



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0519122-0 B1

(22) Data do Depósito: 28/11/2005

(45) Data de Concessão: 16/02/2016

(RPI 2354)



(54) Título: COMPOSIÇÃO ORAL PARA REDUZIR O CRESCIMENTO DE PLACA BACTERIANA EM UMA CAVIDADE ORAL DE UM INDIVÍDUO

(51) Int.Cl.: A61K 8/66; A61Q 11/00; A61K 8/49

(30) Prioridade Unionista: 16/12/2004 US 60/636,787, 16/12/2004 US 60/636,788, 06/10/2005 US 11/244,663

(73) Titular(es): COLGATE-PALMOLIVE COMPANY

(72) Inventor(es): HARSH M. TRIVEDI, TAO XU, KIMBERLEE PANALIGAN

“COMPOSIÇÃO ORAL PARA REDUZIR O CRESCIMENTO DE PLACA BACTERIANA EM UMA CAVIDADE ORAL DE UM INDIVÍDUO”

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

5 Este pedido reivindica prioridade aos Pedidos de Patente Provisórios dos Estados Unidos de Números de Série 60/636.788 e 60/636.787 ambos depositados aos 16 de dezembro de 1004, cujos conteúdos são aqui incorporados como referências.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

10 Biofilme de placa bacteriana ou placa bacteriana dental é um depósito mole que se forma sobre as superfícies da cavidade oral, tal como tecido e dentes, e é compreendido de um acúmulo de bactérias e saliva bem como de subprodutos de alimento. Placa bacteriana adere tenazmente nos pontos de irregularidade ou de descontinuidade (e.g, em cálculo, na linha da
15 gengiva, sobre a superfície da língua e dentro de fissuras, e semelhantes). Além de ser de má aparência, a placa bacteriana está implicada na ocorrência de gengivite e de outras formas de doença periodontal.

 Para a maior parte, as bactérias na cavidade oral são uma parte de um biofilme protetor que essencialmente as torna resistentes à maioria dos
20 tratamentos. Poucas pessoas limpam sua língua após a escovação, embora tenha sido mostrado que tanto quanto 50 por cento das bactérias da boca podem ser encontradas nela. Adicionalmente, para muitas pessoas, escovação ou raspagem da língua é difícil por causa do reflexo de ânsia de vômito. Portanto, limpeza não-mecânica da língua é elevadamente desejável para
25 aquelas pessoas que não são capazes de fazê-la com um dispositivo mecânico.

 Uma ampla variedade de agentes têm sido sugerida na arte para retardar a formação de placa bacteriana e as infecções orais e doença dental associadas com a formação de placa bacteriana.

 Apesar da arte anterior extensiva relacionada com

composições orais e dentifrícias antibacterianas, ainda há uma necessidade na arte de formulação de um produto capaz de efeito intensificado na retardação do acúmulo de placa bacteriana.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção inclui uma composição oral contendo um agente anti-adesão, preferivelmente uma cisteína protease e mais preferivelmente ficina. Em outro aspecto, a cisteína protease está em combinação com um ou mais ingredientes, tais como agente antibacteriano e tensoativo. O agente anti-adesão mitiga a interação entre a superfície da
10 cavidade oral e os materiais formadores de placa, tais como bactérias.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona um tipo específico de enzima para prevenir, interromper, ou pelo menos inibir a ligação ou adesão ou fixação de material formador de placa bacteriana, incluindo material
15 biológico, compostos químicos, microorganismos, e bactérias em superfícies de uma cavidade oral. As enzimas para uso na presente invenção inibem o desenvolvimento de camada bacteriana que resultaria em desenvolvimento de placa bacteriana. Acredita-se que tais enzimas funcionam por fixação em superfícies orais, incluindo tecido macio, e assim, inibem o crescimento de
20 placa bacteriana ou seu crescimento posterior. Os termos "anti-adesão" e "anti-fixação" são aqui usados intercambiavelmente. Enzimas adequadas para uso na invenção incluem enzimas protease anti-adesão, desejavelmente cisteína protease e são mais diretamente selecionadas do grupo de ficina, papaína e crilase. Preferivelmente, o agente anti-adesão compreende ficina e
25 uma ou mais outras enzimas, tais como outra(s) enzima(s) anti-adesão ou outro tipo de enzima, tal como bromelaína, quimiotripsina, alcalase, amilases, glicose oxidase, celulasas, lipases, e/ou outra protease além da cisteína protease anti-adesão.

Ficina para uso na invenção pode ser obtida por qualquer meio

a partir de. Preferivelmente, é obtida por secagem e filtração do látex do gênero *Ficus*, incluindo *Ficus glabrata*.

A quantidade de agente anti-adesão presente na composição depende da aplicação de uso. Está presente em menos do que 100 partes em peso em uma composição ou em um veículo adequado. O agente anti-adesão está desejavelmente presente em uma quantidade em peso de pelo menos 0,01 parte por 100 partes da composição. Em um aspecto mais amplo, a enzima de anti-adesão está presente em uma quantidade em peso de cerca de 0,01 a cerca de 10 partes em peso para cada 100 partes em peso da composição total. Mais desejavelmente é pelo menos 0,05 parte; e preferivelmente 0,03 a 0,30 parte adequado para uma composição de pasta.

Um ou mais outros agentes anti-placa bacteriana podem estar presentes em uma quantidade total eficaz anti-placa bacteriana. Agentes apropriados incluem sem limitação, sais de estanho, de cobre, de magnésio e de estrôncio, copolióis de dimeticona tal como copoliol de cetil-dimeticona, glicoamilase, glicose oxidase, uréia, lactato de cálcio, gliferosfosfato de cálcio, poli(acrilatos de estrôncio) e agentes quelantes tais como ácido cítrico e ácido tartárico e seus sais de metal alcalino.

As composições podem conter outros agentes e materiais, incluindo quaisquer agentes ativos ou cosméticos e/ou excipientes ou aditivos para o cuidado oral convencionais. For exemplo, agente antibacterianos podem estar presente incluindo cloreto de benzetônio, cloreto de diisobutil-fenóxi-etóxi-etil-dimetil-benzil-amônio, e cloreto de cetil-piridínio bem como aqueles listados na Patente US 5.776.435 de Gaffar et al., cujo conteúdo é aqui incorporado como referência.

As composições da invenção também podem incluir abrasivos, tais como sílica ou perlita; umectantes, tais como glicerina, sorbitol, xilitol, e/ou propileno glicol; agentes espessantes, tensoativos, uma fonte de íons fluoreto, um policarboxilato aniônico sintético, um agente aromatizante,

agentes antitártaro, agentes colorantes, dessensibilizadores (tal como nitrato de potássio), agentes branqueadores, conservantes, silicones, e compostos de clorofila. Estes aditivos, quando presentes, são incorporados na composição oral em quantidades que substancialmente não afetam adversamente as propriedades e as características desejadas.

A composição para o cuidado oral da invenção pode ser preparada em qualquer maneira convencional. A técnica de preparação necessariamente variará dependendo da forma de liberação final desejada, que pode incluir qualquer uma conhecida para uma formulação para cuidado oral, tal como pastas, géis, suspensões, confeitos (gomas, balas, pastilhas, e losangos), fitas, filmes, enxaguatórios e soluções de lavagem, e tabletes.

Por exemplo, uma pasta pode ser preparada como segue: os umectantes (e.g, glicerina, sorbitol, propileno glicol, e poli(etileno-glicol)) são dispersados na água em um misturados convencional sob agitação. Na dispersão são adicionados a enzima ou enzimas, espessantes orgânicos (tal como goma xantana), qualquer policarboxilato aniônico, quaisquer sais (tais como agentes anticáries fluoreto de sódio), sais anticálcico pirofosfato de tetrassódio, tripolifosfato de sódio e quaisquer edulcorantes; a mistura resultante é agitada até ser formada uma fase de gel homogênea. Na fase de gel são adicionados um pigmento (tal como TiO_2) e qualquer ácido ou base requerido para ajustar o pH. Estes ingredientes são misturados até ser obtida uma fase homogênea. A mistura é transferida para um misturador a vácuo / de velocidade alta; no qual, os ingredientes espessante sílica inorgânica e tensoativo são adicionados na mistura. O abrasivo sílica de baixa absorção de óleo é adicionado neste momento, juntamente com outros abrasivos a serem usados na composição. A mistura é então misturada em velocidade alta por de 5 a 30 minutos, sob vácuo de cerca de 2,7 a 6,7 kPa, preferivelmente de cerca de 4,0 kPa. O produto resultante é em cada caso um produto de gel, de pasta, homogêneo, semi-sólido, ou extrusável.

A presente invenção proporciona formulações úteis mantenedoras e estabilizadoras da atividade da enzima protease ou pelo menos minimizadoras da perda de atividade. Vantajosamente, agentes antibacterianos são combinados com a enzima protease na formulação para proporcionar resultados sinérgicos baseados em ambas as funcionalidades de anti-adesão e antibacteriana. A funcionalidade da composição da presente invenção inclui ambas as ações de anti-adesão e de disrupção de placa bacteriana. Em um aspecto, ficina é preferivelmente selecionada da primeira e papaína é preferivelmente selecionada da última. Em outro aspecto, um modo de ação de anti-adesão proporcionou uma eficácia de anti-placa bacteriana em um estudo clínico em humano tal como exibido por ambas ficina e papaína, com ficina demonstrando eficácia maior do que a da papaína. A invenção proporciona enzima protease possuindo atividade de anti-adesão para bactérias de placa oral e composições adequadas para tratamento oral, que inclui veículo de tratamento possuindo outras funcionalidades que também estabilizam a enzima protease. Em resumo, a enzima protease preferida derivada de figueiras (ficina) demonstrou uma atividade de anti-adesão em soluções simples, em dentifícios líquidos e em pastas integrais. O composto mostra prevenção de adesão de bactérias de espécie única e de espécie de cultura mista sobre controles negativos sobre superfícies de poliestireno, superfícies de hidróxi-apatita, e dentes reais. O composto adicionalmente mostra uma capacidade de modificar superfícies semelhantes a dente; a saber, prismas de germânio pela redução da energia de superfície de tais superfícies. Este composto pode ser usado sozinho ou como misturas com outras enzimas ou agentes antibacterianos. A composição oral da presente invenção é utilizável para tratar qualquer corpo individual possuindo uma cavidade oral, incluindo criatura, humana e animal; e a cavidade oral inclui boca, língua, tecido, palato e esmalte, e semelhante. A composição oral pode ser contatada com a cavidade oral em qualquer um de uma variedade de

métodos e não é limitada ao contato por qualquer método específico. Exemplos incluem veículo líquido, tal como enxaguatório bucal; veículo de pasta, tal como pasta de dente; dentífrico; refrescantes e glóbulos bucais; goma de mascar; brinquedos; artigos mastigáveis; géis e composições para serem pintados sobre superfície; artigos de consumo, artigos edíveis e confeitos.

EXEMPLO I – Formulação Dentifrícia Contendo Enzima de Anti-adesão

Enzimas são formuladas em uma formulação de base de sílica. Tabela 1 dá as formulações dentifrícias exemplares. Todos os valores são percentagens em peso, a não ser que sejam indicados de outro modo. Ingredientes de fórmula chave da formulação são enzimas, ficina, papaína e crilase a 0,226% em peso, um sistema abrasivo misto de sílica para limpeza superior a 25% em peso, e um sistema tensoativo misto de 0,5% de SLS / 1,5% de pluronic e 1% de betaína, cada um em peso. Um aromatizante de hortelã-pimenta - hortelã que é estável com enzimas também está incluído. As composições são cada uma selecionadas para liberarem atributos (tais como espuma, estética e sensação bucal) sem comprometerem a atividade das enzimas. Para a concentração de enzima, um estudo de resposta à dose selecionado para selecionar os níveis efetivos de enzimas foi realizado para selecionar as formulações clínicas. Baseado em estudos *in vitro*, os produtos clínicos foram preparados no OPTC (Oral Process Technology Center) sob condições GMP.

Tabela 1: Formulações de Dentifrício Contendo Enzimas

INGREDIENTE	Ficina	Papaína	Crilase
Sorbitol 70%	24,374	24,374	24,374
Glicerina Sintética 99,5% - USP	20,0	20,0	20,0
Água Purificada	17,0	17,0	17,0
Sílica Tipo Dental (Syloident XWA 650 - USP)	17,0	17,0	17,0
Sílica Tipo Dental (Zeodent 115)	8,000	8,000	8,000
Poli(etileno-glicol) 600 (PEG-12) NF	3,000	3,000	3,000
Sílica Precipitada Amorfa Sintética No.2 -Zeodent 165	2,500	2,500	2,500
Lauril Sulfato de Sódio 29%	0,5	0,5	0,5
Poloxâmero 407	1,500	1,500	1,500
Sódio-CMC 2000S - 12 USP	1,200	1,200	1,200

Hortelã Natural e Mista Artificial	L100	1,100	1,100
Cocoamidopropil Betaina 30%	1000	1,000	1,000
Monofluorofosfato de Sódio - USP	0,760	0,760	0,760
Pirofosfato de Tetrassódio - Fino (FCC)	0,500	0,500	0,500
Sacarina Sódica USP	0,500	0,500	0,500
Goma Xantana - NF	0,400	0,400	0,400
Poly OXWSR-N 750	0,100	0,100	0,100
Blue Poly 50	0,300	0,300	0,300
Solução de cor Azul	0,040	0,040	0,040
Ficina	0,226	0	0
Papaína	0	0,226	0
Crilase	0	0	0,226
TOTAL	100	100	100

EXEMPLO II: Estudo de Eficácia de Anti-fixação - Boca Artificial

Para testar a eficácia dos agentes ativos em fórmula de pasta de dente, discos de hidróxi-apatita (SHAP) revestidos com saliva serviram como os dentes artificiais, e uma cultura de bactérias consistindo das bactérias orais principais em humanos foi fluída através do sistema em uma velocidade consistente com a saliva humana *in vivo*. Oito discos para cada tratamento foram então posicionados na célula de fluxo de quimiostato e cultura de bactérias orais foi permitida fluir através dos discos durante a noite (20-24 horas) para ver se os agentes ativos revestidos sobre as superfícies de disco preveniriam a formação de biofilme. Após 24 horas os discos de SHAP foram removidos e a quantidade de bactérias foi quantificada. As ABS_{610} das soluções foram então medidas e analisadas. Este resultado deu uma estimativa da quantidade de bactérias que foram aderidas sobre os discos de SHAP. Deste valor, a efetividade de anti-adesão percentual das pastas é avaliada em relação ao controle negativo de comparação. Duas concentrações de protease foram testadas para cada uma das três proteases; a saber 0,226 por cento em peso e 0,065 por cento em peso. O experimento de anti-adesão em boca artificial sugere, em média, que todas as três tiveram eficácia acima daquela das pastas de controle negativo, que não contêm qualquer uma das enzimas. Contudo, baseado em análise estatística, a eficácia de crilase não foi demonstrada. Papaína e ficina mostraram eficácia em concentração de 0,226%. Ficina mostrou eficácia similar a 0,065% e 0,226%. Baseado nestes

avaliação da placa bacteriana os voluntários continuaram com a higiene oral normal (escovação de toda a boca duas vezes ao dia) usando produto de lavagem. Os resultados são mostrados abaixo.

Avaliação da placa bacteriana (MGMPI)	Pasta de dente com enzima (0,226% de Ficina)	Pasta de dente de placebo de comparação
Avaliação média de 24 h	14,55 ± 8,50 *	30,38 ± 17,99

* Estatisticamente significativo ($p < 0,05$) do placebo

Um teste-t foi usado para determinar a existência de diferenças entre os produtos ($p < 0,05$). O dentífrico com enzima (0,226% de ficina) é estatisticamente diferente do placebo de comparação. O dentífrico contendo ficina mostrou uma redução clínica de placa bacteriana por um modo de ação de anti-adesão.

B. Determinação do Índice de Placa Bacteriana da Margem Gengival Modificado (MGMPI) - Produtos de Teste 0,226% de Papaína e Controle Negativo de Comparação

Este procedimento clínico foi idêntico àquele descrito acima para ficina, exceto pelo fato de que os 14 voluntários que participaram deste estudo o completaram.

Avaliação da placa bacteriana (MGMPI)	Pasta de dente com enzima (0,226% de Papaína)	Pasta de dente de placebo de comparação
Avaliação média de 24 h	17,07 ± 7,03*	30,38 ± 17,95

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$) do placebo

Um teste-t foi usado para determinar a existência de diferenças entre os produtos ($p < 0,05$). O dentífrico com enzima (0,226% de papaína) é estatisticamente diferente do placebo de comparação. O dentífrico contendo papaína mostrou uma redução clínica de placa bacteriana por um modo de ação de anti-adesão.

Comparação dos resultados dos dois estudos clínicos, foi adicionalmente concluído que o dentífrico contendo ficina mostrou uma eficácia de anti-adesão direcionalmente melhor do que a do dentífrico contendo papaína.

As bateladas GMP produzidas foram envelhecidas por 6 semanas a 49°C. A atividade enzimática de cada uma das enzimas permaneceu quase não modificada em comparação com os números de atividade inicial.

5 EXEMPLO IV: Formulação Dentifricia Contendo Enzima de Anti-adesão e
 Agente Antibacteriano

10 O procedimento do Exemplo I acima é repetido, exceto que a quantidade de água é reduzida e substituída por uma quantidade correspondente de agente antibacteriano exemplar, CPC. Conseqüentemente, água foi reduzida para 16,7 por cento em peso e CPC foi incluído em uma quantidade de 0,3 por cento em peso para cada uma das três formulações, como na Tabela 1.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição oral caracterizada pelo fato de compreender um agente anti-adesão compreendendo ficina em combinação com pelo menos uma dentre papaína e crilase.
- 5 2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que, baseando-se em 100 partes em peso da composição oral, o agente anti-adesão está presente em uma quantidade de até cerca de 10 partes.
3. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato do agente anti-adesão estar presente em uma quantidade em peso de
10 pelo menos 0,01 parte por 100 partes da composição.
4. Composição, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que, baseando-se em 100 partes em peso da composição oral, o agente anti-adesão está presente em uma quantidade de 0,01 a 10 partes.
5. Composição, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada
15 pelo fato de que, baseando-se em 100 partes em peso da composição oral, o agente anti-adesão está presente em uma quantidade de pelo menos 0,05 partes.
6. Composição, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada
20 pelo fato de que, baseando-se em 100 partes em peso da composição oral, o agente anti-adesão está presente em uma quantidade de 0,03 a 0,3 partes.
7. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de adicionalmente incluir pelo menos uma enzima diferente de cisteína protease.
8. Composição, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada
25 pelo fato de que a enzima diferente é pelo menos uma selecionada do grupo consistindo em amilases, lipases, nucleases, e outras proteases.
9. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizada pelo fato de compreender ainda um agente antibacteriano.

10. Composição, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o agente antibacteriano compreende um agente antibacteriano catiônico.

5 caracterizada pelo fato de que o agente antibacteriano compreende um composto de amônio quaternário.

12. Composição, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o agente antibacteriano compreende um haleto de alquil-piridínio.

10 13. Composição, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o agente antibacteriano inclui um cloreto de cetilpiridínio.

RESUMO

“COMPOSIÇÃO ORAL PARA REDUZIR O CRESCIMENTO DE PLACA BACTERIANA EM UMA CAVIDADE ORAL DE UM INDIVÍDUO”

5 A presente invenção inclui uma composição oral contendo um agente anti-adesão, preferivelmente uma cisteína protease e mais preferivelmente ficina. Em outro aspecto, a cisteína protease está em combinação com um ou mais ingredientes, tais como agente antibacteriano e tensoativo. O agente anti-adesão mitiga a interação entre uma cavidade oral
10 de indivíduo e os materiais formadores de placa bacteriana.