及使用包含组合物的酶生产除龋

10 的处理剂。

发明背景

龋齿也称牙齿腐烂，它是人类最常见的疾病之一。龋齿是牙齿受到细菌损害引起的，它甚至会使牙齿脱落。牙齿在外部受到包裹着柔软牙质的硬釉质的

15 覆盖所保护，柔软牙质又围住所谓的牙髓。釉质本身由约 95%的无机化合物，特别是羟磷灰石和约 5%的有机化合物和水组成。牙质比釉质软，由约 65%的无机化合物（主要是羟磷灰石）、约 20%的有机化合物（主要是胶原和多糖）和约 15%的水。

龋齿病通常起因于齿菌斑形成和由齿菌斑发展的牙垢。齿菌斑是牙齿上的

20 浅白色膜，主要由细菌、蛋白质和多糖组成，其含量使得它难以抹去。术语“齿菌斑”是指牙齿表面上存在的所有微生物及其有机基质。龋齿和牙垢可由齿菌斑发展而来，后者对齿龈损害很大，由钙化齿菌斑构成。即使仔细刷牙，牙垢也不能从牙齿表面清除。

龋齿分几步由碳水化合物，特别是糖经细菌发酵成酸而形成。由所述细菌

25 发酵产生的酸首先溶解坚硬的釉质，而细菌主要侵袭有机组分，如残留在牙齿上的食物颗粒。

如果釉质受细菌引起的酸的影响而穿孔、变软，细菌可到达牙垢下面的牙质层，使它受到感染变成龋齿。龋齿病常常使牙质下面的牙髓发炎。牙髓发炎极其疼痛，如果不迅速治疗，可对患者的健康造成严重威胁。

30 釉质或釉质和牙质溶解最多的区域称作龋损害区。龋损害区通常由多种不同的化合物构成，部分为细菌源，部分来自唾液和食物颗粒。

与其他活体组织的损害相反，由龋齿引起的牙齿损害无法通过内源途径修复。只有在龋齿早期，才有可能通过使牙齿的坚硬物质的补充矿质来治愈。在龋齿后期，则需要通过去除被龋损害的牙齿区域来进行治疗。由去除受龋齿影响的牙齿组织产生的空隙称为龋洞。受龋齿影响的牙齿组织去除后，通常可在龋洞内一定尺寸范围内向上填充人造填料。

对受龋损害的牙齿一般用牙钻钻掉龋齿组织而除去。根据指征和技术，钻速可达 40000rpm。所用齿钻是硬金属或金刚石仪器。由于钻的过程会释放大量的热，且除去的牙齿物质会污染治疗的部位，通常需要水和空气的混合物来冷却和清洁龋洞。

但是，这种用牙钻除龋齿的治疗方法有若干弊端。

例如，一个严重的弊端是该处理方法通常会给患者带来相当大的痛苦。钻牙之所以引起疼痛，是因为患者格外感到旋转的钻牙器具在牙齿区域常常使发炎部位受到细微振动。此外，患者听到牙钻的啸声也非常不舒服。因此，许多患者通常要等待很长时间才去治疗受龋齿损坏的牙齿。

此治疗方法的另一个弊端是钻牙会损害或除去健康的牙齿物质。但是，除去健康的牙齿物质一般是不合乎需要的。

用钻处理受龋齿影响的牙齿的另一个弊端是，尽管龋齿组织钻掉了，细菌残余常留在受损害的部位。这种细菌残余会引起有害的副作用，如牙髓和牙根发炎，而对它们的治疗往往比开始的预治疗引起更大的痛苦。

除了上述经典的钻牙治疗外，最近几年有越来越多的对牙齿硬物质的温和治疗方法。

例如，WO 98/20838 描述了除龋齿的化学—机械方法，它基本上无痛，也不用牙钻。为了溶解龋齿，强氧化剂次氯酸钠和氨基酸联用。这种方法的弊端是作为强氧化剂的次氯酸钠与感染的龋齿组织和未感染的健康牙齿组织的组分非特别地反应。

此外，该方法仅仅是软化了表面上的龋部分，氧化效果一下降，必须再次施用次氯酸钠溶液。因此，需要频繁施用溶液。

临床经验表明，上述化学—机械方法非常耗时，并且不一定成功。因此，患者最后不得不又回到牙钻。

WO 96/07329 描述了治疗和防止龋齿及牙周病的方法。该专利建议用酶与口腔中的病菌作斗争，所述酶用基因工程方法获得。该专利提到溶菌酶和葡聚

糖酶是合适的酶。作为防治龋齿的起点，用酶除掉齿菌斑。该文献没有提及对龋齿的治疗。

类似地，EP 0 824 910 A2 描述了用某些酶治疗齿菌斑的方法。该文献也没有提及对龋齿的治疗。

- 5 WO 92/10165 描述了含有一定量的蛋白酶和钙的络合剂及其他物质的组合物，用于清除假体上的齿菌斑。在此情况下，较好采用在中性或碱性环境中工作的蛋白酶。该文献也没有提及对龋齿的治疗。

- WO 97/38669 涉及分别避免形成齿菌斑和除去齿菌斑的组合物，所述组合物包含糖苷酶、葡聚糖酶和变位酶，以及任选其他酶，如蛋白酶。据描述，该
10 文献所用的所有酶都在 6—8 的 pH 范围内使用。该组合物可用于牙膏、牙粉，或冲洗。该文献也没有提及对龋齿的治疗。

WO 98/26807 介绍了对表面进行清洁和消毒的方法，如用塑料或金属制成的工作表面，该表面涂有生物膜，其中所用组合物包含酶。该文献也没有提及对龋齿的治疗。

- 15 US 4355022 描述了用溶菌酶和络合剂 EDTA（乙二胺四乙酸）联用防治龋齿的方法。该文献也没有提及对龋齿的治疗。

- 因此，需要一种组合物，用它可以在日常生活中以简单、无痛方式除去受龋齿感染的牙齿组织。此外，需要一种组合物，用它除龋齿时不会或可以避免侵袭和损害值得保留的健康牙齿物质。另外，需要一种除龋齿组合物，它能保
20 证在治疗龋齿后基本上不会保留细菌残余。此外，需要一种简单、无痛地治疗龋齿的方法。

- 一般地，牙科医生需要用多种方法才能判定龋洞是否“干净”，即没有龋残余。但是，牙得医生更经常地靠独特的声信号来判断，这种声信号是用牙探针刮新形成的龋洞表面时产生的。无龋牙质用这种牙探针刮时发出清脆的声音，这是因为龋洞壁中无机材料比例高。尽管此项测试通常是确定龋洞是否不含龋质的最简便的方法，而且其可靠性高，但它未必刚好探测到除去牙齿物质的点，因而不能准确判定该龋洞是无龋的。通常，为了使牙探针法能获得所需
25 结果，从牙齿上除去的物质的量高于必要的。以下事实可以解释这一点，即稍微脱矿化的牙齿物质没有龋齿细菌，但已部分脱矿化，因而可以当作健康牙齿
30 处理，但用牙探针刮时不会发出典型的刮擦声。因此，长期以来，一直需要选择一种从龋洞中除龋的材料，它不用牙钻，既可除龋，又基本上不触及较软但

健康的牙齿物质，或者除龋和软化，部分脱矿化的牙齿材料，以便能够依赖牙探针刮擦试验。

因此，本发明的一个目标是提供一种组合物，用它能满足上述一种或多种需要。本发明的另一个目标是提供除龋的治疗方法，用它可以满足上述一种或
5 多种需要。

发明概述

因此，本发明的第一种实施方式涉及一种组合物，它包含至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶，其中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为
10 1000000:1—1:1000000，其中总酶活性超过 2U/ml。

一个酶单位（缩写为 U）是指在标准条件下每分钟将 $1\mu\text{mol}$ 相应的酶底物转化为对应的酶所需的酶量。对于蛋白酶 K，U 与单位 mAnson 有关。为简便起见，本文所用缩写字母 U 也用来描述蛋白酶 K，其中缩写字母 U 表示单位 mAnson。因此，对于蛋白酶 K，用酶单位 U 表示的酶活性比也适用于蛋白酶 K
15 专用的酶单位 mAnson。

在本发明中，总酶活性[U/ml]涉及液体、糊状产品和干燥产品，例如完全由酶与任选的一种或多种干燥辅剂组成。

本发明所用酶一般可从植物、动物或真菌以及细菌或酵母中分离出来。它们也可以用生物工程技术生产。合适的酶有从动物、细菌或酵母中分离的酶，
20 如从猪或鸡得到的酶。此外，合适的酶还包括从链霉菌、青霉菌、梭菌、曲霉菌或麦轴霉中提取的酶。优选从灰色链霉菌、溶组织梭菌、构巢曲霉菌、青霉菌或麦轴霉中提取的酶。

在本发明中，术语“蛋白酶”是指所有能通过水解肽键用蛋白酶解方法转化蛋白质的酶。

25 本发明所用蛋白酶是用来催化可能存在于龋齿损害上的蛋白质组分的分解的。为此，通常所有能催化蛋白质和肽降解的蛋白酶都是合适的。但是在本发明中，那些能够催化存在于牙齿材料上的胶原纤维的分解的蛋白酶，或者至少能催化胶原纤维结构中的变化，使得胶原纤维在蛋白酶反应后具有更好的溶解性的蛋白酶尤其合适。

30 本发明所用蛋白酶例如有肽酶、肽基肽酶、二肽酶、二肽基肽酶、寡肽酶、蛋白酶、内肽酶、外肽酶。

适合本发明的蛋白酶也可以根据参与蛋白酶催化的氨基酸或辅因子来进行分类。因此，在本发明中，一般所有的蛋白酶类都可以使用，如丝氨酸蛋白酶、基质金属蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶和半胱氨酸蛋白酶。一般地，组合物中所含蛋白酶应当在一定条件下使用，该条件使得各蛋白酶催化龋齿损害中存在的蛋白质组分的降解。

发明详述

一般地，本发明的组合物可以只包含一种蛋白酶，但也可以包含两种或多种不同的蛋白酶。

10 根据本发明的一种实施方式，组合物可包含一种蛋白酶。根据本发明的另一种实施方式，组合物可包含约 1—10 种不同的蛋白酶，优选包含 1—6 种，更优选包含 1—4 种，更优选包含 2—3 种，更优选包含 2 种不同的蛋白酶。

根据本发明的优选实施方式，组合物包含至少两种蛋白酶。根据本发明的一种实施方式，发明组合物包含例如胶原酶和链酶蛋白酶等；根据本发明的另一种实施方式，发明组合物包含例如胶原酶和蛋白酶 K。

20 根据另一种实施方式，发明组合物包含三种蛋白酶，即胶原酶、链酶蛋白酶和蛋白酶 K。特别优选使用来自溶组织梭菌的胶原酶和来自灰色链霉菌的链霉蛋白酶以及来自白麦轴霉的蛋白酶 K。根据另一种实施方式，发明组合物只包含一种蛋白酶，优选为天冬氨酸蛋白酶，优选胃蛋白酶，特别是猪的胃蛋白酶。

至于可用于本发明的糖苷酶，所有能够裂开并分解龋齿损害内的多糖结构的糖苷酶都可以使用。在这方面，糖苷酶催化龋齿损害中存在的的多糖结构的糖苷键的水解裂解。

糖苷酶的催化机制只有在各糖苷酶特别地连接到底物上时才能发挥作用。

25 因此，例如溶菌酶可催化多糖结构中 N-乙酰基胞壁酸与 N-乙酰基-D-葡萄糖胺之间的 β -1,4 键的水解。相反， α -淀粉酶催化多糖结构中两个 d-葡萄糖单元之间的 α -1,4 键的水解，变位酶催化 α -1,3 键的水解。葡聚糖酶催化葡聚糖中 α -1,6 键的水解。

在本发明组合物中，通常所有类型的糖苷酶可以独立地包含或与其它糖苷酶联用，例如 α -糖苷酶或、 β -糖苷酶或保留糖苷酶或转化糖苷酶。

本发明组合物通常只包含一种糖苷酶，但也可包含两种或多种不同糖苷

酶。根据本发明的一种实施方式，组合物包含例如一种糖苷酶。根据另一种实施方式，本发明组合物包含 1—约 10 种不同的糖苷酶，例如 1—约 6 种或 1—4 种或 2—3 种糖苷酶，例如 2 种不同的糖苷酶。

根据本发明的优选实施方式，组合物中至少用 2 种不同的糖苷酶。优选糖苷酶是溶菌酶、 α -淀粉酶、变位酶或葡聚糖酶或它们中两种或多种的混合物。联合使用溶菌酶和葡聚糖酶也是合适的。根据本发明，优选采用至少两种不同的糖苷酶，特别是来自鸡卵白蛋白的溶菌酶，来自构巢曲霉菌的 α -淀粉酶和来自青霉菌的葡聚糖酶。

本发明组合物的特征是蛋白酶的活性与糖苷酶的活性之间存在独特的关系。一般地，本发明组合物中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1—1:1000000。

上述活性比总是与有关酶的标准条件相关。在本发明中，以下是有效标准条件：

链酶蛋白酶：如果用酪蛋白作为底物，1 单位对应于 40℃ 和 pH7.5 下，每分钟转化 25 μ g 酪氨酸。

胶原酶：如果用胶原作为底物，1 单位对应于 37℃ 和 pH 7.5 下，5 小时转化 1mmol L-亮氨酸。

胃蛋白酶：1 单位对应于 A280nm 和 37℃ 下，用 TCA 转化血红蛋白的 ΔE 为 0.01。

溶菌酶：1 单位对应于在 pH6.24 和 25℃ 下，每分钟的活性为 0.001。所用溶壁微球菌 (*M. lysodeikticus*) 细胞的传感体积为 2.6ml。

葡聚糖酶：如果用葡聚糖作为底物，1 单位对应于 37℃ 和 pH6.0 下，每分钟转化 25 μ mol 异麦芽糖。

α -淀粉酶：如果用淀粉作为底物，1 单位对应于 20℃ 和基 pH6.9 下，3 分钟转化 1mg 麦芽糖。

蛋白酶 K：如果用血红蛋白作为底物，1Anson 单位对应于 pH 7.5 和 35℃ 下 1 μ mol 福林正氨基酸。

根据本发明，蛋白酶活性与糖苷酶活性的合适比约为 10000:1—1:1000000，或约 100:1—1:1000000，或约 1:1—1:1000000，或约 1:10—1:100000，或 1:100—1:100000。特别合适的比例是约 1:1000—1:100000，更优选的比例是约 1:3000—1:30000。优选比例是约 1:100—1:500。

上述活性比例明显与对有关酶有效的标准条件相关。

此外，本发明涉及一种组合物，它含糖苷酶和蛋白酶，或者含糖苷酶和至少两种或多种蛋白酶，或者包含至少两种或多种糖苷酶和蛋白酶，或者包含至少两种或多种糖苷酶和两种或多种蛋白酶。本发明组合物包含约 1—10 糖苷酶和约 1—10 蛋白酶，优选包含约 6 糖苷酶和约 1—10 蛋白酶，更优选包含约 4 糖苷酶和约 1—10 蛋白酶，更优选包含约 2 糖苷酶和约 1—10 蛋白酶，或约 6 糖苷酶和约 6 蛋白酶，或约 6 糖苷酶和约 4 蛋白酶，或约 6 糖苷酶和约 2 蛋白酶，更优选包含约 4 糖苷酶和约 6 蛋白酶，或约 4 糖苷酶和约 4 位蛋白酶，或约 4 糖苷酶和约 2 蛋白酶，更优选包含约 2 糖苷酶和约 2 蛋白酶。

10 根据本发明的优选实施方式，本发明组合物包含蛋白酶 K 和胶原酶与糖苷酶、溶菌酶和葡聚糖酶联合。

本发明还涉及包含本发明组合物的溶液和至少一种溶剂。一般地，酶可在其中溶解但不会变性的每种溶剂可以是包含在本发明组合物中的组分。所有的水溶剂和有机溶剂都可采用，只要它们不对酶的活性损害到无法用于本发明的程度。

合适的溶剂包括水，具有 2—约 10 个碳原子的直链醇、支链醇或环醇，饱和醇或不饱和醇；酮、酯、羧酸及上述类型溶剂中两种或多种溶剂的混合物。

根据本发明，可以用作溶剂的有二烷基酮或醇或低粘度的可聚物质，如聚乙二醇（PEG）、羟乙基甲基丙烯酸或（2,3-环氧丙基）甲基丙烯酸和它们的混合物。特别优选的醇溶剂有甲醇、乙醇、异丙醇和丙醇。其他合适的有机溶剂是甘油、二甲基砜、四氢呋喃、丙酮、甲乙酮、环己醇、甲苯、二氯甲烷、氯仿、烷烃和乙酸烷基酯，特别是乙酸乙酯。

一般地，可以单独使用上述溶剂，也可以使用这些溶剂的两种或多种溶剂的混合物，只要混合溶剂不会将酶活性损害到无法得到所需结果的程度。但是，根据本发明优选实施方式，所用混合溶剂含水，特别是水—醇混合溶剂。

如果本发明组合物包含溶剂，其粘度基本上可以在任何范围之内，从高流体到糊状。事实证明，如果组合物的粘度足够低，可以流入要治疗的龋齿损害中难以到达的部位，这样的组合物是有用的。但是，如果包含本发明组合物的溶剂具有较高的粘度，即组合物是胶样的，当龋位于牙边的部位时它不会太快流逝，则这种组合物也是有用的。

例如，本发明溶液在 25℃ 下粘度范围在约 1.0mPa·s—1000mPa·s，例如

在 25℃下粘度范围在约 10 mPa·s—约 100 mPa·s。

一般地，可用于本发明的所有增稠剂可以是本领域技术人员熟知的物质，它们通常可以用来调节溶液的所需粘度，只要所述增稠剂不会或者至少基本上不会损害所需应用目的。例如，合适的增稠剂是淀粉、聚乙二醇、聚乙烯基吡咯烷酮、羟乙基丙基纤维素、羟丁基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素钠，和无机增稠剂，如硅胶或叶硅酸盐，以及所述增稠剂中两种或多种的混合物。

例如，本发明酶溶液的总酶活性约为 2U—1000000U/ml 溶液。例如，下限约为 3、5、7 或 10U/ml，其中总酶活性的下限约为 20 或 25 或 30 或 40 或 45 或 50U/ml 溶液时，一般认为可以提高发明效果。

发明酶溶液优选包含约 60—600000U/ml 溶解，例如约 100—400000U/ml 溶剂，或约 300—300000U/ml 溶剂或约 500—200000U/ml 溶剂，或约 700—150000U/ml 溶剂，或约 1000—100000U/ml 溶剂，或约 5000—50000U/ml 溶剂。此外，在本发明的描述中，所述各范围的下限可以与上述每个范围的限度结合，只要在此范围内发明酶溶液特别能显示出有利的效果。

例如，有关酶的比例是 1U 蛋白酶:1U 糖苷酶—1U 蛋白酶:1000000U 糖苷酶，或者约 1U 蛋白酶:10U 糖苷酶—1U 蛋白酶:100000U 糖苷酶，或约 1U 蛋白酶:100U 糖苷酶—1U 蛋白酶:100000U 糖苷酶，与有关酶的有效标准条件相关。例如，特别合适的比约为 1U 蛋白酶:1000U 糖苷酶—1U 蛋白酶:100000U 糖苷酶，更优选约为 1U 蛋白酶:3000U 糖苷酶—1U 蛋白酶:30000U 糖苷酶。

例如，总酶活性约为 1U/ml 溶剂—1000000U/ml 溶剂，优选约为 5—100000U/ml 溶剂，或约为 50—50000U/ml 溶剂。

例如，本发明包含两种组合蛋白酶的合适组合物具有如下酶活性：胶原酶约为 1—5000U/ml 溶剂，例如约 1—1000U/ml 溶剂，或例如约 1—5U/ml 溶剂；蛋白酶 K 约为 10—300mAnson/ml 溶剂，优选约为 20—100mAnson/ml 溶剂，特别优选约为 20—50mAnson/ml 溶剂。当胶原酶与不同于蛋白酶 K 的蛋白酶联合使用时，可以采用类似的浓度和比例。

一般地，本发明组合物的总糖苷酶活性大于 1U/ml。根据本发明，总糖苷酶活性可以约为 1—1000000U/ml 溶剂，优选约为 10—500000U/ml 溶剂，例如浓度约为 50—300000U/ml 溶剂，或浓度约为 1000—200000U/ml 溶剂，或浓度约为 10000—100000U/ml 溶剂。

例如，根据本发明的另一种实施方式，包含两种组合糖苷酶的组合物具有以下浓度：

—溶菌酶在 5000—200000U/ml 溶剂范围内，优选在 10000—150000U/ml 溶剂范围内，更优选在 70000—100000U/ml 溶剂范围内；

- 5 —葡聚糖酶在 10—1000U/ml 溶剂范围内，优选在 50—500U/ml 溶剂范围内，更优选在 90—250U/ml 溶剂范围内。

由于龋损害的主蛋白组分是蛋白胶原，本发明优选采用这些溶液，它们单独使用或与一种或多种其他蛋白酶联合使用能够降解胶原。

- 10 根据本发明的另一种实施方式，用来降解结构上完整的胶原的发明溶液包含至少两种蛋白酶。

- 例如，联合使用胶原酶和另一种蛋白酶如蛋白酶 K 对结构上天然的胶原降解有利效果。天然胶原的降解受胶原酶诱导。这意味着，胶原酶以这样方式转化胶原的三级结构，即转化后，二级结构也可受其他蛋白酶的 attack。但是，胶原酶单独不能完全降解胶原。然而，像蛋白酶 K 或链酶蛋白酶这样的蛋白酶不能降解结构完整的胶原。这种蛋白酶只有在胶原事先与胶原酶反应后才能降解胶原。因此，为了有效降解胶原，联合胶原酶和其他蛋白酶是有利的。
- 15

根据本发明的另一种实施方式，以这样方式选择蛋白酶和糖苷酶及其浓度，使得蛋白酶在使用期间不会蛋白酶解地灭活糖苷酶。

- 底物的矿化程度越高，发明组合物越难接触牙质—胶原。其结果是，发明组合物具有活性，但只对受损害的牙齿物质有降解作用。包含酶的组合物不会侵袭牙齿的固体物质区域。包含上述蛋白酶和糖苷酶组合，用于治疗龋齿或用于制备治疗龋齿的药剂的发明组合物的效果受牙齿中矿物质的比例控制。根据本发明的另一种实施方式，蛋白酶和糖苷酶可以用来降解细菌胞壁组分，从而具有杀菌效果。
- 20

- 25 此外，发明组合物包含至少一种缓冲液或第一化合物，所述第一化合物与第二化合物混合作为缓冲液。发明组合物中的缓冲液可用来调节包含发明酶混合物的发明溶液中的 pH 值至所需值，分别用于本发明各实施方式，防止 pH 值在指定时间内发生变化，并用于稳定各溶液。

- 在本发明中，所有通常的缓冲液都是合适，如磷酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷缓冲液（Tris buffer）、双甘氨酸缓冲液或甘氨酸缓冲液。优选磷酸钠缓冲液、磷酸氢钠缓冲液、磷酸
- 30

二氢钠缓冲液、磷酸钾缓冲液、磷酸氢钾缓冲液、磷酸二氢钾缓冲液或焦磷酸盐缓冲液。碳酸钠缓冲液、碳酸钾缓冲液、碳酸氢钠缓冲液或碳酸氢钾缓冲液也是合适的。发明组合物特别优选包含磷酸盐缓冲液和它们的组分。特别优选的磷酸盐缓冲液是磷酸二氢钠缓冲液。

5 根据本发明,也可以使用缓冲体系,它不仅能在所需 pH 值下稳定系统,而且能在组合物内完成第二项任务,例如激活或灭活酶活性。因此,下文所述具有激活或灭活酶性质的酸及其盐也可以用作缓冲体系,以稳定发明组合物的 pH 值。其中,二乙基巴比妥酸、三羟甲基氨基酸(Tricine)、甘氨酸-甘氨酸和磷酸盐缓冲液优选作为缓冲化合物。

10 含溶剂的本发明溶液的缓冲液浓度可达 100mol/l。浓度(mol/l)与溶液中酸性部分有关。优选范围约在 0.001-10mol/l。根据本发明的另一种实施方式,含有酶的溶液包含约 0.001mol/l-5mol/l 的缓冲液。浓度范围优选为约 0.01-3mol/l,更优选约为 0.02-2.0mol/l。根据本发明的另一种实施方式,含有酶的溶液所包含的缓冲液浓度范围约为 0.03-10mol/l,更优选约为 0.05-5mol/l,15 甚至更优选约为 0.08-2mol/l。

包含发明酶混合物的溶液的 pH 值约为 1-10。

根据本发明的另一种实施方式,含有发明酶的溶液的 pH 值约为 5-10,特别是约 6-9,特别是约 7 或约 1-4。

如果龋齿损害中的蛋白质容易到达,例如由于龋齿损害中去矿化能力强,20 则使用已调节到上述值的蛋白酶混合物是有利的。但是,如果这种溶液与矿物质接触,则不会发生蛋白酶降解。这样,通过限制底物的有效性,获得效果的限制。有利的是,基本上只有受感染的牙质和在更大程度上去除去矿化的牙质,而健康的矿化牙质不受或仅受到轻微侵袭。因此,所述溶液在约 5-10 的 pH 范围内,对牙齿上的健康物质没有太大的影响。

25 发明组合物还可包含辅剂,如络合剂、酶底物或酶效应物。根据本发明,酶效应物包含酶活化剂以及酶抑制剂。

在本发明中,络合剂用于促进酶接近龋齿损害,通过支持羟磷灰石的降解。

本发明的优选络合剂是能与具有二价的金属离子形成稳定络合物的络合剂。例如,EDTA(乙二胺四乙酸)、EGTA(乙二醇二氨基乙基四乙酸)、柠檬酸或水杨酸是合适的络合剂。EDTA(乙二胺四乙酸)是最优选的络合剂。30

在本发明中,可以在发明组合物中加入其他能够优化酶功能的能力的化合

物。这种激活或抑制酶的化合物包含二乙基巴比妥酸、三(羟甲基)氨基酸甲烷 (TRIS)、甘氨酸、双甘氨酸、N-(2-乙酰氨基)-2-氨基乙烷磺酸 (ACES)、 N-(2-乙酰氨基)亚氨基二乙酸酯 (ADA)、N,N-二(2-羟乙基)-2-氨基乙烷磺酸 (BES)、N,N-二(2-羟乙基)甘氨酸 (BICINE)、2,2-二(羟乙基)-亚氨基三(羟乙基)甲烷 (BIS-TRIS)、2-(环己氨基)乙烷磺酸 (CHES)、2-[4-(2-羟乙基-1-哌嗪)]乙烷磺酸 (HEPES)、3-[4-(2-羟乙基-1-哌嗪基)]丙烷磺酸 (HEPPS)、 2-吗啉乙烷磺酸 (MES)、3-吗啉丙烷磺酸(MOPS)、哌嗪-1,4-二(2-乙烷磺酸) (PIPES)、N-[三(羟甲基)-甲基]-2-氨基乙烷磺酸 (TES)、N-[三(羟甲基)-甲基]-甘氨酸 (TRICINE), 酸如硫酸、磺酸、磷酸、盐酸、乙酸、硝酸, 碱如 10 氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、氨、氢氧化钙、氧化镁, 盐如氯化镁、硫酸镁、硝酸镁、氯化钙、硫酸钙、硝酸钙、氯化铁、氯化亚铁、硫酸铵、氯化铵、氯化钾、磷酸钠、磷酸钾、锰盐、钴盐、锌盐、辅酶、氨基酸、甜菜碱、牛黄酸、山梨糖醇、木糖醇、聚乙二醇、甲基纤维素、甘露糖醇、甘油和维生素, 以及技术人员熟知的其他许多添加剂。

15 本发明还涉及生产包含本发明所述组合物的酶的方法, 其中合适选择的酶与合适比例的各酶活性混合。

本发明还涉及生产包含本发明所述组合物的酶的方法, 其中在合适的酶混合物中任选加入合适的辅剂和一种或多种合适的溶剂。

有关发明过程中的生产和储存, 本领域技术人员一般可采用所有已知如何 20 处理酶的技术。例如, 本发明组合物可用色谱技术、冷冻干燥技术、喷雾干燥技术、造粒技术、离心技术、沉淀技术、结晶技术或超滤或纳滤技术处理。

此外, 本领域技术人员已知的所有生产辅剂都可用来提高储存稳定性。

本发明还涉及除龋方法, 其中含有本发明上文所述组合物的酶可涂布在龋齿的部位上。

25 在选择合适的处理溶液时, 特别是在选择合适的酶来制备治疗和除去龋的溶液时, 必须考虑具体情况下存在的龋类型。

不同类型的龋之间通常存在差异。因此, 例如, 龋损害中有无阻碍接近牙质的衰败性龋、龋牙质仍为釉质、釉质龋、根龋和根营龋所覆盖。

如果受龋影响的点为一厚层釉质或老的补牙剂所包裹, 因而无法接触治疗 30 溶液, 则可以用快速旋转钻清除釉质盖层或老的补牙剂。但是, 如果釉质盖层例如被晚期的龋齿病穿孔, 则可以不用牙钻, 而是结合机械载体渗入本发明组

合物。用于支撑穿孔釉质盖层的渗透的机械工具包括微型刷（由塑料或金属制成的小刷子）、样品匙、样品球和其他牙外科常用工具。这些工具用来将发明溶液铺展在待治疗的部位上，将所述溶液抹进去，除去软化的龋牙质，通过触摸有触觉地分出牙质和釉质的硬表面。

- 5 如果可能接近牙齿上受龋影响的区域，治疗通常从鉴别患者口中牙齿的龋区域开始。这种鉴别可用牙科医生已知的方法进行，例如检查、探测、X-射线，但也可以用诊断印模材料。可任选对鉴定为牙齿的龋感染的区域进行简单清洁，例如用探针或挖治器，也可任选加入研磨剂。随后，冲洗待治疗的牙齿区域，并吹气。

- 10 这些准备工作后，可在牙齿的预处理区域施涂含发明酶的组合物，以此除龋。

- 待治疗的部位和任选存在的龋洞应当分别始终覆盖和完全填满发明溶液。例如，治疗受龋影响的牙齿区域的合适施涂量约为 $100\mu\text{l}$ 。但是，合适的施涂量应当根据具体情况调整，即龋洞的大小和受龋影响的牙齿区域的大小。因此，
15 合适的施涂量约为 $0.001-0.5\text{ml}$ ，优选约为 $0.01-0.3\text{ml}$ ，更优选约为 $0.02-0.2\text{ml}$ 。

含发明酶的组合物的优选暴露时间约为 $5\text{s}-5\text{min}$ ，此暴露时间可视龋损害的大小增减。暴露时间优选在约 $10\text{s}-3\text{min}$ 之间，例如在约 $15\text{s}-2\text{min}$ 之间，或在约 $20\text{s}-1\text{min}$ 之间。

- 20 在暴露时间内，龋损害的龋部位得到降解，形成较大的龋洞。一旦暴露时间结束，冲洗牙齿的处理的区域，任选吹气。

例如，龋齿降解处理步骤可根据如下步骤进行。在待治疗的牙齿区域施涂适量的含酶溶液，用所述溶液暴露约 $5\text{s}-5\text{min}$ ，然后用水冲洗牙齿的区域。以下将此处理过程称作培养步骤。

- 25 一般地，培养步骤可根据需要多次进行，这样在牙齿的处理的区域不会残留龋或细菌残余。培养步骤可进行一次或多次，例如两三次或更多次。但是，多数情况下，重复培养步骤无需超过 2 次或 3 次。

本发明表明，培养步骤连续进行 2 次尤其有利。发明酶溶液与牙齿上受龋影响的区域接触持续时间应当约为 $10-30\text{s}$ ，例如约为 20s 。

- 30 因此，本发明还涉及除龋的过程，其中发明组合物，特别是包含至少一种溶剂的发明组合物要施涂在牙齿的受龋影响的区域。

此外，本发明涉及除龋过程，其中所述过程分两个或多个培养步骤进行。

此外，本发明涉及除龋过程，其中在第一个步骤及另一个或另几个步骤中，将发明组合物施涂在牙齿的受龋影响的区域。

本发明表明，在某些情况下，有利采用含有酶的处理溶液，其 pH 值可调节到它能够侵袭并降解釉质和牙质。例如，当龋损害位于穿孔但未完全损坏的釉质盖层下面时，就可以如此。在此情况下，可以用调整了酸度的含酶处理溶液除去釉质盖层，而不用牙钻，其中包含这种溶液的酶诱导或进行位于釉质盖层下龋区域的降解。

此外，龋损害已经用 pH 值为 5 或更高的含酶组合物处理之后，在中间步骤或最终步骤，可进一步用含酶处理溶液处理，其中溶液的 pH 值调节到使釉质或牙质受到侵袭并降解。由于这种酸性溶液对牙质和釉质有降解作用，龋洞内部变得粗糙，因而为随后的补牙治疗作好准备并提供便利。

合适的处理溶液的 pH 值约小于 4，特别是约小于 3。例如，合适的 pH 值约为 1—4，特别是约为 1.2—3，或约为 1.5—2.5，例如约为 2。

这种处理溶液应当包含至少一种酶，其 pH 在上述范围之内。在此情况下，胃蛋白酶特别合适。

根据本发明，所描述的胃蛋白酶溶液在预处理龋洞时具有这样的优点，即牙科医生可用牙探针检查龋洞壁的表面，以便完全除龋。用本发明的胃蛋白酶溶液处理龋洞的结果是龋洞壁矿化，因而用探针检测时能产生牙医熟悉的声音。胃蛋白酶的蛋白酶解作用与本发明溶液的酸性环境结合，可促进龋洞中类胶原残留物的清除。胃蛋白酶的蛋白酶解性质和本发明组合物酸性矿物溶解环境的相互作用是为此目的特制的。在侵袭牙质的矿物结构的过程中，发明组合物的酸性部分也使类胶原结构变性，使它们受胃蛋白酶侵袭。由于牙质中矿物组分的溶解，龋洞中组合物的 pH 值在处理过程中增加，直到 pH 值太高以致环

能损害矿物组分。但是，酶仍然具有活性，且消化龋洞中的剩余变性蛋白质。这样得到的龋洞壁，其组分类似于健康的牙质。但是，牙医为确定是否完全除去了龋质而用牙探针探测龋洞时，这种龋洞壁发出牙医熟悉的声音。

因此，本发明还涉及 pH 值约为 2 或更小的组合物，它包含水、酸、胃蛋白酶和流变添加剂，其中胃蛋白酶的浓度为 1—45000U/ml，组合物的粘度约为 1—1000mPas。

一般地，上述组合物可包含任何类型的酸，包括有机酸或无机酸，或这两

类酸的混合物，以便提供所需 pH 值。已经发现，可以采用的有机酸如二乙基巴比妥酸、三(羟甲基)氨基甲烷 (TRIS)、甘氨酸、双甘氨酸、N-(2-乙酰氨基)-2-氨基乙烷磺酸 (ACES)、N-(2-乙酰氨基)亚氨基二乙酸酯 (ADA)、N,N-二(2-羟乙基)-2-氨基乙烷磺酸 (BES)、N,N-二(2-羟乙基)甘氨酸 (BICINE)、2,2-二(羟乙基)-亚氨基三(羟乙基)甲烷 (BIS-TRIS)、2-(环己氨基)乙烷磺酸 (CHES)、2-[4-(2-羟乙基-1-哌嗪)]乙烷磺酸 (HEPES)、3-[4-(2-羟乙基-1-哌嗪基)]丙烷磺酸 (HEPPS)、2-吗啉乙烷磺酸 (MES)、3-吗啉丙烷磺酸 (MOPS)、哌嗪-1,4-二(2-乙烷磺酸) (PIPES)、N-[三(羟甲基)-甲基]-2-氨基乙烷磺酸 (TES)、N-[三(羟甲基)-甲基]-甘氨酸 (TRICINE)，使本发明组合物的 pH 值变化到所需 pH 值范围。但应当指出，上述一些或所有的酸除了降低 pH 值外，对组合物还有其他效应，特别是加速或抑制效应。组合使用上述酸也在本发明范围之内，其中，加入一种或多种酸的目的是获得或调节所需 pH 值，而加入一种或多种酸的其它目的与它们对 pH 值的影响无关。

但是已经发现，诸如硫酸、磺酸、磷酸、盐酸、甲酸、乙酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、草酸或硝酸等无机酸有利于提供所需 pH 值，提高本发明组合物的变性和矿物溶解的性质。已经指出，在本发明中，像甲酸和乙酸这样的酸可以看作无机酸的一部分。

也可以组合使用上述有机酸和无机酸，以降低 pH 值。但是已经发现，如用无机酸调节所需 pH 值就足够甚至有利。

在本发明的多数优选实施方式中，无机酸用于获得所需 pH 范围，特别是磷酸。

为稳定包含本发明组合物的胃蛋白酶的 pH 值，这种组合物可包括缓冲体系。一般地，缓冲体系是技术人员已知的，但必须选择用来降低 pH 值的酸。合适的缓冲体系是 H_2PO_4/H_3PO_4 、甲酸/甲酸盐、乙酸/乙酸盐、柠檬酸/柠檬酸钠、甘氨酸/HCl。

缓冲液浓度优选在约 0.01—2.0M 范围内。

包含本发明组合物的胃蛋白酶包含至少一种流变添加剂。

已经发现，溶解的胃蛋白酶由于在等电点周围存在构型效应和相互作用效应，它在 pH 值约为 3.5 的环境下发生结构变化。由于这些结构变化和相互作用的变化，胃蛋白酶接近等电点时从溶液中析出。但是，这使胃蛋白酶的活性随着 pH 值的增加而逐渐下降。此性质又与本发明的目标证实得其反，即清除龋

洞中的胶原残留物，而龋洞壁的矿物组分基本上未受操作。因此，理想的结果是既能尽可能长地保持胃蛋白酶的活性，又能避免胃蛋白酶分子接近等电点时析出。

令人意外的发现是，加入流变添加剂可抑制胃蛋白酶过早析出，有利于延长胃蛋白酶的作用，甚至在较高 pH 值。

作为流变添加剂，成功地使用有机增稠剂。合适的流变添加剂是多糖。因此，包含本发明组合物的胃蛋白酶包含多糖作为流变添加剂。例如，合适的多糖是淀粉、甘露聚糖、咕吨酮、藻酸盐、角叉菜、果胶、聚乙烯基吡咯烷酮、羟乙基丙基纤维素、羟丁基甲基纤维素、氢丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素或羧甲基纤维素钠和其两种或多种物质的混合物。应当指出，术语“流变添加剂”和术语“增稠剂”在本发明中可互换使用，除非另有说明。

除上述必须遵循的组分水、酸、胃蛋白酶和流变添加剂外，包含本发明组合物的胃蛋白酶中可存在聚醚或两性表面活性剂，或两种或多种聚醚和两性表面活性剂的混合物。

加入这两种类型的组分可进一步抑制胃蛋白酶的析出。一般说来，所有类型的聚醚都适合用来抑制胃蛋白酶的析出，但前提是本发明所用聚醚至少具有一定的水溶性。

一般地，合适的聚醚在 20℃ 水中的溶解度应当至少约为 1g/l，更优选至少约为 5g/l，或至少约为 200g/l。如果聚醚用作本发明组合物的一个组分，它在 20℃ 水中的溶解度优选至少约为 0.1wt%，更优选至少约为 1wt% 或至少约为 2wt%。

合适的聚醚的制备方法一般是使原料，通常为水、醇或胺与一种或多种环氧化物在碱催化下发生开环反应。也可以通过环醚，如四氢呋喃（THF）的开环聚合反应来得到合适的聚醚。优选原料是水或单功能醇或多功能醇。合适的单功能醇是具有 1—约 22 个碳原子的直链或支链、饱和或不饱和脂肪醇，环脂肪醇或芳香醇，例如甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、同分异构的戊醇、同分异构的己醇、同分异构的庚醇及其较高级的同系物、环己醇、苯酚、萘酚等。其中优选的多功能醇是具有 2、3 或 4 个羟基的醇，例如乙二醇、丙二醇、丁二醇、三羟甲基丙烷、三羟乙基丙烷、戊赤藓糖醇、山梨糖醇等。

合适的环氧化物或环醚通常是环氧乙烷、环氧丙烷、环氧丁烷或 THF。

对本发明胃蛋白酶的析出具有抑制效果的聚醚可仅包含一类单体。但是，采用包含一类以上的单体的聚醚也在本发明范围之内。这种共聚物可随机组织或成块。

5 采用主要或完全由环氧乙烷重复单元 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$) 组成的聚醚也优选包含在本发明范围之内，具有两个或三个羟基。

这些聚醚的重均分子量 (Mw) 用常规的方法，如 GPC 测定，它不应超过约 10000 原子单位，优选应小于约 1000 原子单位。这种聚酯的最小重均分子量 (Mw) 应当约为 100 原子单位，优选为 150 原子单位或更大，例如约 200 原子单位。

10 根据本发明的优选实施方式，含有组合物的胃蛋白酶包含分子量约为 100—500 原子单位，优选为 200 原子单位的聚乙二醇。

代替或除了一种或多种上述聚醚外，包含本发明组合物的胃蛋白酶可包含一种或多种两性离子化合物。一般而言，所有类型的含有至少一个正电荷离子和一个负电荷离子的低分子量组分都适合于本发明。术语“低分子量”是指分
15 子量约小于 1000，优选小于约 500 的两性离子组分。在本发明的优选实施方式中，包含本发明组合物的胃蛋白酶包含下述组分中的一种或多种作为两性离子化合物：甘氨酸甜菜碱、甜菜碱、牛黄、外生物碱类 (ectoines) 或二甲基铕丙酸。

此外，含有本发明组合物的胃蛋白酶可包含一种或多种 hw 有四个或多个
20 羟基的非聚醚多元醇。合适的多元醇或糖醇是戊赤藓糖醇、木糖醇、山梨糖醇、葡萄糖、蔗糖、乳糖、甘露糖醇或甘油。

因为蛋白酶本身是蛋白质，所以含胃蛋白酶的溶液总是处于在因自身消化溶液中的酶而失去其反应性的危险。尤其是包含溶液在 pH 值小于 4 的条件下存储的胃蛋白酶，其活性会迅速下降。为延迟活性的降低，可在这种溶液中加入抑制剂。虽然这种抑制剂能延迟溶液中胃蛋白酶的自身消化，但它也缓慢降
25 低胃蛋白酶对龋洞中蛋白质的反应性。然而，以牺牲胃蛋白酶对龋的反应性来换取具有储存稳定性提高的溶液也是需要的。因此，包含本发明胃蛋白酶的组合物还可包含抑制剂。

合适的抑制剂可以是前面已经提到的抑制剂。优选的抑制剂是聚赖氨酸、
30 胃酶抑素或取代哌啶。

含有本发明胃蛋白酶的组合物通常包含约 1—100000U/ml 组合物的胃蛋白

酶。但是，胃蛋白酶的活性优选约为 500—50000U/ml 组合物，或约 1000—8000U/ml 组合物。每毫升组合物中加入约 0.5—15mg 普通市售质量的胃蛋白酶可获得所需活性。

流变添加剂的加入量要足够，以提供约 1—1000mPas 的粘度。本发明组合物的粘度优选约为 5—500mPas 或约 10—100mPas。

粘度根据标准程序，用 Haake 流变仪（Rotor-Visco (RV1)，传感器（60/1° Ti））在 25℃测定。

含有本发明胃蛋白酶的组合物包含约 0.1—2wt%（基于组合物重量）的流变添加剂。流变添加剂的量优选约为 0.2—1wt%，只要组合物的粘度在上述范围之内。

含胃蛋白酶的本发明组合物可包含一种聚醚，或两种或多种聚醚的混合物，量约为 0.1—20wt%（基于组合物重量）。然而，已发现聚醚以约为 0.5-8wt%，尤其以约为 0.8—5wt%的量存在时是有利的。

含胃蛋白酶的本发明组合物包含两性离子化合物或两种或多种两性离子化合物的混合物，这种组分以约 0.1-20wt%（基于组合物重量）的量存在。通常，已发现两性离子组分以约 1-15wt%或约 7-12wt%的量存在时是有利的。

含胃蛋白酶的本发明组合物可另外包含防腐剂。一般地，所有类型的防腐剂均可用作本发明组合物的一部分，它能抑制本发明溶液中微生物的生长，且人体能忍受。但是已发现，最优选使用常规的对羟基苯甲酸酯类防腐剂。特别优选的防腐剂是甲基对羟基苯甲酸酯（羟苯甲酸甲酯）和丙基对羟基苯甲酸酯（羟苯甲酸丙酯）。上述每种防腐剂可用作本发明组合物中唯一的防腐剂，但也可以联合使用这些防腐剂。防腐剂的用量一般约为 0.001—1wt%（基于组合物重量）。在本发明的优选实施方式中，防腐剂的用量约为 0.01—0.25wt%（基于组合物重量）。

此外，含胃蛋白酶的本发明组合物可包含其他添加剂，如络合剂、酶底物或酶效应物，如上文所述。

为了克服含胃蛋白酶的本发明组合物的储存稳定性和失去活性的问题，已发现这种含胃蛋白酶的溶液可有利地以双组分体系的形式提供。

因此，本发明还涉及包含双组分 A 和 B 的组合物，其中组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性

剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于或等于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值。

因此，含有胃蛋白酶的本发明组合物也由双组分 A 和 B 组成。组分 A 包含水和缓冲体系，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值。一般地，合适的缓冲体系所提供的 pH 值约为 3、5 或更高，尤其约为 4 或更高，或者约为 4、5 或更高。已发现，如果组分 A 的 pH 值超过的 5.2，特别是超过约 5.3，或超过约 5.4，则尤其有利。约为 5.5 的 pH 值能得到非常好的结果。

本发明所用术语“缓冲体系”是指能够利用组分 A 及组分 A 和 B 的混合物提供缓冲效果的体系。因此，组分 A 不必包含完整的缓冲体系，只要在这种缓冲体系中形成组分 A 和 B 的混合物就足够了。

一般地，所有类型的缓冲体系均可使用，如上文所述。在本发明的优选实施方式中，采用的是磷酸盐缓冲液。组分 a 优选包含 pH 值约为 4、5—6 的磷酸盐缓冲液。已发现，当组分 A 所含磷酸盐缓冲液的浓度约为 10—500mmol/l，特别是约 50—150mmol/l 时，可得到非常好的结果。

在本发明组合物中，组分 a 优选包含活性小于约 60000U/ml，特别是约 500—50000 或约 5000—45000 U/ml 组合物的胃蛋白酶。一般地，上文对胃蛋白酶浓度和活性的描述同样适用于现在所述的组合物。

组分 A 所含胃蛋白酶通常约小于约 20mg/ml 组分 A，优选约小于 15 或小于 10mg/ml 组分 A。

组分 A 还包含流变添加剂。合适的流变添加剂如前面所述。在本发明的优选实施方式中，组分 A 包含多糖作为流变添加剂，例如羟乙基纤维素。组分 A 中流变添加剂的量约为 0.05—1.5wt%，优选约为 0.1—1wt%，或约为 0.3—0.7wt%。

在本发明的优选实施方式中，组分 A 可包含如下组分，其量如下：

胃蛋白酶	约 0.1—1.0wt%
磷酸二氢钠	约 0.6—2.4wt%
氢氧化钠	约 0.001—0.5wt%
羟乙基纤维素	约 0.2—1.0wt%
羟苯甲酸甲酯	约 0.005—0.05wt%
羟苯甲酸丙酯	约 0.005—1.0wt%
水	加至 100wt%

本发明的组分 B 包含水、使 pH 值小于 4.0 的酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物。

一般地，组分 B 包含上面提到的所有类型的酸，用来达到所需 pH 值。由于组分 A 和 B 混合后可形成缓冲体系，如果组分 B 中的至少一种酸与组分 A 中的一种盐匹配，则是有利的。在本发明的优选实施方式中，组分 B 包含磷酸。已发现，如果组分 B 包含的酸使 pH 值达到 1—约 2.8，特别是约 1.5—2.5，则是有利的。

组分 B 还包含聚乙二醇或两性化合物或同时包含二者。作为聚乙二醇，上面提到的各种聚乙二醇都是合适的。所用聚乙二醇的分子量优选在上面指定范围内。如果组分 B 包含聚乙二醇，其量在约 0.1—10.0wt% 范围内，优选约在 0.5—5.0wt% 范围内（基于组分 B 的重量）。

如果组分 B 包含两性化合物，上述两性化合物是优选的。组分 B 中两性化合物的量在约 0.1-20wt% 范围内，尤其约 1-15 或约 12wt%。

在本发明的优选实施方式中，组分 B 可包含如下组分，其量如下：

磷酸二氢钠	约 10—20wt%
磷酸	约 5—10wt%
聚乙二醇	约 2—5wt%
羟乙基纤维素	约 0.2—1.0wt%
水	加至 10wt%

组分 A 和组分 B 可包含一种或多种上述添加剂。组分 A 和 B 之一优选包含至少一种着色剂，以便能够区分两种组分，并且能够确定应用前两种组分是否完全混合。

组分 A 和 B 的混合比例很大程度上取决于所需混合物的性质。两种组分通常必须这样混合，使得混合物的 pH 值低于组分 A 的 pH 值。优选这样选择比例，使得混合物的性质符合上述的含胃蛋白酶的组合物性质。因此，组分 A 和 B 混合的比例优选使得混合物的 pH 值小于约 4，优选小于约 3.8 或小于约 3.5，特别优选小于约 3.3，或小于约 3.2。

组分 A 和 B 的混合物还优选具有如下性质：

pH 值	约 1.5—3.5
粘度	约 10—50mPas
胃蛋白酶活性	约 1000—10000
缓冲容量	约 0.5—2.0

有利地制备组分 A 和 B 宜，以得到具有上述性质的混合物以便于应用，组分 A 和 B 之比约为 5:1—1:5，特别是约 2:1—1:4，或约 1:1—1:3.5，优选约 1:2—1:3。

本发明还涉及除龋方法，它采用的处理溶液包含至少一种胃蛋白酶，其中
5 胃蛋白酶在 pH 值约为 5 或以下，或者 pH 值约为 4 或以下时，其蛋白酶解的催化活性最佳。

此外，本发明涉及除龋方法，其中龋损害与至少一种本发明组合物和至少一种含胃蛋白酶的处理溶液接触，其中胃蛋白酶在 pH 值低于 7 时蛋白酶解的催化活性最佳。

10 根据本发明的另一种实施方式，例如，这种处理溶液包含天冬氨酸蛋白酶，优选胃蛋白酶。该方法所用处理溶液的初始 pH 值优选约为 1.0—2.5。本发明所用处理溶液优选包含缓冲液。

本发明的另一种实施方式涉及治疗龋齿的方法，其中混合上述两个组分 A 和 B，然后使龋损害与此混合物接触。

15 本发明的另一种实施方式涉及使用含组分 A 和 B 的混合物，其中组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值，用于治疗龋齿。

20 本发明的另一种实施方式涉及使用含组分 A 和 B 的混合物，其中组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶活性最佳时的 pH 值，用于制备治疗龋齿用的医药产品。

25 优选这种包含胃蛋白酶的处理溶液治疗龋齿的方法基本上按照已经描述的方法、其中采用了本发明组合物。

酸性处理溶液可通过已经多孔的釉质盖层接近龋损害齿中包被矿物质的蛋白质部分。同时，酸使龋损害中的蛋白质变性。这样就支持了蛋白酶解降解。这对于高胶原比例是特别有利的，因为天然和结构完整的胶原只受到胃蛋白酶的缓慢侵袭。酸和胃蛋白酶在此情况下具有协同效应。
30

为防止这里所述组合物穿进牙齿太深，从而损害健康的牙齿，需要使用羟

磷灰石的碱性性质。羟磷灰石溶解越多，溶液的 pH 值就越偏向 5.5，这限制了酸性胃蛋白酶溶液对羟磷灰石的溶解能力。因此，含酸性胃蛋白酶的溶液不会对牙齿健康区域构成威胁。此外，有利的是酸性胃蛋白酶溶液具有杀菌效果。

在本发明中，所述处理溶液在治疗龋损害的过程中可单独用于一个步骤或多个连续步骤。但根据本发明，处理溶液也可以与本发明组合物联合使用，特别是与本发明包含溶剂的组合物联合使用。

一般地，用本发明组合物和酸性处理溶液进行治疗步骤的顺序基本上是任意的。因此，本发明组合物和酸性处理溶液可在两个或多个步骤中交替使用，或者一个接着一个，每个连续应用数次。因此，第一个处理步骤可用本发明组合物进行，也可以用酸性处理溶液进行。

清洗步骤优选在独立的处理步骤之间进行，其中龋损害的溶解部分的残留物与治疗用组合物或处理溶液一起除去。

本发明还涉及除龋的方法，其中龋损害与至少一种本发明组合物和至少一种处理溶液接触，所述处理溶液包含至少一种胃蛋白酶，胃蛋白酶在 pH 值小于 7 时蛋白酶解的催化作用最佳。治疗过程优选分两步或多步进行。

根据本发明的实施方式，例如，当先用本发明的溶液进行两步培养，最后的培养步骤用酸性处理溶液进行时，则是有利的。酸性处理溶液对牙齿表面稍有蚀刻，因此在除龋后很适合为补牙治疗作准备。由于酸性处理溶液的蚀刻效果，使表面坚硬和有些粗糙，因而补牙材料在牙齿上粘着很好。

根据本发明的另一种实施方式，当第一个培养步骤用含酸性胃蛋白酶的溶液进行是有利的。如果在牙齿损害情况下，釉质层覆盖着受感染的牙质，但由于龋的存在，所述釉质已经多孔并软性，以至于酸可足以通过多孔釉质层接近牙质，从而使胶原变性，使变性的胶原降解，则此方法是最佳的。

因此，例如，用本发明溶液进行培养的步骤以便降解变性的胶原。

用本发明方法治疗龋齿的效果是，以前受龋影响的牙齿区域基本上没有留下可检测龋活性细菌。例如，这可由显微镜分析证明。

本发明提出的治疗龋齿的溶液通常可以任何可选择的形式提供给使用者。在基本形式中，可为使用者提供一个试剂盒，它包括上述两种或多种酶，它们由使用者以需要的量进行混合。

因此，本发明还涉及一个试剂盒，它包含至少两种酶，这两种酶能混合以得到本发明的组合物。

为便于使用者混合，宜在试剂盒中增加合适的溶剂。此外，如果试剂盒中包含的酶已经以合适的混合比例混合，使其活性在上述范围内，则完全有可能有利于应用。

5 将用本发明组合物和用酸性处理溶液联合处理通常有意义。在这种情况下，为便于使用者的使用，宜将本发明组合物和酸性处理溶液也作为试剂盒提供。

因此，本发明还涉及包含至少一种本发明组合物或至少一种酸性处理溶液的试剂盒，其中酸性处理溶液包含至少一种胃蛋白酶，其蛋白酶解催化活性在 pH 值低于 7 时达到最佳；或者包含至少一种本发明组合物和至少一种酸性处理
10 溶液，其中酸性处理溶液包含至少一种胃蛋白酶，其蛋白酶解催化活性在 pH 值最多为 4 时达到最佳。

当本发明组合物包含双组分时，这些组分通常可以任何类型的包装形式提供，例如管、烧瓶等。但是，对于少量液体的使用，现有技术揭示了许多方法，它们方便使用这种少量液体，尤其是在牙科领域，该领域对操作空间的限制常
15 使得简单施药器的操作困难。

从技术角度讲，本发明优选采用包装更先进的上述具有双组分 A 和 B 的组合物，这种包装有利于双组分的混合和施用。根据本发明的另一种优选实施方式，双组分 A 和 B 可用多室施药器提供，如 WO 02/06820 第 3—4 页、第 13—17 页以及图 1—4，DE 10056212A1 第 2—10 栏和图 1—5，以及美国专利
20 6105761 第 2—5 栏和图 1—6 所示。上述文献在此明确引用，其内容，尤其是涉及以上提及的多组分组合物的给药器具的内容，均视作本发明内容的一部分。

因此，本发明涉及用于储存和分发液体的多室器具，其特征在于至少有一个室包含组分 A，至少有一个室包含组分 B，其中组分 A 包含水、缓冲体系和
25 流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、流变添加剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值。

本发明还涉及至少一种胃蛋白酶的使用，其蛋白酶解催化活性在酸性 pH
30 范围低于 7，尤其在 pH 值最多为 4 时最佳，可用于制备除龋的处理剂。

本发明将在以下实施例中更详细描述。

实施例

所用的酶:

胃蛋白酶、胶原酶、溶菌酶素、链酶蛋白酶、葡聚糖酶和 α -淀粉酶购自
5 SIGMA 公司。蛋白酶 K 购自 ICN 公司。

实施例 1: 配方

溶液 1:

	名称	浓度
酶	溶菌酶	88000u/ml
	葡聚糖酶	110u/ml
	胶原酶	2.7u/ml
	蛋白酶 K	38mAnson/ml
缓冲液	磷酸二氢钠	0.025mol/l pH7.0
溶剂	水	
辅剂	羧甲基纤维素	2%

10

溶液 2:

	名称	浓度
酶	胃蛋白酶	1mg/ml
缓冲液	磷酸二氢钠	1mol/l pH2.0
溶剂	水	
辅剂	HEC	0.5%
	PEG 200	3%

实施例 2: 治疗方法

为确定本发明溶液的效果而进行的检测用拔出的龋齿在体外进行。

1. 途径

15

如有必要, 可用快旋转钻清除覆盖龋区域的部分釉质层。

2. 任选粗清洁

没有必要进行粗清洁，但粗清洁可方便牙医检查治疗效果。龋损害的粗清洁用挖治器或龋匙进行。

3. 用酶溶液处理

- 5 1) 20s 100 μ l 溶液 1
- 2) 清洗
- 3) 20s 100 μ l 溶液 1
- 4) 清洗
- 5) 20s 100 μ l 溶液 2
- 10 6) 清洗
- 7) 此后任选进行补牙治疗

由于两种溶液均可杀灭龋齿上的细菌，治疗过程可仅用溶液 1 或溶液 2 进行，或者用不同的顺序进行。优选联合使用。如果接着补牙治疗，则最后使用酸性溶液 2 (pH 值为 2.0) 尤其有利。

15

实施例 3：无细菌的证据

- 根据要求施用酶溶液，清除了龋齿上受感染的硬物质后，将拔出并处理过的牙齿气吹，固定在包埋质 (Cytofix, Struers 公司) 中。用内孔锯分步将贯穿龋损害的牙齿分成几段，除去牙齿段上覆盖的包埋材料，每段牙齿在 1ml 活/死染料溶液中培养细菌 (Live/Dead BacLight, Molecular Probes 公司)。在培养过程中，要贮存的牙齿段避光。用荧光显微镜 (Zeiss 公司, Axioplan 2) 在反射光下观察标记细菌，采用 24 FITC 滤镜，放大倍数为 630 和 1000。在相同条件下，未处理样品中观察到了细菌床，而根据本发明方法处理的样品完全没有细菌。在较小程度上受龋破坏的牙齿材料的情况下，只用本发明的一种溶液或一种含胃蛋白酶的溶液处理一次，即可除去以前受龋影响的牙齿区域中的细菌。
- 20
- 25

双组分溶液：

本发明的双组分体系制备如下：

	组分 A	组分 B
物理条件	液体	液体
pH	5.5	2
胃蛋白酶（来自猪胃）	0.9%	-
NaH ₂ PO ₄	1.2%	15.6%
H ₃ PO ₄	-	<6%
NaOH	<0.1%	-
羟乙基纤维素（高粘度）	0.5%	0.5%
聚乙二醇 200	-	4%
甲基对羟基苯甲酸	0.07%	-
丙基对羟基苯甲酸	0.02%	-

处理溶液通过混合 1:3 的组分 A 和 B（组分 A:组分 B）来制备，例如以合适的比例在塑料容器中依次加入两种溶液，然后充分混合两种组分。

5 混合后，处理溶液的组成如下：

	处理溶液
物理条件	液体
pH	2.1
胃蛋白酶（来自猪胃）	0.23%
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	12%
H ₃ PO ₄	<5.6
NaOH	<0.1%
羟乙基纤维素（高粘度）	0.5%
聚乙二醇 200	3%
甲基对羟基苯甲酸	0.018%
丙基对羟基苯甲酸	0.005%

处理过程：

- 1) 20s 100 μl 处理溶液
- 2) 清洗

- 3) 20s 100 μ l 处理溶液
- 4) 清洗
- 5) 20s 100 μ l 处理溶液
- 6) 清洗
- 5 7) 此后任选进行补牙治疗

无龋的证据

- 根据要求施用酶溶液，清除了龋齿上受感染的硬物质后，将拔出并处理过的牙齿气吹，固定在包埋质（Cytofix，Struers 公司）中。用内孔锯分步将贯穿
- 10 龋损害的牙齿分成几段，除去牙齿段上覆盖的包埋材料，每段牙齿在 1ml 活/死染料溶液中培养细菌（Live/Dead BacLight, Molecular Probes 公司）。在培养过程中，贮存的牙齿段避光。用荧光显微镜（Zeiss 公司，Axioplan 2）在反射光下观察标记细菌，采用 24 FITC 滤镜，放大倍数为 630 和 1000。在相同条件下，未处理样品中观察到了细菌床，而根据本发明方法处理的样品完全没有细菌。
- 15 菌。在较小程度上受龋破坏的牙齿材料的情况下，只用本发明溶液处理一次，即可完全除去以前受龋影响的牙齿区域中的细菌。

1. 一种组合物，它包含至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶以及至少一种缓冲液，其中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1 –
- 5 1:1000000，其中总酶活性至少 2U/ml。
2. 权利要求 1 所述组合物，其特征在于所述组合物包含作为蛋白酶的至少一种蛋白酶 K、胶原酶或链酶蛋白酶或以上两种或多种酶的混合物。
3. 权利要求 1 或 2 所述组合物，其特征在于所述组合物包含作为糖苷酶的至少一种溶菌酶型、 α -淀粉酶型或葡聚糖酶型的糖苷酶，或以上两种或多种酶的
- 10 混合物。
4. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少两种类型的蛋白酶和至少一种类型的糖苷酶。
5. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含蛋白酶 K、胶原酶、溶菌酶和葡聚糖酶。
- 15 6. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种溶剂。
7. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种极性溶剂。
8. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种浓
- 20 度约为 0.001-10mol/l 的缓冲液。
9. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种磷酸盐缓冲液。
10. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述组合物包含至少一种辅剂，它们选自以下辅剂中的一种或多种：
- 25 i. 络合剂
- ii. 酶底物
- iii. 酶效应物
- iv. 增稠剂
- v. 防腐剂
- 30 vi. 稳定剂。
11. 前述任一项权利要求所述组合物，其特征在于所述至少一种酶在 pH 值范

围为 1—10 之间具有酶活性。

12. 前述任一项权利要求所述组合物, 其特征在于所述至少一种酶在 pH 值范围为 5—8 之间具有酶活性。

13. 制备权利要求 1—12 中任一项所述组合物的方法, 其特征在于混合至少一种生物活性蛋白酶和至少一种生物活性糖苷酶, 所述组合物中蛋白酶与糖苷酶的酶活性比为 1000000:1—1:1000000, 总酶活性至少 2U/ml。

14. 包含至少两种酶的试剂盒, 其特征在于所述酶可溶混, 得到权利要求 1—12 中任一项所述组合物。

15. 权利要求 14 所述试剂盒, 其特征在于所述试剂盒包含独立的溶剂。

16. 包含至少一种权利要求 1—12 中任一项所述组合物和至少一种处理溶液的试剂盒, 其特征在于, 所述处理溶液包含至少一种蛋白酶, 该蛋白酶在酸性 pH 值低于 4 时具有最佳蛋白酶解催化作用的蛋白酶。

17. 权利要求 1—12 中任一项所述组合物的用途, 用于制备除龋的治疗试剂。

18. pH 值为 4.0 或更低的组合物, 它包含水、酸、胃蛋白酶和流变添加剂, 其中胃蛋白酶的浓度为 1—50000U/mg, 组合物的粘度为 10—1000mPas。

19. 权利要求 18 所述组合物, 其特征在于它还包含聚醚或两性表面活性剂, 或聚醚和两性表面活性剂的混合物。

20. 权利要求 18 或 19 所述组合物, 其特征在于所述组合物包含抑制剂。

21. 包含组分 A 和 B 的组合物, 其中

a) 组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂, 所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值, 使之高于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值;

b) 组分 B 包含水、酸、增稠剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物, 所述酸用来提供合适的 pH 值, 使之小于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值。

22. 权利要求 21 所述组合物, 其特征在于组分 A 包含的胃蛋白酶的活性小于 50000U/ml。

23. 权利要求 21 或 22 所述组合物, 其特征在于组分 A 包含小于 20mg 胃蛋白酶/ml。

24. 权利要求 21—23 任一项所述组合物, 其特征在于组分 A 包含磷酸盐缓冲液的 pH 值为 5—6。

25. 权利要求 21—24 任一项所述组合物, 其特征在于组分 B 包含磷酸的 pH

值为 1.5—4.0。

26. 权利要求 21—25 任一项所述组合物，其特征在于组分 A 包含作为增稠剂的多糖。

27. 权利要求 21—26 任一项所述组合物，其特征在于组分 B 包含聚乙二醇或甜菜碱，或二者。

28. 权利要求 21—27 任一项所述组合物，其特征在于组分 B 包含流变添加剂。

29. 酶的用途，其特征在于所述酶在 pH 值低于 7 时具有蛋白酶解活性，由此可制备除龋的处理剂。

30. 权利要求 29 所述用途，其特征在于酶在 pH 值最多为 4 时具有最佳催化作用。

31. 权利要求 29 或 30 所述用途，其特征在于所述酶是胃蛋白酶。

32. 糖苷酶在制备除龋处理剂中的用途。

33. 储存和分发液体的多室器具，其特征在于至少有一个室包含组分 A，至少有一个室包含组分 B，其中组分 A 包含水、缓冲体系和流变添加剂，所述缓冲体系用来提供合适的 pH 值，使之高于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值；组分 B 包含水、酸、流变添加剂和聚醚或两性表面活性剂或聚醚和两性表面活性剂的混合物，所述酸用来提供合适的 pH 值，使之小于胃蛋白酶最有活性时的 pH 值。