(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111148503 B
(45)授权公告日 2022.08.30

(21)申请号 201880063216.9
(22)申请日 2018.08.03
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111148503 A
(43)申请公布日 2020.05.12
(30)优先权数据
1757537 2017.08.04 FR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.03.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2018/071204 2018.08.03
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/025622 FR 2019.02.07
(73)专利权人 皮埃尔法布雷医药公司
地址 法国布洛涅-比扬古
(72)发明人 C·菲奥里尼 B·法布雷
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟 刘彬娜
(51)Int.Cl.
A61K 8/49(2006.01)
A61Q 11/00(2006.01)
A61K 8/69(2006.01)
A61K 8/9789(2017.01)
A61K 8/21(2006.01)
A61K 31/455(2006.01)
A61K 36/61(2006.01)
A61P 1/02(2006.01)
(56)对比文件
US 4063712 A,1977.12.20
CN 101616714 A,2009.12.30
CN 106667843 A,2017.05.17
FR 2915386 A1,2008.10.31
审查员 吕飞
权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

用于口腔应用的包含桃金娘提取物和氟盐的组合物

(57)摘要

本发明涉及一种包含桃金娘提取物和氟盐的组合物,并且涉及其作为药物的用途,特别是作为用于预防牙菌斑形成和/或用于减少牙菌斑的药物的用途。

CN 111148503 B

1.一种包含桃金娘提取物和至少一种氟盐的组合物,其特征在于,所述桃金娘提取物包含相对于所述提取物的干物质总重量以干重计1至5%的黄酮、0.5至10%的鞣质、0.5至5%的三萜烯,所述桃金娘提取物在所述组合物中的浓度为相对于所述组合物的总重量以桃金娘干提取物的重量计0.005%至3%,和

所述氟盐为尼克甲醇氢氟酸盐,所述氟盐在所述组合物中的浓度为50ppm至10000ppm的氟。

2.根据权利要求1所述的组合物,其用于口腔应用。

3.根据权利要求1所述的组合物,其为牙膏、凝胶、喷雾剂或漱口剂的形式。

4.根据权利要求2所述的组合物,其为牙膏、凝胶、喷雾剂或漱口剂的形式。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的组合物在制备药物中的用途。

6.根据权利要求5所述的用途,其中所述药物用于预防牙菌斑形成和/或减少牙菌斑。

用于口腔应用的包含桃金娘提取物和氟盐的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及包含桃金娘提取物(extrait de myrte)和氟盐的口腔组合物及其在治疗口腔疾病中的用途,特别是用于预防和/或减少牙齿生物膜的形成和积累中的用途。

背景技术

[0002] 口腔是一个真正的生态环境,唾液、食物、空气和细菌产物通过口腔并得以停留。

[0003] 在口腔中,细菌采取两种不同的生活方式:要么在浮游状态下生存,在这种状态下孤立的生物在口腔环境中漂浮,要么通过附着在牙齿表面并在群落中生长而形成生物膜。

[0004] 牙齿和牙周健康基于平衡状态,其中细菌种群与宿主共存,而对宿主组织没有任何损害。破坏这种平衡,即当牙齿生物膜群落的组成和/或代谢活性受到干扰时,可能导致许多口腔疾病,特别是牙周病变。

[0005] 牙周病变通常首先出现在牙龈区域,引起牙龈炎,边缘牙龈发炎。然后,它们可能演变成影响整个牙周的牙周炎,如果不治疗,将变得不可逆转。

[0006] 牙龈炎有不同形式:由于口腔卫生差导致的牙龈炎,急性坏死性溃疡性牙龈炎和非牙菌斑引起的牙龈炎(与皮肤病有关或仅限于牙龈和/或整个口腔粘膜,具有过敏性或感染性)。

[0007] 牙齿生物膜(或牙菌斑)是一种异质性堆积物,附着在牙齿表面或位于牙龈-牙齿间隙中,由富含需氧或厌氧细菌的微生物群落组成,并覆盖有微生物和唾液来源的聚合物的细胞间基质。它是一个复杂的细菌组织,其形成的早期阶段对应于糖蛋白在浸润在唾液中的硬组织或软组织表面上的沉积。该第一层被称为获得性外源膜(pellicule exogène acquise,PEA)或“唾液生物膜”。接下来,其被微生物定植,微生物将根据理化、营养或相关标准自行组织,因此在牙齿和常用牙科材料的表面形成柔软、附着、坚韧、黄白色的沉积物。

[0008] 根据其相对于牙龈的解剖位置定义了两种类型的菌斑:龈上菌斑和龈下菌斑。这两种类型的斑块构成两个不同的微环境。龈上环境由唾液浸润,而龈下环境由龈沟液浸润。龈上环境主要是需氧的,而龈下环境几乎完全是厌氧的。龈下空间是死端,冲洗不到,并且能够分解已建立的细菌种群的机械力很少。相反,龈上区域连续地被唾液清扫,暴露于口腔特有的所有磨损机制(咀嚼、吞咽、发声),并且可以直接获得卫生措施。

[0009] 龈上和龈下菌斑也通过其潜在的致病性区分:龈上菌斑特别涉及龋病变,而龈下菌斑则与牙龈和牙周病变有关。在龈上菌斑中发现的主要细菌是变形链球菌(Streptococcus mutans)、血链球菌(Streptococcus sanguis)、轻型链球菌(Streptococcus mitis)、远缘链球菌(Streptococcus sobrinus)、乳杆菌属(Lactobacillus sp.)和放线菌属(Actinomyces sp.)(粘性放线菌(A.viscosus))。根据其在牙齿或上皮侧的位置,龈下菌群的组成明显不同。观察到存在与牙周病变密切相关的牙龈卟啉单胞菌(Porphorymonas gingivalis)和具核梭杆菌(Fusobacterium nucleatum)。

[0010] 杀菌防腐剂常用于卫生组合物中以减少菌斑。但是,杀菌剂并不完全令人满意,因为它们的强力防腐作用可能导致口腔中天然细菌种群的失衡。的确,防腐产品以猛烈和快

速的方式作用于微生物。如果使用太频繁，它们也可能引起耐受性。

[0011] Lavera销售含有氟和桃金娘纯露(hydrolat de myrte)的牙膏。纯露是通过对芳香或非芳香植物的各个部分进行蒸汽蒸馏而获得的植物蒸馏水。它代表再浓缩并与精油分离的极性水相。

[0012] 文献FR2915386描述了富含多酚的葡萄籽的酸性水提取物(即含有至少50％或甚至90％的多酚)与氟盐组合用于治疗口腔疾病。

[0013] 文献FR2318632描述了氟盐及其对牙菌斑的抑制作用。

[0014] 文献WO2008/065382描述了桃金娘在宠物中治疗牙菌斑的用途。该文献提及桃金娘和不同类型的提取物，但未指定其质量或生产方法，更不用说与之相关的活性。

[0015] 因此，需要开发能够限制细菌粘附(并因此发展生物膜)的试剂，从而能够保持良好的口腔健康而没有副作用并且不会干扰口腔生态系统的平衡。这些试剂将能够在细菌细胞与所有口腔表面：硬表面(例如牙釉质和/或牙本质)、粘膜以及细菌细胞之间相互作用的水平上起作用。

发明内容

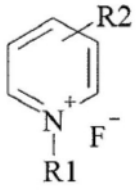
[0016] 令人惊讶地，已经发现桃金娘提取物与氟盐的组合提供了有效的协同抗粘附作用，其最终确保了尊重口腔细菌菌群平衡的抗生物膜作用。

[0017] 因此，本发明的目的是一种包含桃金娘提取物和至少一种氟盐的组合物。

[0018] 特别地，这种组合物旨在用于口腔应用。

[0019] 根据本发明的氟盐特别地选自氟化钾、氟化钠和氟化锡、氟化胺、氟化季铵。

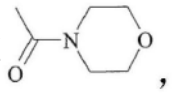
[0020] 优选地，根据本发明的氟盐为下式(I)的氟化胺：

[0021] 

(I)

[0022] 其中：

[0023] R1代表氢原子或(C_1-C_6)烷基；

[0024] R2为CH_2OH、CO_2((C_1-C_6)烷基)、$CONH(CH_2)_2OH$或 

，

[0025] 并且R2位于相对于氮原子的2或3位。

[0026] 对于本发明的目的，“(C_1-C_6)烷基”是指含有1至6个，特别是1至4个碳原子的饱和、直链或支链的烃链。示例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基或己基。

[0027] 在一个实施方案中，R1为H。

[0028] 在一个特别优选的实施方案中，根据本发明的氟盐为尼克甲醇氢氟酸盐(fluorhydrate de nicométhanol)（fluorinol®），其对应于式(I)的化合物，其中：R1＝H且R2＝CH_2OH位于相对于氮的3位。

[0029] 根据本发明的桃金娘提取物可以获得自桃金娘科的植物，更特别地是桃金娘属的

植物,更确切地说是香桃木(Myrtus communis)物种,包括香桃木(Myrtus communis)物种。

[0030] 可以通过本领域技术人员已知的所有方法,从整个植物或植物的一个或多个部分,特别是地上部分,叶子和/或花和/或果实中提取根据本发明的桃金娘提取物。所用的叶子、地上部分和果实优选为干燥的。

[0031] 在使用果实和叶子的混合物的情况下,叶子与果实的重量比可以在60/40至95/5,例如等于90/10。

[0032] 在一个实施方案中,所述提取物仅从叶子获得。

[0033] 该提取物可以通过溶剂提取而获得。

[0034] 根据本发明的桃金娘提取物的制备可以包括以下步骤:

[0035] -破碎植物或植物的部分,例如桃金娘的叶子、地上部分、花和/或果实;

[0036] -用溶剂特别是极性溶剂提取地上部分、叶子和/或破碎的果实;

[0037] -通过固/液分离,特别是通过过滤、离心或脱水来回收提取溶液;

[0038] -通过蒸发或干燥提取物(通过蒸发或冷冻干燥)浓缩回收的溶液;和

[0039] -通过添加支撑物(support)使干提取物标准化。

[0040] 根据本发明的极性溶剂特别可以为水、C_1-C_4醇、丙酮、水-醇混合物、丙酮-水混合物或水-丙二醇混合物。极性溶剂为水/乙醇混合物,特别是50%(v/v)的水/乙醇混合物。

[0041] 在一个实施方案中,植物或植物的部分的重量比将为相对于溶剂的重量以重量计1至20,特别是1至4。

[0042] 提取温度可以于室温(10℃至35℃)和溶剂的沸腾温度或亚临界状态下的水的温度(120℃至220℃)之间。

[0043] 提取时间,特别是回流提取,通常为1小时至24小时。可以在减压下实现通过蒸发回收的溶液的浓缩。蒸发温度将取决于所使用的溶剂,并且可能在40至100℃。

[0044] 在一个实施方案中,延长蒸发直到获得粉末。然后可以将粉末溶解以获得液体提取物。

[0045] 在另一个实施方案中,有可能在蒸发步骤中加入高沸点溶剂,例如甘油、丙二醇、丁二醇或二乙二醇单乙基醚(transcutol),特别是丙二醇。在水和溶剂蒸发之后,获得的提取物则为液体提取物的形式。

[0046] 根据本发明的液体提取物将包含1%至50%(w/w),特别是8%至12%,特别是10%的桃金娘干提取物。根据本发明的桃金娘提取物可以特别包括以下化合物:

[0047] -由乙酸桃金娘烯酯、1,8桉树脑、里哪醇、α-蒎烯、柠檬烯、米尔托(myrto)和桃金娘烯醇组成的精油;

[0048] -酚类化合物:特别是:

[0049] • 鞣质,特别是缩合的鞣质和/或鞣花鞣质(包括月见草素B(l'oenothéine B)、洋紫花素D2(l'eugeniflorine D2)、特里马素I和II(tellimagrandines I et II)以及没食子酰基-葡萄糖苷(galloyl-glucosides)),

[0050] • 黄酮,特别是选自山柰酚、槲皮素及其糖基化衍生物(槲皮素3-半乳糖苷、槲皮素3-葡萄糖苷、槲皮素6″-O-没食子酰基半乳糖苷)、杨梅素及其糖基化衍生物(杨梅素3-鼠李葡萄糖苷、杨梅素3'-葡萄糖苷、杨梅素3-鼠李糖苷、杨梅素3-半乳糖苷、杨梅素3,3'-二半乳糖苷、杨梅素3-O-β-d-木糖苷、杨梅素6″-O-没食子酰基半乳糖苷)、杨芽黄素和4',5-

二羟基-7-甲氧基-6,8-二甲基黄酮(sideroxyline)中的一种或多种化合物，

[0051] • 香豆素(包括七叶内酯(l'esculétol)和七叶苷(l'esculoside))，和/或

[0052] • 酰基间苯三酚(包括香桃木醇(myrtucommulone))；和

[0053] -酚酸，

[0054] -三萜烯和甾醇，特别是选自松萝酸衍生物(松萝酮A(usnone A))、桦木醇、cearoine(2,5-二羟基-4-甲氧基二苯甲酮)、古柯二醇、乌索酸、齐墩果酸、科罗索酸、阿江榄仁酸和的β-谷固醇中的一种或多种化合物。

[0055] 在一个实施方案中，根据本发明的桃金娘提取物将包含相对于干物质的总重量以干重计1％至50％，特别地10％至40％或20％至30％的酚类化合物。

[0056] 在酚类化合物中，特别提及黄酮、酰基间苯三酚和鞣质。

[0057] 在一个实施方案中，根据本发明的桃金娘提取物将包含相对于干物质的总重量以干重计0.1至10％，特别是1至5％或2至3％的黄酮类。

[0058] 黄酮的量可以通过本领域技术人员熟知的所有方法，特别是欧洲药典(01/2015:2427)中描述的那些方法进行测量。

[0059] 在一个实施方案中，根据本发明的桃金娘提取物将包含相对于干物质的总重量以干重计0.15％至30％，特别是0.5％至10％，特别是1％至5％的鞣质。

[0060] 鞣质的量可以通过本领域技术人员熟知的所有方法，特别是欧洲药典(01/2008:20814)中描述的那些方法进行测量。

[0061] 在一个实施方案中，根据本发明的桃金娘提取物将包含相对于干物质的总重量以干重计0.1至30％，特别是0.5至10％，特别是1至5％的三萜烯。

[0062] 三萜烯的量可以通过本领域技术人员熟知的所有方法，特别是欧洲药典中描述的那些方法来测量。

[0063] 在一个实施方案中，根据本发明的桃金娘提取物将包含相对于所述提取物的干物质的总重量以干重计1至5％，特别是2至3％的黄酮，和/或相对于所述提取物的干物质的总重量以干重计0.5至10％，特别是1至5重量％的鞣质，和/或相对于所述提取物的总重量以干重计0.5至5％，特别是1至5％三萜烯。

[0064] 优选地，根据本发明的提取物包含相对于所述提取物的干物质的总重量以干重计1至5％的黄酮，0.5至10％的鞣质，0.5至5％的三萜烯。

[0065] 根据本发明，术语“黄酮”特别是指天然存在于桃金娘中的黄酮，特别是山柰酚、杨梅素及其糖苷、槲皮素及其糖苷、杨芽黄素和4',5-二羟基-7-甲氧基-6,8-二甲基黄酮。

[0066] 根据本发明，术语“鞣质”是指天然存在于桃金娘中的鞣质，特别是缩合且可水解的鞣质(例如月见草素B、洋紫花素D2和特里马素I和II)、鞣花鞣质和相关化合物如没食子酸和3,5-二-O-没食子酸。

[0067] 术语“酰基间苯三酚”特别是指香桃木醇A、B′、B、C、D、E、F、S、isoS。

[0068] 根据本发明的组合物包含协同量的桃金娘提取物和氟盐。协同作用是指与分别包含仅桃金娘提取物或仅氟盐的两种等同组合物的加和效果相比，桃金娘提取物和氟盐的组合的效果更优异。如本申请的实施例中所述，可以通过测量组合物对细菌粘附至牙齿表面(或模拟牙齿的表面)的作用来评估协同作用。与两种等同组合物，但分别包含仅氟盐和仅桃金娘提取物的加和的抗粘附作用相比，特别是当根据本发明的组合物具有大于1log，特

别是大于2log,特别是1至3log的抗粘附作用时,注意到协同作用。

[0069] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物包含相对于所述组合物的总重量以重量计0.005%至3%(w/w),特别是0.01%至1%,特别是0.02%量的桃金娘干提取物。

[0070] 本发明的组合物包含相对于所述组合物的总重量以重量计1%至10%(w/w),特别是3%至7%,特别是5%量的氟盐,特别是尼克甲醇氢氟酸盐。

[0071] 根据本发明的组合物包含50ppm至10000ppm,特别是1000ppm至2000ppm,特别是1350ppm的氟。

[0072] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物包含0.005至2%(w/w),特别是0.01至1%,特别是0.02%量的桃金娘提取物,以及1至10%(w/w),特别是3至7%,特别是5%量的氟盐,特别是尼克甲醇氢氟酸盐。

[0073] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物包含0.005至2%(w/w),特别是0.01至1%,特别是0.02%量的桃金娘提取物,以及50至10000ppm,特别是1000至2000ppm,特别是1350ppm量的氟。

[0074] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物包含0.005至1%的三萜烯和/或0.005至1%的黄酮和/或0.005至1%的鞣质。例如,0.01至0.05%的三萜烯和/或0.01至0.05%的黄酮和/或0.01至0.05%的鞣质(基于所述组合物以w/w计)。优选地,根据本发明的组合物包含0.005至1%的三萜烯、0.005至1%的黄酮和0.005至1%的鞣质(相对于所述组合物以w/w计)。更特别地,0.01至0.05%的三萜、0.01至0.05%的黄酮和0.01至0.05%的鞣质(相对于所述组合物以w/w计)。

[0075] 根据本发明的口腔组合物或用于口腔应用的组合物被定义为配制为能够在口腔中施用的任何组合物。

[0076] 根据本发明的组合物可以特别地为漱口剂、凝胶或牙膏、牙龈凝胶、口香糖、滴剂、牙线、挤出胶囊、牙刷毛、喷雾剂、粘附敷料、浸渍的擦布、假牙和假体的粘附剂或预防性抛光膏的形式。

[0077] 在一个实施方案中,根据本发明的口腔组合物为牙膏、凝胶、喷雾剂或漱口剂的形式,优选为牙膏或漱口剂的形式。

[0078] 在一个优选的实施方案中,根据本发明的组合物为牙膏的形式。然后它可以包括本领域技术人员熟知的适用于此类组合物的任何药学上可接受的赋形剂。

[0079] 根据本发明的牙膏形式的组合物可以特别包含:发泡剂例如硫酸盐,特别是月桂基硫酸钠、酶、维生素、矿物质例如钙、调味剂、抛光剂例如二氧化硅、碳酸氢钠或磷酸钙、防腐剂、着色剂和/或增稠剂。

[0080] 根据本发明的牙膏形式的组合物还可包含其他活性成分例如抗菌剂,例如三氯生或洗必泰,或抗生物膜剂例如蔓越莓提取物(或蔓越橘(Vaccinium niacrocarpon))。

[0081] 根据本发明的组合物除了氟盐和桃金娘提取物以外不包含任何活性成分。

[0082] 本发明进一步涉及桃金娘提取物和至少一种氟盐在制备组合物,特别是口腔组合物中的用途。

[0083] 本发明还涉及根据本发明的组合物用作药物的用途。

[0084] 本发明进一步涉及根据本发明的组合物在制备药物中的用途。

[0085] 本发明还涉及一种治疗方法,其中施用根据本发明的组合物。

[0086] 在一个实施方案中，根据本发明的组合物用于预防牙菌斑的形成和/或减少牙菌斑。

[0087] 可以通过本领域技术人员已知的任何方法来评估菌斑形成的预防和/或菌斑的减少。特别地，它们可以通过在存在和不存在根据本发明的组合物的情况下，通过测量细菌对牙齿(或牙齿模拟材料例如羟基磷灰石)表面的粘附力来评估。可选地，可以通过使用菌斑暴露剂来证明菌斑的减少。

[0088] 通过测量细菌粘附力，可以测量一种或多种细菌物种，其中包括在牙齿生物膜生态演替中所谓的先锋物种，包括以下所列或由其组成：口腔链球菌(Streptococcus oralis)、格登链球菌(Streptococcus gordonii)、变形链球菌(Streptococcus mutans)、和内氏放线菌(Actinoyces naeslundii)。

[0089] 特别地，细菌粘附可以通过本申请的实施例中描述的方法来测量。

具体实施方式

[0090] 实施例：

[0091] 材料和方法：

[0092] 材料：

[0093] 细菌：通过混合等量的以下四种细菌获得10^7UFC/mL的混合细菌悬浮液：口腔链球菌、格登链球菌、变形链球菌和内氏放线菌。

[0094] 菌株维持和细菌计数：细菌菌株在厌氧气氛中于16℃在哥伦比亚琼脂培养基+5％无菌绵羊血中生长。

[0095] 唾液：形成人唾液池，并通过0.45μm膜过滤。

[0096] 羟基磷灰石颗粒(HAP)：将羟基磷灰石颗粒(直径9.4mm，厚度1.8mm)于121℃高压灭菌15-20分钟。

[0097] 生物膜形成培养基(BBM)：用以下成分制备10X肉汤：$FeSO_4,7H_2O$(0.005g/L)；Na_2HPO_4(12.5g/L)；KH_2PO_4(5g/L)；$(NH_4)_2SO_4$(1g/L)；葡萄糖(0.5g/L)和$MgSO_4$(100x 20g/L)。在测试时将该肉汤重构以得到浓度X(BBM肉汤)。

[0098] 产品：桃金娘提取物获得自植物的干燥叶子。将叶子破碎，然后用水和50％(v/v)乙醇的混合物提取。过滤后，将滤液浓缩以除去醇和水。然后将提取物溶解在丙二醇中，直到获得具有10％桃金娘干提取物(w/w)的液体提取物。大约400g叶子用于制成1kg提取物。提取物为绿褐色液体，含有2％三萜烯、2.5％黄酮和2％鞣质(w/w，根据欧洲药典中引用的技术测量)。

[0099] 桃金娘提取物在蒸馏水中稀释为2％的浓度。通过在9.5g的无菌蒸馏水中稀释0.503g的尼克甲醇氢氟酸盐，可得到1350ppm的fluorinol。通过在9.3mL无菌蒸馏水中混合0.503g的尼克甲醇氢氟酸盐和0.2mL的桃金娘提取物，可获得1350ppm的fluorinol和桃金娘提取物的溶液。

[0100] 方法：

[0101] 将灭菌的HAP圆盘置于无菌的24孔微孔板的孔中。于室温，通过用1mL人唾液池覆盖1小时来进行表面调整。

[0102] 收集颗粒(不冲洗)，并于室温与产品单独接触或与二者的组合接触5分钟。如此处

理过的颗粒在厌氧条件下于36℃在含有1.8mL BBM和200μL 10^7UFC/mL的混合悬浮液的孔中存放48小时(BBM培养基在24小时更新)。为了模拟常规的刷洗,将颗粒回收并于室温在2小时、6小时、24小时、30小时和48小时的时间与产品单独接触或与二者的组合接触5分钟,然后再引入到包含细菌悬浮液的孔中。

[0103] 在相同条件下进行对照实验,其中用等体积的蒸馏水或在水中的丙二醇(1.8%w/w)来代替产品。

[0104] 孵育24小时或48小时后,粘附在HAP颗粒表面的活菌数量的确定如下进行:取出颗粒并用蒸馏水(2x 2mL)冲洗以除去未粘附的细菌。将颗粒的表面在2mL无菌蒸馏水中刮擦。将获得的悬浮液均质化(涡旋),并进行一系列10倍稀释(séries de dilution de raison 10)。通过散布每种100μL的哥伦比亚琼脂稀释液+5%无菌绵羊血进行计数。

[0105] 在厌氧条件下于36℃孵育72-96小时后,对柱进行计数而没有区分物种。在进行比较分析之前,将获得的值转换为对数小数位。

[0106] 结果:

[0107] 进行实验的目的是在体外评估桃金娘提取物和/或fluorinol对牙菌斑形成的活性。

[0108] 为此,使用评估牙菌斑形成的经典模型。羟基磷灰石颗粒用于模拟牙齿表面。使用的细菌物种:口腔链球菌、格登链球菌、变形链球菌和内氏放线菌是牙菌斑开始的代表。

[0109] 在存在或不存在产品的情况下,通过在细菌培养基(UFC/颗粒)中孵育后24小时和48小时以及与产品孵育5分钟后测量粘附细菌的数量,来评估细菌对HAP表面的粘附力。

[0110] 获得了以下结果:

[0111] 表1:与产品孵育5分钟后粘附在HAP表面的UFC数量。

[0112]

产品/ UFC/颗粒 (Log UFC/颗粒)	24 小时	48 小时
蒸馏水指示剂	2.64E+05 (5.42)	4.58E+04 (4.66)
对照丙二醇 1.8%	2.82E+05 (5.45)	2.88E+04 (4.46)
Fluorinol 1350 ppm	1.22E+05 (5.09)	6.00E+04 (4.78)
桃金娘提取物 2%	1.28E+05 (5.11)	1.44E+04 (4.16)
Fluorinol 1350 ppm + 桃金娘提取物 2%	5.12E+03 (3.71)	6.00E+01 (1.78)

[0113] 总之,获得的结果表明:

[0114] 1.8%的丙二醇对生物膜的形成没有活性。

[0115] 不管处理的次数如何(24小时3次处理,48小时6次处理),1350ppm的对生物膜的形成均无明显活性。

[0116] 2%的桃金娘提取物对生物膜的活性较低,范围为0.3-0.5log。与细菌培养基一起孵育24小时或48小时不会明显改变所获得的效果。

[0117] 与单独测试的产品相比,桃金娘提取物和fluorinol的组合可显著提高活性。这些实验证明了这两种产品的组合在减少生物膜形成中的协同作用。此外,增加治疗次数(24小

时的时间3次治疗和48小时的时间6次治疗)会增加组合的活性。