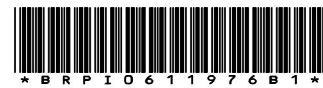




República Federativa do Brasil  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0611976-0 B1**



\* B R P I O 6 1 1 9 7 6 B 1 \*

**(22) Data do Depósito:** 23/06/2006

**(45) Data de Concessão:** 10/07/2018

**(54) Título:** COMPLEXOS IÔNICOS

**(51) Int.Cl.:** A61K 8/24; A61K 8/64; A61Q 11/00

**(30) Prioridade Unionista:** 24/06/2005 US 60/694.019

**(73) Titular(es):** THE UNIVERSITY OF MELBOURNE

**(72) Inventor(es):** ERIC CHARLES REYNOLDS

## "COMPLEXOS IÔNICOS"

A presente invenção refere-se a complexos supercarregados de fosfato de cálcio amorfos e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfos estabilizado através de fosfopeptídeos/fosfoproteínas. Estes complexos supercarregados têm propriedades anticariogênicas úteis para proteger dentes e estruturas ósseas uma vez que eles remineralizam (reparo) estágios precoces de cárie dentária bem como outras aplicações dentais/médicas (incluindo anti-cáculo, anti-erosão/corrosão e hipersensibilidade anti-dentinária). Os métodos para preparar os complexos supercarregados da invenção e de tratamento ou prevenção de cárie dentária, cáculo dentário, erosão/corrosão dentária e hipersensibilidade dentária são também fornecidos.

### 15 ANTECEDENTES

A cárie dentária é iniciada pela desmineralização do tecido duro dos dentes normalmente por ácidos orgânicos produzidos de fermentação de açúcar dietético através de bactérias odontopatogênicas da placa dentária. A cárie dentária ainda é um dos principais problemas de saúde pública. Além disso, as superfícies restauradas do dente podem ser susceptíveis a outras cárries dentárias ao redor das margens da restauração. Embora a prevalência de cárie dentária tenha diminuído pelo uso de fluoreto na maioria dos países desenvolvidos, a doença permanece como um dos principais problemas de saúde pública. A erosão/corrosão é a perda de mineral dentária por ácidos regurgitados ou dietéticos. A hipersensibilidade dentária é devido aos túbulos dentinários

expostos por perda da camada mineralizada protetora, cimento e cálculo dentário é a acreção não desejada de minerais de fosfato de cálcio na superfície do dente. Todas estas condições, cárries dentárias, erosão/corrosão dentária, hiper-

5 sensibilidade dentária e cálculo dentário são portanto dese-  
quilibrios no nível de fosfato de cálcio. A cárrie dentária,  
hipersensibilidade dentária e erosão/corrosão dentária podem  
ser tratadas com fosfato de cálcio amorfo estabilizado (ACP)  
forneceendo-se ions de fosfato e cálcio biodisponíveis para  
10 substituir o mineral de fosfato de cálcio perdido. O ACP  
estabilizado também pode se ligar à superfície de cálculo  
dentário e prevenir outra acreção. O ACP estabilizado e  
fosfato de fluoreto de cálcio amorfo estabilizado (ACFP)  
portanto podem desempenhar um papel importante na prevenção  
15 e tratamento de doenças orais e outras condições médicas. A  
caseína está presente no leite na forma de micelas, as quais  
se acredita ser partículas aproximadamente esféricas com um  
raio de cerca de 100 nm, dispersas em uma fase contínua de  
água, sal, lactose e proteínas de soro. As micelas de ca-  
20 seína servem como um veículo de fosfato de cálcio que fornece  
uma fonte biodisponível de ions de cálcio e fosfato para  
formação do osso e dentes. A capacidade das micelas de ca-  
seína de manter os ions de cálcio e fosfato em um estado so-  
lúvel e biodisponível é retida pelos peptídeos multifosfori-  
25 lados tripticos das caseínas conhecidas como os fosfopeptí-  
deos de caseína (CPP). WO 98/40406 descreve complexos de  
fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP)  
e complexos de CPP-fosfato de fluoreto de cálcio amorfo es-

tabilizado (CPP-ACFP) que foram produzidos em pH alcalino. Tais complexos demonstraram a prevenção da desmineralização do esmalte e promoção da remineralização de lesões de sub-superfície do esmalte em modelos de cárries de animal e humana no *in situ*.

Os fosfopeptídeos que são ativos na formação dos complexos fazem assim se ou não eles fazem parte de uma proteína de caseína de tamanho natural. Os fosfopeptídeos de caseína ativos (CPP) formados por digestão triptica foram especificados na Patente U.S. No. 5.015.628 e incluem os peptídeos Bos  $\alpha_{s1}$ -caseína X-5P (f59-79) [1], Bos  $\beta$ -caseína X-4P (f1-25) [2], Bos  $\alpha_{s2}$ -caseína X-4P (f46-70) [3] e Bos  $\alpha_{s2}$ -caseína X-4P (f1-21) [4] como segue:

[1] Gln<sup>59</sup>-Met-Glu-Ala-Glu-Ser(P)-Ile-Ser(P)-Ser(P)-

15 Ser(P)-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Ser(P)-Val-Glu-Gln-Lys<sup>79</sup>  $\alpha_{s1}$   
(59-79)

[2] Arg<sup>1</sup>-Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Ser(P)-Leu-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg<sup>25</sup>  $\beta$  (1-25)

20 [3] Asn<sup>46</sup>-Ala-Asn-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser(P)-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys<sup>70</sup>  $\alpha_{s2}$  (46-70)

[4] Lys<sup>1</sup>-Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Ser(P)-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys<sup>21</sup>  
25  $\alpha_{s2}$  (1-21)

Outros fosfopeptídeos de caseína que têm atividade no auxílio da estabilização de complexos de fosfato de cálcio amorfos super carregados são aqueles peptídeos que con-

X

têm as seqüências Ser(P)-Xaa-Glu/Ser(P) onde Ser(P) representa um resíduo de fosfoserila. Portanto os ativos de fosfopeptídeos/fosfoproteínas na estabilização de complexos de fosfato de cálcio amorfo e fosfato de fluoreto de cálcio amorfo super carregados são aqueles contendo a seqüência -A-B-C-, onde A é um ácido de fosfamino, preferivelmente fosfoserina; B é qualquer aminoácido incluindo um ácido de fosfoamino e C é um dentre glutamato, aspartato ou um ácido de fosfoamino.

O fosfato de cálcio amorfo estabilizado por fosfopeptídeos de caseína como descrito em WO 98/40406 está comercialmente disponível em um produto vendido como Recaldent<sup>TM</sup> como fornecido por Recaldent Pty Ltd, Victoria, Austrália. Entretanto, seria desejável para uma forma ainda mais efetiva de fosfato de cálcio amorfo estabilizado por fosfopeptídeos de caseína, estar disponível para tratamentos. Além disso, quando Recaldent<sup>TM</sup> é dissolvido em um veículo tal como água destilada, há vazamento inevitável de ions na água circundante para formar um equilíbrio. Isto, em alguns casos, reduzirá o fosfato de cálcio liberável pela composição, tal como para um tratamento.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Em um aspecto, a presente invenção fornece um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína "super carregado" (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo (ACP) ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo (ACFP). O complexo pode ser formado a qualquer pH (Por exemplo, 3-10). Preferivelmente o fosfopeptídeo inclui a seqüência -A-B-C -, onde A é um á-

cido de fosfoamino, preferivelmente fosfosserina, B é qual-  
quer aminoácido incluindo um ácido de fosfoamino e C é ácido  
glutâmico, ácido aspártico ou um ácido de fosfoamino. O á-  
cido de fosfoamino pode ser fosfosserina. O PP é super car-  
regado com íons de cálcio e fosfato. Os íons de cálcio po-  
dem estar na faixa de 30-1000 mol de Ca por mole de PP, ou  
na faixa de 30-100 ou 30-50 mole de Ca por mole de PP. Em  
outra modalidade, o mole de Ca por mol de PP é pelo menos  
25, 30, 35, 40, 45 ou 50. Os íons de fosfato estarão tipi-  
camente presentes em uma relação para os íons de cálcio  
(Ca:P) de 1,5 - 1,8:1. Em uma modalidade, a relação é cerca  
de 1,58:1.

Em um aspecto adicional a presente invenção forne-  
ce um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) esta-  
bilizado-fosfato de cálcio amorfó ou fosfato de fluoreto de  
cálcio amorfó que têm um teor de ion de cálcio maior do que  
cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP.

Em uma modalidade preferida, o teor de ion de cál-  
cio é na faixa de cerca de 30 a 100 moles de cálcio por mole  
de PP. Mais preferivelmente, o teor de íon de cálcio é na  
faixa de cerca de 30 a cerca de 50 moles de cálcio por mole  
de PP.

A presente invenção se refere também a uma forma-  
lação aquosa do complexo de PP estabilizou ACP ou ACFP des-  
crita acima.

Também será entendido que o termo "compreende" (ou  
suas variantes gramaticais) como empregado nesta especifica-  
ção é equivalente ao termo "inclui" e pode ser empregado al-



ternadamente e não deveria ser considerado como excluindo a presença de outros elementos ou características.

Surpreendentemente, a atividade de fosfopeptídeo caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) quando produzidos empregando o método descrito em WO 98/40406, na remineralização (reparo) das lesões de sub-superfície do esmalte (estágios precoces de cárie dentária) pode ser aumentada substancialmente supercarregando-se os fosfopeptídeos de caseína com íons de cálcio e fosfato além da quantidade esperada ser possível. O cálcio pode estar na forma de CaHPO<sub>4</sub> ou lactato de cálcio e fosfato de hidrogênio de sódio ou qualquer outra forma adequada de sal de cálcio ou sal de fosfato.

O PP dos complexos da presente invenção pode ser um fosfopeptídeo de caseína (CPP) que pode ser caseína intacta ou um fragmento de caseína. O complexo de CPP-fosfato de cálcio amorfo formado pode ser um complexo coloidal, onde as partículas do núcleo se agregam para formar grandes partículas coloidais (por exemplo, 100 nm) suspensas na água.

O PP pode ser de qualquer fonte; pode estar presente no contexto de um polipeptídeo maior, incluindo um polipeptídeo de caseína de tamanho natural, ou pode ser isolado por digestão triptica ou química (por exemplo, hidrólise alcalina) de caseína ou outras proteínas ricas em fosfoamino ácido tal como fosvitina, ou por síntese química ou recombinante, desde que compreenda a seqüência -A-B-C -. A seqüência que flanqueia esta seqüência núcleo pode ser qualquer seqüência. Entretanto, essas seqüências de flanqueamento em

7

$\alpha_s$ :(59-79) [1],  $\beta$ (1-25) [2],  $\alpha_{s2}$ (46-70) [3] e  $\alpha_{s2}$ (1-21) [4] são preferidas. As seqüências de flanqueamento podem opcionalmente ser modificada por deleção, adição ou substituição conservadora de um ou mais resíduos. A composição de 5 aminoácido e seqüência da região de flanqueamento não são críticas embora as regiões de flanqueamento preferidas pareçam contribuir com a ação estrutural do motif para manter a conformação do peptídeo de forma que todos os grupos de fosforila e carboxila possam interagir com ions de cálcio.

10 Em uma modalidade preferida, o PP é selecionado do grupo que consiste em  $\alpha_{s1}$ (59-79) [1],  $\beta$ (1-25) [2],  $\alpha_{s2}$ (46-70) [3] e  $\alpha_{s2}$ (1-21) [4].

Em uma modalidade preferida, pelo menos 40% em peso do PP no PP-ACP ou ACFP estabelecido é uma mistura de 15 proteínas ou fragmentos de proteína que são ou contêm um ou mais dos peptídeos [1] a [4] acima. Preferivelmente, pelo menos 60%, mais preferivelmente pelo menos 70%, em peso do PP no PP-ACP ou ACFP estabelecido é uma mistura de proteínas ou fragmentos de proteína que são ou contêm os peptídeos [1] 20 a [4].

Acredita-se que o fosfopeptídeo estabilize o cálcio supercarregado, fosfato (e fluoreto) para produzir uma solução metastável. Acredita-se que esta ligação iniba o crescimento de ACP ou ACFP a um tamanho que inicie a nucleação e precipitação de fosfato de cálcio. Deste modo, cálcio e outros ions, tal como ions de fluoreto, podem ser localizados, por exemplo, a uma superfície em um dente para prevenir a desmineralização e prevenir ou reduzir a formação de 25

cáries dentárias.

Desse modo, em um aspecto adicional, a invenção fornece um complexo ACFP estável, supercarregado ou um complexo ACP estável, supercarregado como descrito acima, cujo complexo atua como um veículo de liberação que co-localiza iões incluindo, porém não limitados aos íons de cálcio, fluoreto e fosfato em um sítio alvo. Em uma modalidade preferida, o complexo está em uma forma amorfa de liberação lenta que produz eficácia anti-cáries superior. O sítio alvo é preferivelmente dentes ou osso.

Em um aspecto adicional, a invenção também fornece um método para produzir um complexo estável, supercarregado de ACP ou ACFP como descrito acima, compreendendo as etapas de:

- 15                   (i) obter soluções que compreendem cálcio, fosfato inorgânico e fluoreto (opcional); e  
                       (ii) misturar (i) com uma solução que compreende PP-ACP.

Em uma modalidade preferida, o PP é fosfopeptídeo de caseína (CPP).

Em um aspecto adicional da presente invenção, é fornecido um método para aumentar o teor de íon de cálcio (e fosfato) como ACP/ACFP de um PP estabilizado-ACP e/ou ACFP incluindo as etapas de

- 25                   (i) obter soluções que compreendem cálcio, fosfato inorgânico e fluoreto (opcional); e  
                       (ii) misturar (i) com uma solução que compreende PP-ACP e/ou PP-ACFP.

30  
X

ou

(i) obter pó que contém cálcio, por exemplo,  
 $\text{CaHPO}_4$ , lactato de cálcio, etc. e

5 (ii) misturar (i) com um PP-ACP e/ou pó de PP-  
ACFP.

Descobriu-se que se aumentando o carregamento de fosfato de cálcio de complexos de PP-ACP no produto comercial conhecido como Recaldent™ pode resultar em uma preparação de viscosidade mais elevada que é adequada para uma aplicação particular. Consequentemente, é útil para algumas aplicações preparar os complexos supercarregados através de mistura seca do PP-ACP com fosfato de cálcio (particularmente,  $\text{CaHPO}_4$ ) para incorporação subsequente em uma formulação, por exemplo, uma formulação de cuidado oral tal como uma pasta de dentes ou chiclete.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido um método para produzir um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo (ACP) e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo (ACFP) que tem um teor de íon de cálcio acima de cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP incluindo as etapas de:

(i) obter uma solução incluindo um complexo de PP-ACP e/ou PP-ACFP; e

25 (ii) misturar com íons de cálcio e fosfato, ao mesmo tempo em que mantendo a solução a um pH de menos do que 7.

Em um aspecto adicional da presente invenção, é fornecida uma formulação de um complexo de PP estabilizado

31  
X

ACP e/ou ACFP junto com pelo menos uma quantidade igual em peso de fosfato de cálcio. Preferivelmente, o fosfato de cálcio é CaHPO<sub>4</sub>. Preferivelmente, o fosfato de cálcio (por exemplo, CaHPO<sub>4</sub>) é misturado a seco com o complexo de PP estabilizado ACP e/ou ACFP. Em uma modalidade preferida, a relação de complexo de PP-ACP e/ou PP-ACFP: fosfato de cálcio é cerca de 1:1-50, mais preferivelmente cerca de 1:1-25, mais preferivelmente cerca de 1:5-15. Em uma modalidade, a relação de complexo de PP-ACP e/ou PP-ACFP:fosfato de cálcio é cerca de 1:10.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecida uma composição de cuidado oral incluindo uma formulação de um complexo de PP estabilizado ACP e/ou ACFP junto com pelo menos uma quantidade igual em peso de fosfato de cálcio como descrito acima.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido um método para produzir uma formulação de cuidado oral que inclui um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo (ACP) e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo (ACFP) que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP quando empregado na cavidade oral incluindo as etapas de:

- (i) obter um pó incluindo um complexo de PP-ACP e/ou PP-ACFP;
- (ii) misturar a seco com uma quantidade efetiva de fosfato de cálcio; e
- (iii) formular o PP-ACP e/ou PP-ACFP misturado a

36  
7.

seco e mistura de fosfato de cálcio em uma formulação de cuidado oral.

Preferivelmente, a forma de fosfato de cálcio para mistura seca é  $\text{CaHPO}_4$ . Preferivelmente a formulação de cuidado oral é selecionada do grupo que consiste em um dentre pasta de dente; um creme de dente; um chiclete; pastilha; um líquido para limpeza bucal e um pó. Sem estar ligado a qualquer teoria ou modo de ação, acredita-se que o fosfopeptídeo "supercarregado" seja capaz de liberar uma concentração suficientemente elevada de íons de cálcio e fosfato, especialmente ACP e ACFP como o caso pode ser, apesar da diluição inherente que é o resultado da incorporação dos complexos em um veículo fisiologicamente aceitável, e outra diluição, por exemplo, na saliva em aplicações dentais. Desse modo é mantida a especiação iônica dos íons de cálcio e fosfato. A invenção está voltada a maiores quantidades de ACP-ACFP no sítio de liberação. Isto pode ser obtido por um material de partida de teor de ACP/ACFP mais elevado e/ou perda ou vazamento reduzidos de ACP/ACFP entre a fabricação e uso.

Estes complexos supercarregados são também úteis como suplementos dietéticos em indivíduos que por qualquer razão, tal como intolerância dietética, alergia, ou fatores religiosos ou culturais, são incapazes ou sem vontade de consumir produtos de leiteria em uma quantidade suficiente para fornecer suas exigências de cálcio dietético. Os complexos supercarregados da invenção são úteis como suplementos de cálcio em indivíduos em necessidade de estimulação do

71

crescimento ósseo, por exemplo, indivíduos que sofrem de reparo de fratura, substituição de junta, enxertos ósseos, ou cirurgia craniofacial.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido um método para remineralizar dentes compreendendo aplicar aos dentes um complexo supercarregado como descrito acima, desejavelmente em um veículo farmaceuticamente aceitável. O complexo pode conter fosfato de cálcio, fluoreto de cálcio ou ambos. O método é preferivelmente aplicado a um indivíduo em necessidade do tratamento.

Em um aspecto adicional, a presente invenção fornece um método para remineralizar uma superfície dentária ou sub-superfície incluindo aplicar à superfície dentária ou sub-superfície um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP.

Em um aspecto adicional da presente invenção, é fornecido o uso de um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP na fabricação de um medicamento para remineralizar uma superfície ou sub-superfície dentária.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido o uso de um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de

cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP para remineralizar uma superfície ou sub-superfície dentária.

Preferivelmente a superfície ou sub-superfície dentária é esmalte dentário, mas preferivelmente uma lesão da superfície ou sub-superfície no esmalte dentário.

O complexo de ACFP estável ou ACP supercarregado pode ser incorporado em ou pode ser formado em composições de cuidado oral tal como pasta de dentes, anti-sépticos bucais ou formulações para a boca. Isto pode, por exemplo, ajudar no tratamento e/ou prevenção de cárries dentárias ou cárie de dente. O complexo de ACFP ou ACP supercarregado (que pode compreender somente complexos de CPP-ACP e/ou -ACFP, ou complexos de CPP-ACP e/ou -ACFP com fosfato de cálcio, por exemplo, CaHPO<sub>4</sub>) pode compreender 0,01-50% em peso da composição, preferivelmente 0,1%-25%, mais preferivelmente 0,5%-20% e opcionalmente 0,5%-10%. Para composições orais, é preferido que a quantidade do CPP-ACP e/ou CPP-ACFP administrada seja 0,01-50% em peso, preferivelmente 0,5%-20% ou 0,5%-10% em peso da composição. Em uma modalidade particularmente preferida, a composição oral da presente invenção contém cerca de 1-5% de CPP-ACP supercarregado (sCPP-ACP). A composição oral desta invenção que contém os agentes supracitados pode ser preparada e empregada em várias formas aplicáveis à boca tal como dentifrícios incluindo pastas de dentes, pós para dentes e dentifrícios líquidos, anti-sépticos bucais, pastilhas, chicletes, pastas dentais, creme de massagem gengival, comprimidos para gargarejo, produ-

tos de leiteria e outros comestíveis. A composição oral de acordo com esta invenção pode também incluir ingredientes bem conhecidos adicionais dependendo do tipo e forma de uma composição oral particular.

5 Em certas formas preferidas da invenção a composição oral pode ser substancialmente líquida em caráter, como um anti-séptico ou enxágüe bucal. Em uma tal preparação o veículo é tipicamente uma mistura de água-álcool desejavelmente incluindo um umectante como descrito abaixo. Geralmente, a relação de peso de água para álcool é na faixa de cerca de 1:1 a cerca de 20:1. A quantidade total de mistura de água-álcool neste tipo de preparação é tipicamente na faixa de cerca de 70 a cerca de 99,9% em peso da preparação. O álcool é tipicamente etanol ou isopropanol. Etanol é preferido.

10

15

O pH de tal líquido e outras preparações da invenção geralmente é na faixa de cerca de 3 a cerca de 10 e tipicamente de cerca de 5,0 a 7,0. O pH pode ser controlado com ácido (por exemplo, ácido cítrico ou ácido benzóico) ou base (por exemplo, hidróxido de sódio) ou tamponado (como com citrato de sódio, benzoato, carbonato, ou bicarbonato, fosfato de hidrogênio de dissódio, fosfato de diidrogênio de sódio, etc).

Em uma modalidade, a composição oral de acordo com a presente invenção tem um pH de cerca de 5,5.

Conseqüentemente, em um aspecto adicional da presente invenção é fornecida uma composição para remineralizar uma superfície ou sub-superfície dentária incluindo um com-

2  
X

plexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo tendo um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por molc de PP junto com um veículo e/ou 5 excipiente farmaceuticamente aceitável.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecida uma composição para remineralizar uma superfície ou sub-superfície dentária que consiste essencialmente em um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizada-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP junto com um excipiente e/ou veículo farmaceuticamente aceitável. 10

Em outra modalidade, a composição oral de acordo com a presente invenção contém um quelador de cálcio, por exemplo, pirofosfato, polifosfato, citrato, EDTA, etc. Em outras formas desejáveis desta invenção, a composição oral pode ser substancialmente sólida ou pastosa em caráter, tal como pó para dente, um comprimido dentário ou uma pasta de dente (creme dental) ou dentífricio de gel. O veículo de tais preparações orais sólidas ou pastosas geralmente contém material de polimento dentalmente aceitável. Os exemplos de materiais de polimento são metafosfato de sódio insolúvel em água, metafosfato de potássio, fosfato de tricálcio, fosfato de cálcio diidratado, fosfato de dicálcio anidroso, pirofosfato de cálcio, ortofosfato de magnésio, fosfato de trimagnésio, carbonato de cálcio, alumínio hidratado, alumínio calcinado, silicato de alumínio, silicato de zircônio, síli- 15 20 25

37  
W

ca, bentonita, e misturas destes. Outro material de polimento adequado inclui as resinas termocuráveis particuladas tal como poliésteres e poliepóxidos de reticulados e de melamina-, fenólico, e urea-formaldeídos. Os materiais de polimento preferidos incluem sílica cristalina que tem tamanhos de partícula de até cerca de 5 microns, um tamanho de partícula médio de até cerca de 1,1 micron, e uma área de superfície de até cerca de 50.000 cm<sup>2</sup>/g., sílica gel ou sílica coloidal, e aluminossilicato de metal de álcali amorfo complexo.

Quando géis visualmente claros são empregados, o agente de polimento de sílica coloidal, tal como aqueles vendidos sob a marca registrada SYLOID como Syloid 72 e Syloid 74 ou sob a marca registrada SANTOCEL como Santocel 100, complexos aluminossilicato de metal de álcali são particularmente úteis uma vez que têm indícios refrativos próximos dos indícios refrativos de sistemas de agente de gelação-líquido (incluindo umectante e/ou água) geralmente empregados em dentífricos.

Muitos dos então chamados materiais de polimentos "insolúveis em água" são aniónicos em caráter e também incluem quantidades pequenas de material solúvel. Desse modo, o metafosfato de sódio insolúvel pode ser formado de qualquer maneira adequada, por exemplo, como ilustrado por Thorpe Dictionary of Applied Chemistry, Volume 9, 4<sup>a</sup> Edição, pp. 510-511. As formas de metafosfato de sódio insolúvel conhecidas como o sal de Madrell e o sal de Kurrol são exemplos adicionais de materiais adequados. Estes sais de metafosfa-

37  
X

to exibem somente uma solubilidade minuciosa em água, e portanto são geralmente chamados metafosfatos insolúveis (IMP). Há presente aqui uma quantidade secundária de material de fosfato solúvel como impurezas, normalmente alguns percentuais tal como até 4% em peso. A quantidade de material de fosfato solúvel que é acreditada incluir um trimetafosfato de sódio solúvel no caso de metafosfato insolúvel, pode ser reduzida ou pode ser eliminada lavando-se com água se desejado. O metafosfato de metal de álcali insolúvel é empregado tipicamente na forma de pó de um tamanho de partícula tal que não mais do que 1% do material seja maior do que 37 microns.

O material de polimento está geralmente presente nas composições sólidas ou pastosas em concentrações em peso de cerca de 10% a cerca de 99%. Preferivelmente, está presente em quantidades de cerca de 10% a cerca de 75% em pasta de dentes, e de cerca de 70% a cerca de 99% em pós para dentes. Em pastas de dentes, quando o material de polimento for silicioso *in nature*, ele está geralmente presente em uma quantidade de cerca de 10-30% em peso. Outros materiais de polimento estão tipicamente presentes em quantidade de cerca de 30-75% em peso.

Em uma pasta de dentes, o veículo líquido pode incluir água e umectante tipicamente em uma quantidade que varia de cerca de 10% a cerca de 80% em peso da preparação. A glicerina, propileno glicol, sorbitol e polipropileno glicol exemplificam umectantes/veículos adequados. Também vantajosas são as misturas líquidas de água, glicerina e sorbitol.

Em géis claros onde o índice refrativo é uma consideração importante, cerca de 2,5-30% em peso/peso de água, 0 a cerca de 70% em peso/peso de glicerina e cerca de 20-80% em peso/peso de sorbitol são preferivelmente empregados.

A pasta de dentes, cremes e géis tipicamente contêm um espessante natural ou sintético ou agente de gelação em proporções de cerca de 0,1 a cerca de 10, preferivelmente cerca de 0,5 a cerca de 5% em peso/peso. Um espessante adequado é hectorita sintética, uma argila de complexo de silicato de metal de álcali de magnésio coloidal sintético disponível, por exemplo, como Laponita (por exemplo, CP, SP 2002, D) comercializado por Laporte Industries Limited. Laponite D é, aproximadamente em peso 58,00% de SiO<sub>2</sub>, 25,40% de MgO, 3,05% de Na<sub>2</sub>O, 0,98% de Li<sub>2</sub>O, e um pouco de água e metais de traço. Sua verdadeira gravidade específica é 2,53 e tem uma densidade de volume aparente de 1,0 g/ml em 8% de umidade.

Outros espessantes adequados incluem musgo irlandês, carragenina iota, goma de tragacanto, amido, polivinilpirrolidona, hidroxietilpropilcelulose, celulose de metila de hidroxibutila, celulose de metila de hidroxipropila, celulose de hidroxietila (por exemplo, disponível como Natrosol), carboximetil celulose de sódio, e sílica coloidal tal como Silóide finamente moída (por exemplo, 244). Os agentes solubilizantes também podem ser incluídos como polióis umectantes tal como propileno glicol, dipropileno glicol e hexilenoglicol, cellosolves tal como cellosolve de metila e cellosolve de etila, ceras e óleos vegetais que contêm pelo

40  
7.

menos cerca de 12 carbonos em uma cadeia reta tal como azeite de oliva, óleo de ricino e petrolato de ésteres tal como acetato de amila, acetato de etila e benzoato de benzila.

Deve ser entendido que, como é convencional, as 5 preparações orais devem ser vendidas ou de outro modo distribuídas em pacotes rotulados adequados. Desse modo, um jarro de enxágüe bucal terá um rótulo que o descreve, em substância, como um enxágüe bucal ou anti-séptico bucal e tendo orientações para seu uso; e uma pasta de dentes, creme 10 ou gel geralmente estarão em um tubo desmontável, tipicamente alumínio, forrado de chumbo ou plástico, ou outro distri- buidor pressurizado, de apertão ou bomba para dosar os teo- res, tendo um rótulo que os descreve, em substância, como uma pasta de dente, gel ou creme dental.

15 Os agentes tensoativos orgânicos podem ser empre- gados nas composições da presente invenção para obter ação profilática aumentada, auxiliar na obtenção de dispersão completa e total do agente ativo em toda a cavidade oral, e tornar as composições presentes cosmeticamente mais aceitá- 20 veis. O material tensoativo orgânico é preferivelmente ani- ônico, não iônico ou anfolítico *in natura* e preferivelmente não interage com o agente ativo. É preferido empregar como o agente tensoativo um material detergente que concede à composição detergente propriedades espumantes. Os exemplos 25 adequados de tensoativos aniônicos são sais solúveis em água de monossulfatos de monoglicerídeo de ácido graxo mais ele- vado, tal como o sal de sódio do monoglicerídeo monossulfa- tado de ácidos graxos de óleo de coco hidrogenado, sulfatos

A1  
y1

de alquila mais elevados tal como sulfato de laurila de sódio, sulfonatos de arila de alquila tal como sulfonato de benzeno de dodecila de sódio, alquilsulfo-acetatos mais elevados, ésteres de ácido graxo mais elevados do sulfonato de propano de 1,2-diidróxi, e as amidas de acila alifática mais elevadas substancialmente saturadas de compostos de ácido carboxílico de amino alifático mais baixos, tal como aqueles tendo 12 a 16 carbonos no ácido graxo, radicais de alquila ou acila, e outros. Os exemplos das últimas amidas mencionadas são sarcosina de N-lauroíla, e o sódio, potássio, e sais de etanolamina de N-lauroíla, N-miristoíla, ou sarcosina de N-palmitoíla que deveriam ser substancialmente livres de sabão ou material de ácido graxo mais elevado similar. O uso destes compostos de sarconita nas composições orais da presente invenção é particularmente vantajoso uma vez que estes materiais exibem um efeito acentuado prolongado na inibição de formação de ácido na cavidade oral devido à quebra de carboidrato além de exercer alguma redução na solubilidade do esmalte do dente em soluções ácidas. Os exemplos de tensoativos não iônicos solúveis em água adequados para uso são produtos de condensação de óxido de etileno com vários compostos contendo hidrogênio reativo, reativos com estes tendo cadeias hidrofóbicas longas (por exemplo, cadeias alifáticas de cerca de 12 a 20 átomos de carbono), cujos produtos de condensação ("etoxâmeros") contêm frações de polioxietileno hidrofilicas, tal como produtos de condensação de poli (óxido de etileno) com ácidos graxos, álcoois graxos, amidas graxas, álcoois poliídricos (por exemplo, mono-

estearato de sorbitan) e polipropilenoóxido (por exemplo, materiais de Pluronic).

O agente tensoativo está tipicamente presente em quantidades de cerca de 0,1-5% em peso. É notável, que o agente tensoativo possa ajudar na dissolução do agente ativo da invenção e desse modo pode diminuir a quantidade de umectante solubilizante necessária.

Vários outros materiais podem ser incorporados nas preparações orais desta invenção tal como agentes de branqueamento, preservativos, silicones, compostos de clorofila e/ou material amoniado tal como uréia, fosfato de diamônio, e misturas destes. Estes adjuvantes, onde presentes, estão incorporados nas preparações em quantidades que não substancialmente adversamente afetam as propriedades e características desejadas.

Qualquer flavorizante adequado ou material adoçante também pode ser empregado. Os exemplos de componentes flavorizantes adequados são óleos flavorizantes, por exemplo, óleo de hortelã, hortelã-pimenta, gualtária, sassafrás, cravo-da-índia, sálvia, eucalipto, manjerona, canela, limão, e laranja, e salicilato de metila. Os agentes adoçantes adequados incluem sacarose, lactose, maltose, sorbitol, xilitol, ciclamato de sódio, perilartina, AMP (alanina de fenila de aspartila, éster de metila), sacarina, e outros. Adequadamente, os agentes adoçantes e flavorizantes podem cada ou juntos compreender de cerca de 0,1% a 5% a mais da preparação.

A invenção também fornece o uso de uma composição

como descrito acima. Na prática preferida desta invenção uma composição oral de acordo com esta invenção tal como anti-séptico bucal ou dentífricio que contém a composição da presente invenção é preferivelmente regularmente aplicada às 5 gengivas e dentes, tal como diariamente ou todos os segundos ou terceiro dias ou preferivelmente de 1 a 3 vezes diariamente, a um pH, preferivelmente de cerca de 3,0 a cerca de 10,0 ou mais preferivelmente 5,0 a cerca de 9,0, durante pelo menos 2 semanas até 8 semanas ou mais, até por toda vida.

10 Em uma modalidade, o pH da composição oral é cerca de 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0,.

As composições desta invenção também podem ser incorporadas em pastilhas, ou em chiclete ou outros produtos, por exemplo, agitando-se em uma base de goma aquecida ou revestindo-se a superfície externa de uma base de goma, ilustrativo das quais são jelutong, látex de borracha, resinas de vinilite, etc., desejavelmente com plastificantes ou amaciadores convencionais, açúcar ou outros adoçantes ou tal como glicose, sorbitol e outros.

20 Em outra modalidade, o complexo da invenção é formulado para formar um suplemento dietético preferivelmente compreendendo 0,1-100% em peso/peso, mais preferivelmente 1-50% em peso/peso, preferivelmente 1-10% e particularmente 2% em peso/peso de um comestível. O complexo também pode ser 25 incorporado em produtos alimentícios.

Em um aspecto adicional, a invenção fornece composições que incluem composições farmacêuticas que compreendem quaisquer dos complexos de ACFP e/ou ACP supercarregados co-

mo descrito acima junto com um veículo farmaceuticamente aceitável. Tais composições podem ser selecionadas do grupo que consiste em composições dentárias, anticariogênicas, composições terapêuticas e suplementos dietéticos. As composições dentais ou composições terapêuticas podem estar na forma de um gel, líquido, sólido, pó, creme ou pastilha. As composições terapêuticas também podem estar na forma de comprimidos ou cápsulas. Em uma modalidade, os complexos de ACP e/ou ACFP supercarregados são substancialmente os únicos componentes ativos remineralizantes de uma tal composição. Em uma modalidade adicional os complexos de ACP e/ou ACFP supercarregados que se formam depois da composição, como uma composição de cuidado oral, são contatados com saliva na cavidade oral.

Em um aspecto adicional, é fornecido um método para tratar ou prevenir cáries dentais ou cárie de dente, erosão/corrosão dentária, hipersensibilidade dentinal e cálculo dentário compreendendo a etapa de administrar um complexo ou composição da invenção aos dentes ou gengivas de um indivíduo em necessidade de tais tratamentos. A administração tópica do complexo é preferida.

De acordo com um aspecto adicional da invenção é fornecida uma composição para restauração dentária, incluindo um material restaurativo dentário ao qual foi adicionado um complexo de ACFP e/ou ACP supercarregado de acordo com a presente invenção. A base do material restaurativo dentário pode ser um cimento de ionômero de vidro, um material de compósito ou qualquer outro material restaurativo que seja

compatível. É preferido que a quantidade de complexo de CPP-ACP supercarregado ou complexo de CPP-ACFP supercarregado incluído no material restaurativo dentário seja 0,01-80% em peso, preferivelmente 0,5-10% e mais preferivelmente 1-5% em peso. O material restaurativo dentário desta invenção que contém os agentes supracitados pode ser preparado e empregado de várias formas aplicáveis à prática dentária. O material restaurativo dentário de acordo com esta invenção pode também incluir outros ions, por exemplo, ions antibacterianos  $Zn^{2+}$ ,  $Ag^+$ , etc ou outros ingredientes adicionais que dependem do tipo e forma de um material restaurativo dentário particular. É preferível que o pH do complexo de CPP-ACP supercarregado ou complexo de CPP-ACFP supercarregado seja entre 2-10, mais preferivelmente 5-9 e até mesmo mais preferivelmente 5-7. É preferível que o pH do material restaurativo dentário que contém o complexo de CPP-ACP supercarregado ou complexo de ACFP supercarregado seja entre 2-10, mais preferivelmente 5-9 e até mesmo mais preferivelmente 5-7.

A invenção também está voltada a um método de fabricação de uma composição restaurativa. Preferivelmente, o método inclui a adição de um complexo de ACP e/ou ACFP supercarregado como descrito acima, a um material restaurativo dentário de base. A invenção também se refere ao uso de uma composição restaurativa como declarado acima para a prevenção e/ou tratamento de cáries dentais.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido um kit para uso na preparação de uma composição

15  
f

para restauração dentária que inclui (a) material restaurativo dentário e (b) um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de ion de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP. O kit pode opcionalmente incluir instruções para uso para a preparação de uma composição para restauração dentária.

Em uma modalidade preferida, o material restaurativo dentário é um cimento dentário poroso. Em uma outra modalidade preferida, o material restaurativo dentário é um cimento de ionômero de vidro. Sem estar ligado a qualquer teoria ou modo de ação, se acredita que os microporos em certos tipos de cimento dentário poroso, tal como cimentos de ionômero de vidro, permitam a passagem dos complexos da presente invenção para a superfície dentária para promover a remineralização do material dentário.

A invenção também se refere a um kit para uso na preparação de uma composição para restauração dentária que inclui (a) material restaurativo dentário e (b) complexo de CPP-ACP supercarregado e/ou complexo de CPP-ACFP supercarregado. O kit pode opcionalmente incluir instruções para uso para a preparação de uma composição para restauração dentária.

A invenção também se refere a um kit para uso na preparação de uma composição para restauração dentária que inclui (a) material restaurativo dentário (b) fosfopeptídeo de caseína (c) íons de cálcio e (d) íons de fosfato, e op-

cionalmente íons de fluoreto. O kit pode opcionalmente incluir instruções para uso para a preparação de uma composição para restauração dentária.

A invenção também fornece um método de prevenção e/ou tratamento de cáries dentais, erosão/corrosão dentária, hipersensibilidade dentária e cálculo dentário em animais incluindo humanos incluindo o fornecimento da composição de acordo com a invenção, ou fabricada de acordo com a invenção, e aplicação aos dentes em um animal em necessidade de prevenção e/ou tratamento.

Em um aspecto adicional, a invenção se refere aos métodos para tratar uma ou mais condições relacionadas com a perda de cálcio do corpo, especialmente dos ossos, deficiência de cálcio, má absorção de cálcio, ou outros. Os exemplos de tais condições incluem, porém não estão limitados a, osteoporose e osteomalacia. Em geral qualquer condição que possa ser melhorada através da biodisponibilidade de cálcio aumentada é contemplada.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido o uso de um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP na fabricação de uma composição para a prevenção e/ou tratamento de cáries dentais, erosão/corrosão dentária, hipersensibilidade dentária, e/ou cálculo dentário.

Em um aspecto adicional da presente invenção é fornecido o uso de uma composição incluindo um complexo de

42  
V

fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP para a prevenção e/ou tratamento de 5 cárries dentais, erosão/corrosão dentária, hipersensibilidade dentária, ou cálculo dentário.

Deve ser entendido claramente que, embora esta especificação especificamente se refira às aplicações em humanos, a invenção também é útil para propósitos veterinários.

10 Desse modo em todos os aspectos, a invenção é útil para animais domésticos tal como gado, ovelha, cavalos e aves domésticas; para animais de companhia tal como gatos e cachorros; e para animais de jardim zoológico.

Nas figuras:

15 Figura 1: Remineralização realçada de lesões de sub-superfície de esmalte *in vitro* por CPP supercarregado com íons de cálcio e fosfato.

Figura 2. Remineralização realçada de lesões de 20 sub-superfície de esmalte *in situ* por pasta de dente que contém CPP supercarregado com fosfato de cálcio.

A invenção agora será descrita com referência aos seguintes exemplos não limitantes.

#### EXEMPLO 1

Recaldent™ (CPP-ACP) foi comprado de Recaldent Pty 25 Ltd, Victoria, Austrália. O produto (No. 841117) conteve 14,3% de cálcio, 22,3% de fosfato e 47% de fosfopeptídeo de caseína em uma base de peso. O produto foi dissolvido em 0,5% e ajustado para pH 5,5 pela adição de HCl. Os íons de

cálcio e fosfato foram então adicionados por titulação 3,25 M de  $\text{CaCl}_2$  e 2M de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ao mesmo tempo em que mantendo o pH a 5,5 com a adição de 2,5 M de NaOH. A titulação de íons de cálcio e fosfato foi continuada até que a solução ficasse translúcida. A concentração de cálcio e fosfato adicionados foi registrada. A solução também pode ser formada por titulação de íons de cálcio e fosfato em uma solução de CPP-ACP a 0,5% e deixando o pH cair para 5,5 pela adição de outro fosfato de cálcio.

Tabela 1  
Níveis de cálcio e fosfato de CPP-ACP normal e supercarregado

	Cálcio		Fosfato	
	mmol/L	mol/mol de CPP	mmol/L	mol/mol de CPP
0,5% em peso/volume de CPP-ACP Normal	17,8	22,8	11,6	14,8
0,5% em peso/volume de CPP-ACP Supercar- regado	37,8	48,3	23,6	30,2

Estes resultados demonstram que CPP-ACP pode ser supercarregado com íons de cálcio e fosfato para produzir complexos termodinamicamente estáveis em uma solução metastável.

## EXEMPLO 2

Em outro exemplo Recaldent™ (CPP-ACP) em pó foi misturado a seco com pó de CaHPO<sub>4</sub> na relação CPP-ACPiCaHPO<sub>4</sub> igual a 1:10 em uma base de peso. Este pó foi então adicionado à goma livre de açúcar e formulações de pasta de dente a 1-5% em peso/peso.

## EXEMPLO 3

Comparação da remineralização de lesões de sub-superfície de esmalte *in vitro* por CPP-ACP normal e CPP-ACP supercarregado (SCPP-ACP)

As superfícies polidas de esmalte de terceiros molares humanos extraídos foram serradas como uma prancha (8x4mm<sup>2</sup>) e cobertas com esmalte de unha resistente a ácido para formar uma metade oclusal e uma janela de metade mesiodistal gingival (1x7mm<sup>2</sup>) separadas por 1mm [Reynolds E.C. (1997) *J. Dent. Res.* 76, 1587-1595]. As lesões do esmalte de sub-superfície foram criadas nestas janelas empregando o método de Carbopol de White [White D.J. (1987) *Caries Res* 21, 228-242] como modificado por Reynolds [Reynolds E.C. (1997) *J. Dent. Res.* 76, 1587-1595]. As pranchas do esmalte foram serradas pela metade para blocos de 4x4mm<sup>2</sup>. A lesão da metade gingival em um bloco e a lesão da metade oclusal no outro bloco foram seladas com verniz para criar os controles desmineralizados como descrito por Reynolds [Reynolds E.C. (1997) *J. Dent. Res.* 76, 1587-1595].

As lesões de metade do esmalte foram expostas às duas soluções de remineralização diferentes durante 10 dias a 37°C sem misturar. As soluções de remineralização foram

0,5% em peso/volume de CPP-ACP ajustado para pH 5,5 com HCl e CPP-ACP supercarregado preparado no Exemplo 1.

Após a remineralização cada par de blocos foi desidratado em etanol e embutido dentro da resina de metilmacrilato (Paladur, Kulzer, Alemanha). Três seções de 5 200-300  $\mu\text{m}$  foram cortadas perpendiculares à superfície da lesão, enroladas até  $80 \pm 5 \mu\text{m}$  e radiografadas ao lado de um escala de alumínio de  $10 \times 14 \mu\text{m}$  de incrementos grossos como previamente descrito.

As imagens radiográficas das lesões foram vistas por luz transmitida por um microscópio Dilux 22 (Ernst Leitz Wetzlar, Alemanha). As imagens foram adquiridas através de máquina fotográfica de vídeo (Sony DXC 930P) e digitalizadas (Scion imaging corporation, captor de cor 7) sob o controle de software de imageamento (Ideal 6.2). As imagens das lesões, controles e a escala de alumínio foram escaneados como previamente descrito por Shen e outros [Shen P. e outros, 15 (2001) *J. Dent. Res.* 80, 2066-2070]. A espessura da seção de esmalte foi medida e os dados de porcentagem em volume de 20 mineral foram determinados empregando a equação de Angmar [Angmar B. e outros, (1963) *Ultrastructural Res* 8, 12-23] como previamente descrito por Shen e outros [Shen P. e outros, (2001) *J. Dent. Res.* 80, 2066-2070]. A porcentagem de remineralização (% de R) também foi calculada como previamente descrito por Shen e outros [Shen P. e outros, 25 (2001) *J. Dent. Res.* 80, 2066-2070].

A remineralização das lesões de sub-superfície de esmalte é mostrada na Fig. 1.

Os resultados da Figura 1 demonstram que uma solução de CPP-ACP supercarregada (sCPP-ACP) é superior a uma solução de CPP-ACP normal na remineralização de lesões de sub-superfície de esmalte *in vitro*.

5 EXEMPLO 4

A capacidade das formulações de pasta de dente que contêm CPP-ACP supercarregado (sCPP-ACP) para remineralizar lesões de sub-superfície de esmalte foi investigada em um estudo clínico aleatorizado, cruzado, duplo-cego, *in situ* que usa o protocolo de Reynolds e outros [Reynolds E.C. e outros, (2003) *J Dent Res.* 82, 206-211]. Dez indivíduos usaram dispositivos palatais removíveis com seis metades de prancha de esmalte humano, que contêm lesões desmineralizadas de sub-superfície preparadas como descrito no Exemplo 3.

10 A outra metade de cada prancha de esmalte foi armazenada em um recipiente umedecido e foi empregada como a lesão desmineralizada de controle. Houve sete tratamentos no estudo, pasta de dente B que contém 0,2% em peso/peso de CPP-ACP normal, pasta de dente C que contém 0,2% de CPP-ACP/1,0% de CaHPO<sub>4</sub> (referido na Figura 2 e Exemplo 5 como "1,2% de sCPP-ACP"), pasta de dente E que contém 1,0% de CaHPO<sub>4</sub>, pasta de dentes F que contém 1000 ppmF, pasta de dentes G que contém 1,2% de sCPP-ACP mais 1000 ppmF, pasta de dentes D que contém 0,2% de CPP-ACP/1,8% de CaHPO<sub>4</sub> (referido na Figura 2 e Exemplo 5 como "2,0% de sCPP-ACP"), e uma pasta de dentes de controle A (placebo). As pastas foram empregadas durante períodos de 30 segundos, quatro vezes por dia. Os dispositivos foram usados ao mesmo tempo em que empregando a pasta

e em seguida durante 1 hora após usar a pasta. Cada tratamento foi durante 14 dias de duração e cada um dos dez indivíduos realizou cada tratamento com uma pausa de uma semana entre os tratamentos. Na conclusão de cada tratamento as pranchas de esmalte foram removidas, emparelhadas com seus respectivos controles desmineralizados, embutidas, seccionadas e submetidas a microrradiografia e análise de imagem densitométrica auxiliada por computador para determinar o nível de remineralização. Os resultados apresentados como porcentagens de remineralização de esmalte (% de R), são mostrados na Fig. 2 e demonstram que 0,2% de CPP-ACP supercarregado com ou 1,0% de CaHPO<sub>4</sub> (1,2% de sCPP-ACP) ou 1,8% de CaHPO<sub>4</sub> (2,0% de sCPP-ACP) remineralizam as lesões de superfície de esmalte significantemente melhor do que o CPP-ACP normal a 0,2% ou o CaHPO<sub>4</sub> sozinho na mesma concentração. A pasta de 2,0% de sCPP-ACP foi significantemente melhor do que a pasta que contém 1000 ppm de fluoreto. Além disso, 1,2% de sCPP-ACP mais 1000 ppm F mostraram um efeito aditivo sobre 1,2% de sCPP-ACP ou 1000 ppm F sozinho.

#### 20 EXEMPLO 5

Formulações de pasta de dentes que contêm CPP-ACP supercarregado (sCPP-ACP)

#### Formulação 1

Ingrediente	% em peso/volume		
	1	2	3
Sorbitol	53,0	53,0	53,0

Silica (Zeodent 119)	20,0	20,0	20,0
Áqua Purificada	equili-	equili-	equili-
Sulfato de laurila de brio	brio	brio	brio
sódio	4,0	4,0	4,0
sCPP-ACP	1,2	1,2	2,0
Monofluorofosfato de sódio	0,3	-	-
Flavorizante	1,0	1,0	1,0
Carboximetilcelulose de sódio	0,75	0,75	0,75
Dióxido de titânio	0,525	0,525	0,525
Goma xantan	0,475	0,475	0,475
Sacarina de sódio	0,350	0,350	0,350
pH ajustado para 7,0 com ácido fosfórico			

## Formulação 2

Ingrediente	% em	pe-	% em	pe-	% em	pe-
	so/volume	so/volume	so/volume	so/volume	so/volume	so/volume
	1	2		3		
Sorbitol	22,0		22,0		22,0	
Musgo Irlandez	1,0		1,0		1,0	
Gantrez	19,0		19,0		19,0	
Áqua Purificada	equili-		equili-		equili-	
Monofluorofosfato de sódio	brio		brio		brio	
Sacarina de sódio	-		-		0,76	
	0,3		0,3		0,3	

Pirofosfato	2,0	2,0	2,0
Alumina hidratada	47,0	47,0	47,0
Flavorizante	0,95	0,95	0,95
sCPP-ACP	1,0	2,0	2,0
Sulfato de laurila	2,0	2,0	2,0
de sódio			
pH ajustado para 5-7			
com NaOH			

## Formulação 3

Ingrediente	%	em	pe-
		so/volume	
Diidrato de fosfato de dicálcio	45,0		
Sorbitol	10,0		
Glicerol	10,0		
Carboximetilcelulose de sódio	1,0		
Sulfato de laurila de sódio	1,5		
Sarcosinato de laurila de sódio	0,5		
Flavorizante	1,0		
Sacarina sódica	0,1		
Monofluorofosfato de sódio	0,3		
Gliconato de clorexidina	0,01		
Dextranase	0,01		
sCPP-ACP	5,0		
Água Purificada		equilíbrio	
pH ajustado para 5-7 com ácido			
fosfórico			

## Formulação 4

Ingrediente	%	em	pe-
		so/volume	
Sorbitol	22,0		
Musgo Irlandez	1,0		
Gantrez	19,0		
Água Purificada	equilibrio		
Sacarina de sódio	0,3		
Pirofosfato	2,0		
Alumina hidratada	43,0		
Monofluorofosfato de sódio	0,3		
Flavorizante	0,95		
sCPP-ACP	5,0		
Sulfato de laurila de sódio	2,0		
pH ajustado para 5,5 com NaOH			

## Formulação 5

Ingrediente	%	em	pe-
		so/volume	
Diidrato de fosfato de dicálcio	45,0		
Sorbitol	10,0		
Glicerol	10,0		
Carboximetilcelulose de sódio	1,0		
Sulfato de laurila de sódio	1,5		

Sarcosinato de laurila de sódio	0,5
Flavorizante	1,0
Sacarina sódica	0,1
Gliconato de clorexidina	0,01
Dextranase	0,01
Monofluorofosfato de sódio	0,3
sCPP-ACP	5,0
Água Purificada	equilibrio
pH ajustado para 5-7 com ácido fosfórico	

## Formulação 6

Ingrediente	% em peso/volume	
	1	2
Sorbitol	53,0	53,0
Sílica (Zeodent 119)	20,0	20,0
Água Purificada	equili-	equili-
Sulfato de laurila de sódio	brio	brio
sCPP-ACP	4,0	4,0
Monofluorofosfato de sódio	5,0	5,0
Fosfato de diidrogênio de sódio	-	0,3
Flavorizante	1,45	1,45
Carboximetilcelulose de sódio	1,0	1,0
Dióxido de titânio (Rutile)	0,75	0,75
Goma xantan	0,525	0,525
Sacarina de sódio	0,475	0,475
Fluoreto de sódio	0,350	0,350

37  
✓

---

pH ajustado para 5-7 com ácido fosfó- 0,243 -  
rico/NaOH

---

## Formulação 7

Ingrediente	% em peso/volume	
	1	2
Sorbitol (70% da solução)	31,0	31,0
Água Purificada	equilí-	equilí-
Sílica	brio	brio
Glicerol	17,0	17,0
Sulfato de laurila de sódio	8,0	8,0
Polietileno Glicol 3000	4,0	4,0
Fluoreto de sódio	1,0	1,0
Dióxido de titânio (Rutile)	0,243	-
Goma xantan	0,525	0,525
Carboximetilcelulose de sódio	0,475	0,475
Sacarina de sódio	0,5	0,5
Pirofosfato de ácido de sódio	0,286	0,286
Pirofosfato de tetra sódio	2,4	2,4
Flavorizante	2,2	2,2
sCPP-ACP	1,0	1,0
Monofluorofosfato de sódio	5,0	5,0
pH ajustado para 5-7 com ácido fosfó- -		0,3
rico/NaOH		

---

## Exemplo 6

## Formulações Anti-sépticas bucais

Y

## Formulação 1

Ingrediente	% em peso/volume
Etanol	10,0
Flavorizante	1,0
Sacarina sódica	0,1
Monofluorofosfato de sódio	0,3
Gliconato de clorexidina	0,01
Dietanolamida de lauroíla	0,3
sCPP-ACP	5,0
Água	equilíbrio
pH ajustado para 5,5 empregando ácido fosfórico/NaOH	

## Formulação 2

Ingrediente	% em peso/volume
Gantrez	2,5
Glicerina	10,0
Óleo flavorizante	0,4
Gliconato de clorexidina	0,01
Dietanolamida de lauroíla	0,2
sCPP-ACP	5,0
Água	equilíbrio
pH ajustado para 5,5 empregando ácido fosfórico/NaOH	

## Exemplo 7

## Formulação de Pastilhas

## Formulação 1

Ingrediente	% em peso/volume
Açúcar/álcool de açúcar	75-80
Xarope de milho	1-20
Óleo flavorizante	1-2
sCPP-ACP	5,0
Esterato de Mg	1-5
Água	equilibrio
pH ajustado para 5,5 empregando ácido fosfórico/NaOH	

## Exemplo 8

## Formulação de Chiclete

## Formulação 1

Ingrediente	% em peso/volume
Base de goma	30
Carbonato de cálcio	2,0
Sorbitol Cristalino	53,0
Glicerina	0,5
Óleo flavorizante	0,1

61  
Y

---

sCPP-ACP	5,0
Água	equilibrio
pH ajustado para 5,5 empregando ácido fosfó- rico/NaOH	

---

Deve ser entendido que a invenção descrita e definida nesta especificação se estende a todas as combinações alternativas de duas ou mais das características individuais mencionadas ou evidentes a partir do texto ou desenhos. Todas estas combinações diferentes constituem vários aspectos alternativos da invenção.

27  
X

REIVINDICAÇÕES

1. Complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfó ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfó, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP.

2. Complexo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o PP é fosfopeptídeo de caseína (CPP).

10 3. Complexo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o teor de íon de cálcio é na faixa de 30 a 50 moles de cálcio por mole de PP.

4. Formulação de cuidado oral, **CARACTERIZADA** pelo fato de que inclui um complexo de acordo com a reivindicação 1.

15 5. Método para produzir um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfó (ACP) e/ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfó (ACFP), **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP incluindo as etapas de:

(i) obter uma solução incluindo um complexo de PP-ACP e/ou PP-ACFP; e

20 25 (ii) misturar com íons de cálcio e fosfato, ao mesmo tempo em que mantendo o pH da solução a menos do que 7.

6. Formulação de um complexo de PP estabilizado ACP e/ou ACFP **CARACTERIZADA** pelo fato de que é junto com pe-

X

lo menos uma quantidade igual em peso de fosfato de cálcio.

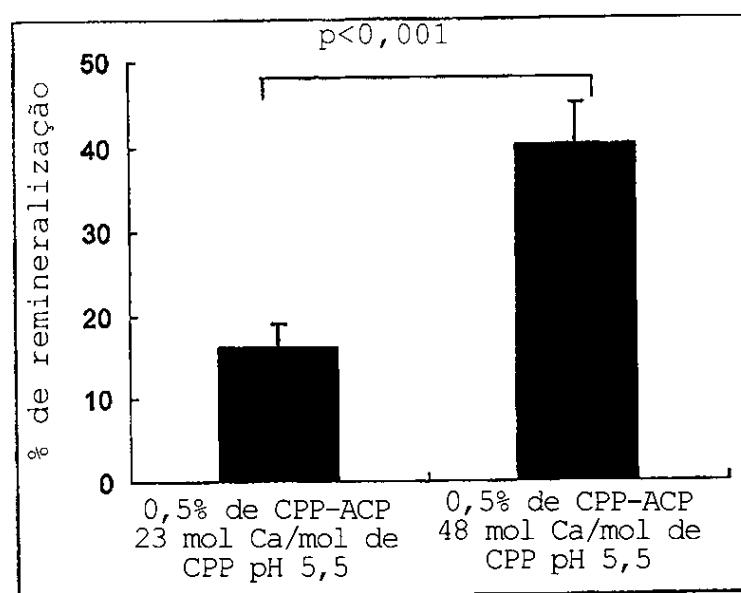
7. Formulação, de acordo com a reivindicação 6,  
**CARACTERIZADA** pelo fato de que o fosfato de cálcio está na forma de CaHPO<sub>4</sub>.

5 8. Formulação de cuidado oral, **CARACTERIZADA** pelo fato de que inclui uma formulação de acordo com reivindicação 7.

9. Uso de um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para remineralizar uma superfície ou sub-superfície dentária.

15 10. Uso de um complexo de fosfopeptídeo ou fosfoproteína (PP) estabilizado-fosfato de cálcio amorfo ou fosfato de fluoreto de cálcio amorfo que tem um teor de íon de cálcio maior do que cerca de 30 moles de cálcio por mole de PP **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para a prevenção e/ou tratamento de uma ou mais dentes cárries dentais, erosão/corrosão dentária, hipersensibilidade dentária e cáculo dentário.

FIG. 1



Y

FIG. 2

