



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012133316/15, 14.02.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.02.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
12.02.2010 US 61/303,774

(43) Дата публикации заявки: 20.03.2014 Бюл. № 8

(45) Опубликовано: 10.07.2016 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 2004/0034042 A1, 19.02.2004. DE
1492185 A, 04.12.1969. RU 2311899 C2,
10.12.2007. US 2005/0152852 A1, 14.07.2005. US
2005/0054682 A1, 10.03.2005. US 6183711 B1,
06.02.2001.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 12.09.2012(86) Заявка РСТ:
US 2011/024734 (14.02.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/100671 (18.08.2011)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,
ПАТЕНТИКА

(72) Автор(ы):

САДЕГХПУР Арман (US),
НАКАМОТО Тецуо (US)

(73) Патентообладатель(и):

ТЕОКОРП ХОЛДИНГ КО., ЛЛС (US)

(54) СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ ПРОЧНОСТИ ЗУБОВ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области средств и способов ухода за зубами. Предлагаемая композиция для реминерализации по меньшей мере одного зуба содержит: а) выделенный теобромин или его соль или двойную соль; б) по меньшей мере один источник кальция; с) по меньшей мере один источник фосфата; и d) рН от 5,0 до 8,5. Предлагаются также способ лечения кариеса у нуждающегося в этом млекопитающего и способ увеличения твердости на вдавливание по меньшей мере одного зуба, включающие введение композиции

вышеуказанного состава указанному млекопитающему. Использование группы изобретений позволяет достичь образования защитного покрытия и поверхностной рекристаллизации на поверхности эмали, повышения микротвердости зуба, повышения реминерализации исцарапанного зуба и повышенного отложения фосфата кальция, что дает возможность предотвращения и лечения кариеса зубов. 3 н. и 27 з.п. ф-лы, 14 ил., 4 табл., 7 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 591 084** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

A61K 31/522 (2006.01)

A61K 33/06 (2006.01)

A61K 33/42 (2006.01)

A61P 1/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012133316/15, 14.02.2011**

(24) Effective date for property rights:
14.02.2011

Priority:

(30) Convention priority:
12.02.2010 US 61/303,774

(43) Application published: **20.03.2014** Bull. № 8

(45) Date of publication: **10.07.2016** Bull. № 19

(85) Commencement of national phase: **12.09.2012**

(86) PCT application:
US 2011/024734 (14.02.2011)

(87) PCT publication:
WO 2011/100671 (18.08.2011)

Mail address:

**190000, Sankt-Peterburg, VOKH-1125,
PATENTIKA**

(72) Inventor(s):

**SADEGKHPUR Arman (US),
NAKAMOTO Tetsuo (US)**

(73) Proprietor(s):

TEOKORP K HOLDING KO., LLS (US)

(54) METHODS AND COMPOSITIONS FOR IMPROVING MECHANICAL STRENGTH OF TEETH

(57) Abstract:

FIELD: dentistry.

SUBSTANCE: group of inventions relates to devices and methods for tooth care. Disclosed composition for remineralisation of at least one tooth comprises: a) isolated theobromine, or a salt or double salt thereof; b) at least one source of calcium; c) at least one source of phosphate; and d) a pH 5.0-8.5. Invention discloses a method of treating caries in a mammal in need thereof and method of increasing hardness on

impression at least one tooth, including administration of composition of said make-up to said mammal.

EFFECT: using group of inventions enables to form a protective coating and surface recrystallisation on surface of enamel, increases of microhardness of tooth, increases remineralisation of scratched tooth and increases deposition of calcium phosphate, which enables to prevent and treat caries.

30 cl, 14 dwg, 4 tbl, 7 ex

1. Область техники

Настоящая заявка относится к композициям и способам предотвращения кариеса зубов. В частности, настоящая заявка относится к водным композициям и способам улучшения механической прочности зубов.

2. Описание близких областей техники

Кариес зубов является одним из наиболее распространенных предотвратимых заболеваний, от которого страдают люди и животные во всем мире. Кариес зубов (разрушение зуба, образование полости) вызывают бактериальные процессы, которые разрушают твердую структуру зуба (например, эмаль, дентин и цементное вещество). Такие зубные структуры разрушаются постепенно с образованием отверстий в зубах (зубного кариеса). Две группы бактерий - *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* spp. - образуют молочную кислоту в присутствии способных к ферментации углеводов, таких как сахароза, фруктоза и глюкоза, и в значительной степени отвечают за инициирование кариеса. Зубы, состоящие, главным образом, из минеральных веществ, постоянно подвергаются деминерализации и реминерализации - процессам, протекающим между зубами и окружающей их слюной.

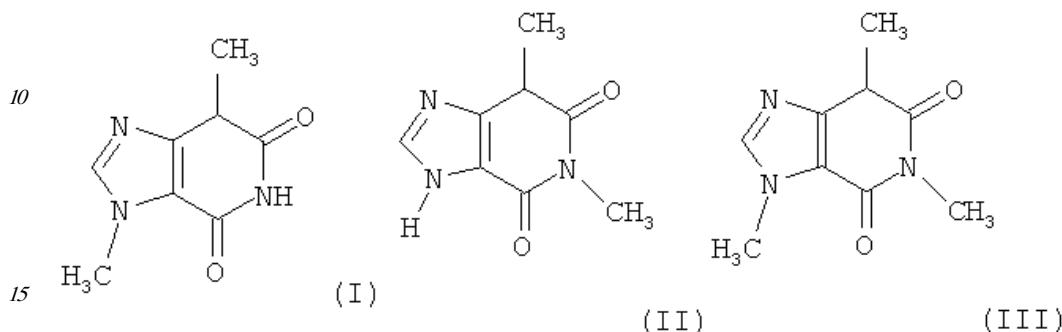
Гидроксилапатит - кристаллический фосфат кальция - является основным минеральным веществом поверхности зубной эмали и имеет общую формулу $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, которую обычно записывают как $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, чтобы указать, что кристаллическая элементарная ячейка состоит из двух фрагментов. Когда pH на поверхности зуба становится ниже 5,5, деминерализация протекает быстрее, чем реминерализация (т.е. на поверхности зуба в целом происходит потеря гидроксилапатита). Такая утрата минеральной структуры приводит к разрушению зуба. При отсутствии лечения это заболевание может привести к боли, потере зуба, инфекции и, в крайних случаях, смерти.

Для предотвращения кариеса зубов стоматологи рекомендуют чистить зубы по меньшей мере дважды в день, используя фторидсодержащее средство для чистки зубов, удаляющее зубной налет. Фторид помогает предотвратить кариес за счет связывания с гидроксилапатитными поверхностями в зубной эмали, образования фторапатита и придания эмали большей устойчивости к деминерализации (и, таким образом, большей устойчивости к разрушению). Фторид также обычно добавляют в коммунально-бытовое водоснабжение для профилактики кариеса зубов, но Национальный исследовательский совет (действующий под эгидой Национальной академии наук, Национальной инженерной академии и Института медицины), недавно пришел к выводу, что уровни фтора, обнаруженные в коммунально-бытовом водоснабжении, и уровни фтора, известные как вызывающие токсические эффекты, находятся в опасной близости друг к другу.

С середины двадцатого века практически не разрабатывались технические новшества в отношении коммерческих зубных паст. Активный противокариесный ингредиент во всех коммерческих зубных пастах представляет собой либо 0,24% фторид натрия (NaF , 0,15% масс/об. иона фторида), либо 0,76% монофторфосфат натрия (Na_2FPO_3 , 0,14% масс/об. иона фторида). Недавние инновации на рынке коммерческих зубных паст касаются ароматизирующих веществ, абразивов или отбеливателей, а не борьбы с образованием полостей.

Теобромин (название ИЮПАК: 3,7-диметил-2,3,6,7-тетрагидро-1H-пурин-2,6-дион; также известен как 3,7-диметилксантин) представляет собой белый (или бесцветный) кристаллический порошок с горьким вкусом и температурой сублимации 290-295°C,

температурой плавления 357°C и молекулярной массой 180,16 г/моль. Растворимость теобромина в воде составляет 1,0 г/2 л; в кипящей воде растворимость составляет 1,0 г/150 мл и в 95% этаноле растворимость составляет 1,0 г/2,2 л. Теобромин химически близок к кофеину и теofilлину и обнаруживается в многочисленных продуктах питания, в том числе шоколаде, какао, чайных листьях и ягодах асаи. Химические структуры теобромина, теofilлина (1,3-диметилксантина) и кофеина (1,3,7-триметилксантина) приведены ниже в виде формул I, II и III соответственно.



В природе теобромин обнаружен в какао-бобах (*Theobroma cacao*) в концентрации от примерно 1,5% до примерно 3% и в кожце бобов в концентрации от примерно 0,7% до примерно 1,2% или от примерно 15 до примерно 30 г/кг (Winholdz, 1983). Хотя теобромин и кофеин являются частью одного и того же химического семейства, следует отличать стимулирующие эффекты теобромина от эффектов кофеина. Кофеин действует сравнительно быстро и его основной эффект на людей связан с увеличением психической активности; воздействие теобромина более тонкое и вызывает подъем настроения, который слабее выражен, но продолжается дольше, чем в случае кофеина. Период полувыведения теобромина из плазмы ($t_{1/2}$) в кровотоке составляет шесть часов, тогда как кофеина - только два часа. Другое различие состоит в том, что теобромин не вызывает физиологического привыкания, не проявляет симптомов отмены после длительного регулярного потребления, тогда как кофеин, как было доказано, вызывает физиологическое привыкание и связан со многими случаями доказанного синдрома отмены.

Два независимых исследования, проведенные в 1980-х годах, обнаружили, что средний уровень теобромина в восьми вариантах коммерческого какао-порошка составлял 1,89% (Shively & Tarka, 1984 и Zoumas et al., 1980). Особую важность представляют обычные уровни теобромина, обнаруженные в коммерчески доступных продуктах питания, показанные ниже в таблице 1.

| Таблица 1 | |
|---|-------------------------|
| Вид продукта питания | Содержание теобромина |
| Горячие шоколадные напитки | 65 мг/5-унциевая порция |
| Шоколадное молоко (из быстрорастворимого или подслащенного какао-порошка) | 58 мг/порция |
| Горячее какао (среднее из 9 коммерческих смесей) | 62 мг/ порция |
| Хлопья из какао* | 0,695 мг/г |
| Хлебобулочные изделия с шоколадом* | 1,47 мг/г |
| Шоколадные начинки* | 1,95 мг/г |
| Какао-напитки* | 2,66 мг/г |
| Шоколадное мороженое* | 0,621 мг/г |
| Шоколадное молоко* | 0,226 мг/г |
| Шоколадный пудинг* | 74,8 мг/порция |
| Продукты из рожкового дерева* | 0-0,504 мг/г |

Источники: Zoumas, et al., 1980; Blauch & Tarka, 1983; Shivley & Tarka, 1984; Craig &

Nguyen, 1984.

* Содержание теобромина определено с применением ВЭЖХ/колоночной обращенно-фазной хроматографии

Темный шоколад содержит наиболее высокие уровни теобромина на порцию любого вида шоколада, но эти концентрации проявляют тенденцию к изменению в диапазоне от примерно 0,36% до примерно 0,63%. В качестве сравнения с продуктами питания, приведенными в таблице 1, плитка темного шоколада в одну унцию содержит примерно 130 мг теобромина, тогда как плитка молочного шоколада в одну унцию содержит примерно 44 мг теобромина. Таким образом, концентрация теобромина плитке темного шоколада в одну унцию приблизительно в два раза больше, чем в 5-унциевой чашке горячего шоколада. Для людей весом 143 фунта для достижения токсичного уровня теобромина в крови, необходимо за один присест съесть приблизительно 86 плиток молочного шоколада в одну унцию.

Теобромин можно также выделить или получить в виде аминной соли, например его этилендиаминной соли или его двойной соли (например, с солями щелочных металлов или солями щелочноземельных металлов органических кислот, например солями щелочных или щелочноземельных металлов уксусной, глюконовой, бензойной или салициловой кислоты). Двойные соли можно получать, чтобы либо сделать теобромин более водорастворимым, либо создать нерастворимые комплексы.

В 1966, Stralfors сообщил об уменьшении кариеса зубов у хомяков, которых кормили кормом, богатым шоколадом. В работе Stralfors влияние на кариес у хомяков было изучено путем сравнения какао-порошка, обезжиренного какао-порошка и какао-жира. Чистый какао-порошок подавлял кариес зубов на 84%, 75%, 60% и 42%, когда содержание какао-порошка составляло 20%, 10%, 5% и 2% процента от корма хомяков соответственно. Обезжиренный какао проявлял значительно более высокий противокариесный эффект, чем какао-порошок, содержащий жир, но один какао-жир (составляющий 15% от корма хомяка) значительно увеличивал кариес зубов (Stralfors A. "Effect on Hamster Caries by Dialyzed, Detanned or Carbon-treated Water-Extract of Cocoa" Arch Oral Biol. 1966;11:609-15).

В следующем исследовании Stralfors изучал не содержащие жир части какао-порошка и показал, что какао-порошок, промытый водой, обладал значительно меньшим противокариесным действием, чем непромытый какао-порошок. Тем не менее, Stralfors все-таки наблюдал значительный противокариесный эффект промытого какао-порошка, "что указывает на существование кариостатического фактора, связанного с нерастворимостью в воде", и намекал на существование "двух подавляющих кариес веществ в какао: одно водорастворимое и другое, которое плохо растворимо в воде" (Stralfors, A., 1966).

В ходе последующих исследований предположили, что апатитовые кристаллы, выращенные *in vitro* в присутствии теобромина, были значительно больше, чем кристаллы, выращенные в отсутствие теобромина (см., например, патенты США №№5919426 и 6183711, каждый из которых в полном объеме включен в настоящий документ посредством ссылки). Прием внутрь теобромина лактирующими крысами коррелировал с повышением размеров кристаллитов гидроксилапатита (более высокая кристалличность) во всех первых коренных зубах вскармливаемых крысят, подвергаемых воздействию теобромином, относительно контрольных животных, а также с повышением устойчивости к кислотному растворению (см. там же). Бедренные кости вскармливаемых крысят женского пола, подвергаемых воздействию теобромином, продемонстрировали более высокую кристалличность и были прочнее и жестче, чем в

случае подходящих по полу контрольных животных; бедренные кости крысят мужского пола, однако, не проявляли такой зависимости (см. там же.).

Однако зависимость Холла-Петча диктует, что устойчивость твердого материала к постоянной деформации (например, его твердость на вдавливание) увеличивается при уменьшении размера частиц. Соответственно, повышенная кристалличность гидроксилапатита, наблюдаемая после воздействия теобромином - связанная с зависимостью Холла-Петча - предполагает, что устойчивость кости и зубов к вдавливанию и постоянной деформации должны уменьшаться после воздействия теобромином вследствие большего размера кристаллов. Это предположение находит подтверждение в недавней работе, показавшей, что "твердость [гидроксилапатита] является следствием зависимости Холла-Петча, поскольку размер зерен уменьшается от суб-микрометров до нанометров" (Wang J. et al. "Nanocrystalline hydroxyapatite with simultaneous enhancements in hardness and toughness" *Biomaterials*. 2009; 30:6565-72). Еще одно исследование предполагает, что "твердость" гидроксилапатита имеет весьма отдаленное отношение к размеру частиц, о чем свидетельствует почти полное отсутствие изменения твердости с уменьшением размера зерен, все-таки демонстрирует что "сопротивление развитию трещины" гидроксилапатита возрастает с уменьшением размера частиц (Mazaheri M, et al. "Effect of a novel sintering process on mechanical properties of hydroxyapatite ceramics" *J. Alloys Compd.* 2009; 471:180-4). Исследование зубов взрослых людей и молочных зубов (маленьких детей) показало, что "при сравнении с зубом взрослого человека, эмаль зуба маленького ребенка была более тонкой, более мягкой, более склонной к растрескиванию и содержала зерна [гидроксилапатита] большего размера" (Low IM, et al. "Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth". *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Ann.* 2008: 28:243-47).

Из-за таких противоречивых и парадоксальных результатов невозможно экстраполировать известные характеристики, и реакции гидроксилапатита на факторы окружающей среды, необходимые для прогнозирования надежного и точного результата, невозможно предсказать лишь на основе оценки уровня техники и экстраполяции результата.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно одному варианту реализации изобретения в настоящем описании предложена композиция, содержащая выделенный теобромин, по меньшей мере один источник кальция, по меньшей мере один источник фосфата и рН в диапазоне от примерно 6,0 до примерно 8,5. По меньшей мере один источник кальция можно выбрать из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций. По меньшей мере один источник фосфата можно выбрать из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидроортофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, динатрия гидрофосфата, тринатрийфосфата и их комбинаций. Композиция может дополнительно, содержать по меньшей мере один изотонический агент. Изотонический агент может представлять собой многоатомный спирт. Многоатомный спирт можно выбрать из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций. Композиция может дополнительно содержать по меньшей мере один загуститель. Загуститель можно выбрать из группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и их комбинаций. Композиция может дополнительно содержать антибактериальный агент. Антибактериальный агент может представлять собой триклозан, перекись водорода (H_2O_2), метил-4-гидроксibenзоат, гвоздичное

масло, бензалконий хлорид или их комбинации.

В одном аспекте этого варианта реализации изобретения композицию получают для увеличения твердости по меньшей мере одного зуба, при этом указанная композиция увеличивает указанную твердость в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 1,1% либо фторида натрия либо монофторфосфата натрия. В связанном аспекте, композиция увеличивает указанную твердость в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,5% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В связанном аспекте, композиция увеличивает указанную твердость в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,25% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В связанном аспекте, композиция увеличивает указанную твердость в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,15%) фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия.

Согласно одному варианту реализации изобретения в настоящем описании предложен способ лечения зубных поверхностей у нуждающегося в этом млекопитающего, включающий: получение композиции, содержащей выделенный теобромин, соль теобромина или двойную соль теобромина, по меньшей мере один источник кальция и по меньшей мере один источник фосфата, при этом рН указанной композиции составляет от примерно 6,0 до примерно 8,5; и введение указанной композиции указанному млекопитающему. По меньшей мере один источник кальция можно выбрать из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций. По меньшей мере один источник фосфата можно выбрать из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидроортофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, динаatria гидрофосфата, тринатрийфосфата и их комбинаций. Композиция согласно указанному способу может дополнительно содержать по меньшей мере один изотонический агент. Изотонический агент может представлять собой многоатомный спирт. Многоатомный спирт можно выбрать из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций. Композиция согласно указанному способу может дополнительно содержать по меньшей мере один загуститель. Загуститель можно выбрать из группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и их комбинаций. Композиция может дополнительно содержать антибактериальный агент, противомикробный агент или их комбинации. Антибактериальный агент можно выбрать из группы, состоящей из триклозана, перекиси водорода, метил-4-гидроксibenзоата, гвоздичного масла и их комбинаций.

В одном аспекте указанного варианта реализации изобретения композицию получают для лечения зубной поверхности по меньшей мере одного зуба, при этом указанная композиция лечит указанную зубную поверхность лучше, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 1,1% либо фторида натрия либо монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного способа композиция лечит указанную зубную поверхность лучше, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,5% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного способа композиция лечит указанную зубную поверхность лучше, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,25% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного способа композиция лечит указанную зубную поверхность лучше,

чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,15% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В одном аспекте, указанная зубная поверхность исцарапана, сколота, эродирована, стерта, разъедена, повреждена за счет кариеса и/или повреждена из-за другой травмы.

5 Согласно одному варианту реализации изобретения в настоящем описании предложен способ увеличения твердости на вдавливание по меньшей мере одного зуба, включающий получение композиции, содержащей выделенный теобромин, соль теобромин или двойную соль теобромин, по меньшей мере один источник кальция и по меньшей мере один источник фосфата, при этом рН указанной композиции составляет от примерно 6,0 до примерно 8,5; и введение указанной композиции указанному млекопитающему. По меньшей мере один источник кальция можно выбрать из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций. По меньшей мере один источник фосфата можно выбрать из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидроортофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, динатрия гидрофосфата, тринатрийфосфата и их комбинаций. Композиция согласно указанному способу может дополнительно содержать по меньшей мере один изотонический агент. Изотонический агент может представлять собой многоатомный спирт. Многоатомный спирт можно выбрать из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций. Композиция согласно указанному способу может дополнительно содержать по меньшей мере один загуститель. Загуститель можно выбрать из группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и их комбинаций. Композиция согласно указанному способу может дополнительно содержать антибактериальный агент, 15 противомикробный агент или их комбинации. Антибактериальный агент можно выбрать из группы, состоящей из триклозана, перекиси водорода, метил-4-гидроксibenзоата, гвоздичного масла и их комбинаций. Усиление может дополнительно включать осаждение на указанный зуб нового гидроксилapatита и/или фосфата кальция.

В одном аспекте этого варианта реализации изобретения композицию получают для 30 увеличения твердости на вдавливание по меньшей мере одного зуба, при этом указанная композиция увеличивает указанную твердость на вдавливание в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 1,1% либо фторида натрия либо монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного способа композиция увеличивает указанную твердость на вдавливание в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,5% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76%) монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного способа композиция увеличивает указанную твердость на вдавливание в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,25% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76% монофторфосфата натрия. В одном аспекте указанного 40 способа композиция увеличивает указанную твердость на вдавливание в большей степени, чем средство для чистки зубов, содержащее от 0% до примерно 0,15% фторида натрия или от 0% до примерно 0,76%) монофторфосфата натрия.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Для лучшего понимания природы, задач и преимуществ, описанных в настоящей заявке, следует сделать ссылку на следующее подробное описание, рассматриваемое в сочетании со следующими чертежами, на которых одинаковые номера позиций обозначают одинаковые элементы.

На Фиг.1 показаны вмятины в зубной эмали после испытания на микротвердость.

Пунктирная линия показывает длину (L) длинной диагонали вмятины, применяемую при расчетах числа твердости по Кнупу (НК).

На Фиг.2 показаны микроснимки, полученные на сканирующем электронном микроскопе, контрольного зуба при различных увеличениях.

5 На Фиг.3 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 0,15% NaF (750-кратн. увел.).

На Фиг.4 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 0,25% NaF (750-кратн. увел.).

10 На Фиг.5 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 5 мг/л теобромина (750-кратн. увел.).

На Фиг.6 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 10 мг/л теобромина (250 × 5 mag.).

На Фиг.7 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 200 мг/л теобромина (750-кратн. увел.).

15 На Фиг.8 показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 500 мг/л теобромина (250-кратн. увел.). Пунктирная рамочка на Фиг.8 указывает на участок, показанный на Фиг.9, при 750-кратном увеличении.

20 На Фиг.9 показан участок, ограниченный пунктирным квадратом, показанным на Фиг.8, и показаны вмятины в зубной эмали зуба, подвергнутого воздействию 500 мг/л теобромина (750-кратн. увел.).

Фиг.10 представляет собой гистограмму, демонстрирующую влияние различных концентраций NaF и теобромина на микротвердость.

25 Фиг.11 представляет собой полулогарифмическую диаграмму разброса данных, демонстрирующую влияние различных концентраций NaF и теобромина на микротвердость.

На Фиг.12 показаны три микроснимка, полученные на сканирующем электронном микроскопе, трех различных образцов зуба, исцарапанного алмазным резцом. На Фиг.12А показан такой зуб, выдержанный в контрольном растворе (искусственной слюне); на Фиг.12 В показан такой зуб, выдержанный в растворе, содержащем 0,25% NaF; и на Фиг.12С показан такой зуб, выдержанный в растворе, содержащем 200 мг/л теобромина.

35 Фиг.13 представляет собой гистограмму, демонстрирующую изменение микротвердости по Викерсу образцов зуба, подвергавшихся воздействию согласно модели кариеса, а затем выдержанных в течение 14 дней в искусственной слюне, зубной пасте, содержащей 0,25% NaF, или 200 мг/л теобромина.

Фиг.14 представляет собой гистограмму, демонстрирующую изменение микротвердости по Викерсу образцов зуба, подвергавшихся воздействию согласно модели эрозии, а затем выдержанных в течение 14 дней в искусственной слюне, зубной пасте, содержащей 0,25% NaF, или 200 мг/л теобромина.

40 ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Перед дальнейшим описанием предмета настоящей заявки следует понимать, что такая заявка не ограничена конкретными вариантами реализации изобретения, описанными ниже, поскольку могут быть сделаны вариации конкретных вариантов реализации, находящиеся в рамки объема прилагаемой формулы изобретения. Также следует понимать, что применяемая терминология предназначена для цели описания конкретных вариантов реализации изобретения и не является ограничивающей. Вместе с тем, объем рассматриваемой заявки будет установлен прилагаемой формулой изобретения.

В настоящем описании изобретения и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают существительные во множественном числе, если контекст четко не указывает на иное. Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые, как правило, подразумевает обычный специалист в данной области техники, к которой принадлежит предмет рассматриваемой заявки.

Настоящее описание включает композицию теобромина, применяемую для усиления механической прочности зубов, а также способ усиления механической прочности зубов, включающий введение композиции теобромина согласно настоящему описанию нуждающемуся в этом млекопитающему.

Теобромин согласно рассматриваемым композиции и способу можно выделить или получить в виде аминной соли, например его этилендиаминной соли или его двойной соли (например, с солями щелочных металлов или солями щелочноземельных металлов органических кислот, например солями щелочных или щелочноземельных металлов уксусной, глюконовой, бензойной или салициловой кислоты). Двойные соли можно получать, чтобы либо сделать теобромин более водорастворимым, либо создать нерастворимые комплексы. Подходящие соли присоединения кислоты теобромина включают соли присоединения кислоты, в том числе фармацевтически приемлемые неорганические соли, такие как сульфат, нитрат, фосфат, борат, гидрохлорид и гидробромид, и фармацевтически приемлемые органические соли присоединения кислоты, такие как ацетат, тартрат, малеат, цитрат, сукцинат, бензоат, аскорбат, метансульфонат, α -кето-глутарат, α -глицерофосфат и глюкоза-1-фосфат.

Предпочтительно соль присоединения кислоты представляет собой гидрохлорид. Химия, физические свойства, производство, применение, распространенность, метаболизм, токсичность, анализ и канцерогенность метилксантинов были описаны в обзоре, подготовленном рабочей группой Международного агентства по изучению рака (World Health Organization, Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal, IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 25 51 (1991).

Соединения, входящие в состав композиции теобромина, предпочтительно находятся в фармацевтически приемлемой форме. Под фармацевтически приемлемой формой понимают, среди прочего, фармацевтически приемлемый уровень чистоты, без учета обычных фармацевтических добавок, таких как разбавители и носители, и в отсутствие вещества, которое считается токсичным при обычных уровнях дозирования.

Фармацевтически приемлемый уровень чистоты, в общем, составляет по меньшей мере 50%, без учета обычных фармацевтических добавок, предпочтительно 75%, более предпочтительно 90% и еще более предпочтительно 95%.

Концентрация теобромина может составлять от примерно 0,1 до примерно 1000, от примерно 0,25 до примерно 900, от примерно 0,5 до примерно 800, от примерно 0,5 до примерно 700, от примерно 0,75 до примерно 600, от примерно 1 до примерно 500, от примерно 5 до примерно 500, от примерно 10 до примерно 450, от примерно 25 до примерно 400, от примерно 50 до примерно 350, от примерно 100 до примерно 300, от примерно 150 до примерно 250, от примерно 175 до примерно 225 и предпочтительно примерно 200 мг/л.

Соответственно, в настоящем описании предложена композиция теобромина, содержащая выделенный теобромин или его соль или двойную соль, по меньшей мере один источник кальция и по меньшей мере один источник фосфата, при этом рН композиции составляет от примерно 5 до примерно 10, от примерно 5,5 до примерно 9,5, от примерно 6,0 до примерно 9,0, от примерно 6,0 до примерно 8,5, от примерно

6,5 до примерно 8,5, от примерно 6,8 до примерно 8,2, от примерно 7,0 до примерно 8,0, от примерно 7,2 до примерно 7,8 и, предпочтительно от примерно 7,4 до примерно 7,6.

Композицию теобромина приготавливают для перорального или местного перорального введения и можно приготовить для медленного или быстрого высвобождения активных ингредиентов. Например, композиция теобромина может быть в форме таблеток (в том числе таблеток для рассасывания), камедей (например, жевательной резинки), саше, порошков, гранул, лепешек, способных к ресуспендированию порошков и жидкости, геля или пастообразных препаратов, таких как пероральные растворы или суспензии. В настоящее изобретение включены местные пероральные составы, при необходимости (например, зубная паста, жидкость для полоскания рта, зубная нить, отпускаемые без рецепта капли, полоски с нанесенными покрытиями, ортодонтические и педиатрические лаки, зубные цементы или адгезивы, полировочные пасты, средства для отбеливания зубов и материалы и смолы для пломбирования (как реакционноспособные под действием УФ, так и не реакционноспособные)), а также введение композиции теобромина в продукты питания (например, хлебобулочные изделия, напитки и т.д.) и эндодонтические материалы (например, гуттаперча и т.д., содержащие композиции теобромина), при этом все указанные материалы можно применять в случае предшествующего кислотного травления зубной поверхности или без него (см., например, пример 4, приведенный ниже). Чтобы добиться единообразия при введении, предпочтительно, но не необходимо, приготовить композицию в виде стандартной дозы.

Составы могут содержать традиционные наполнители, такие как связывающие агенты (например, сиропы, такой как кукурузный сироп, гуммиарабик, желатин, сорбит, трагакант, поливинилпирролидон, полиэтиленгликоли (PEG), парафины и другие жиры, какао-масло, заменители какао-масла, гидрогенизированное сало, гидрогенизированные растительные масла, гидрогенизированное хлопковое масло, косточковое пальмовое масло, соевое масло, станоловые эфиры, глицериновые эфиры, эфиры многоатомных спиртов, полиоксиэтиленовые эфиры с гидрофильно-гидрофобным балансом от 0,5 до более 20 и полиэтиленгликоли, моносахариды, олигосахариды (декстроза, моногидрат декстрозы, лактоза, манноза, фруктоза и их производные и смеси), полисахариды, растворы гуммиарабика, гидроляты гидрогенизированного крахмала, глицерин и их смеси; наполнители (например, диоксид кремния, сахара, крахмалы, лактоза, сахароза, сорбит, фруктоза, тальк, стеариновая кислота, стеарат магния, дифосфат кальция, эритритол, ксилит, маннитол, мальтит изомальт, декстроза, мальтоза, лактоза, микрокристаллические целлюлозы, маисовый крахмал, глицин и их смеси); смазывающие агенты (например, стеарат магния, стеарат кальция, тальк, крахмалы, диоксид кремния и их смеси); разрыхлители (например, крахмал, поливинилпирролидон, натрия крахмала гликолят, микрокристаллическая целлюлоза и их смеси); связующие агенты (например, полиэтиленгликоли в твердой форме, моноглицериды (40-90% глицеридов из растительных или животных жиров), ацелированные моноглицериды, гидроколлоидные камеди, другие эмульгаторы или жиры и их смеси); или фармацевтически приемлемые увлажняющие агенты (например, лаурил сульфат натрия).

Твердые композиции для рассасывания или жевательные пероральные композиции можно получить традиционными способами, включающими смешивание, заполнение, таблетирование, вымачивание или т.п. и могут быть в форме, например, таблеток (в том числе таблеток для рассасывания), камедей, саше, порошков, гранул, лепешек, способных к ресуспендированию порошков, жидкости, геля или пастообразных

препаратов, таких как пероральные растворы или суспензии, и продуктов питания, таких как мятные леденцовые карамели, жевательные резинки, конфеты и хлебобулочные изделия. Повторные операции смешивания можно применять для распределения активного агента по всем композициям, в которых используют большие количества наполнителей. Жевательные композиции или композиции для рассасывания можно получить, среди прочего, подвергая исходное сырье, содержащее материал носителя, быстрой обработке в потоке, получая, тем самым, матрицу со сдвигом или "нить", как описано в известном уровне техники. Затем матрицу со сдвигом можно смешать, используя традиционные методы, с активными ингредиентами (например, выделенным теобромином, источником кальция, источником фосфата). Гуттаперчу, преобладающий материал, применяемый для пломбирования пространства внутри зуба после эндодонтической терапии (например, после обработки корневого канала), можно пропитать (например, путем погружения) композицией теобромина согласно рассматриваемому описанию.

Жидкие пероральные препараты могут быть в форме, например, эмульсий, сиропов, жидкостей для полоскания рта (ополаскивателей) или эликсиров или могут присутствовать в виде сухого продукта для восстановления с помощью воды или другой подходящей среды (например, в виде спортивных напитков). Указанные жидкие препараты могут содержать традиционные добавки, такие как суспендирующие агенты, например сорбит, сироп, метилцеллюлоза, желатин, гидроксипропилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, гель стеарата алюминия, гидрогенизированные пищевые жиры; эмульгирующие агенты, например лецитин, сорбитмоноолеат или гуммиарабик; неводные среды (которые могут включать пищевые масла), например миндальное масло, фракционированное кокосовое масло, жирные сложные эфиры, такие как эфиры глицерина, пропиленгликоля или этилового спирта; консерванты, например метил- или пропил-и-гидроксibenzoат или сорбиновая кислота; и при необходимости, традиционные ароматизирующие агенты или красители.

Местные пероральные составы могут быть представлены, например, в виде мазей, кремов, лосьонов, пропитанных перевязочных материалов, гелей, карандашей-гелей, спреев и аэрозолей и могут содержать подходящие традиционные добавки, такие как консерванты и/или растворители, способствующие проникновению лекарственного препарата, и смягчающие средства, входящие в состав мазей и кремов. Составы могут содержать совместимые традиционные носители, такие как кремовые или мазевые основы, и этанол или олеиловый спирт в случае лосьонов.

Теоброминовые композиции и составы могут содержать от примерно 0,01% до примерно 0,1%, до примерно 1,0%, до примерно 2,5%, до примерно 5%, до примерно 10%, до примерно 20%, до примерно 50% или до примерно 99% по массе, предпочтительно от примерно 0,01% до примерно 0,1%, до примерно 1,0%, до примерно 2,5%, до примерно 5%, до примерно 10%, до примерно 20% или до примерно 50% по массе и более предпочтительно от примерно 0,1% до примерно 0,1%, до примерно 1,0%, до примерно 2,5%, до примерно 5%, до примерно 10%, до примерно 20%, до примерно 50% выделенного теобромина в зависимости от состава.

Важно отметить, что устойчивость твердого материала к деформации зависит от его микростойкости на износ (небольшого модуля сдвига) в любом направлении, а не от каких-либо свойств ригидности или жесткости, таких как модуль объемной упругости или модуль Юнга. Исследователи часто путают жесткость и твердость. Например, в статьях иногда описывают материалы, которые отличаются большей твердостью, чем алмаз, но не учитывают анизотропию твердых элементов материалов (различные

значения измеряемых свойств при измерении в разных направлениях). Этот неучет объясняет сообщаемую склонность таких материалов к растрескиванию и отслаиванию с образованием чешуйчатых или игольчатых форм в других измерениях (например, осмий более жесткий, чем алмаз, но всего лишь такой же твердый, как кварц).

5 Зависимость Холла-Петча описывает связь между размерами частиц твердого материала и его устойчивостью к постоянной деформации (например, его твердость на вдавливание) и прогнозирует, что предел текучести увеличивается при уменьшении размеров частиц. Такая зависимость основана на наблюдении, что границы зерен - поверхности раздела между зернами в поликристаллическом материале - препятствуют
10 перемещению дислокаций в материале и что количество дислокаций внутри зерна влияет на легкость, с которой дислокации пересекают границы зерен и перемещаются от зерна к зерну. Таким образом, изменяя размер зерен (например, за счет тепловой обработки или путем изменения скорости затвердевания) можно влиять на перемещение дислокаций и предел текучести. Однако при размере частиц меньше чем примерно 10 нм предел
15 текучести либо сохраняется постоянным, либо уменьшается по мере уменьшения размера частиц.

Предварительные исследования показали, что кристаллы апатита, выращенные *in vitro*, демонстрируют повышенную кристалличность (увеличенный размер зерен) при выращивании в присутствии теобромина. Такой результат *in vitro* воспроизводится в
20 результатах экспериментов, при которых лактирующих самок крыс кормили теобромином и измеряли кристалличность гидроксилапатита в зубах и бедренных костях вскармливаемых крысят. Бедренные кости крысят женского пола проявляли повышенное предельное напряжение сдвига, но бедренные кости крысят мужского пола демонстрировали пониженное предельное напряжение сдвига. Таким образом,
25 увеличение размера зерен, наблюдаемое после воздействия теобромином, предполагает уменьшение предела текучести, особенно с учетом работы Wang с соавторами, продемонстрировавшего, что "твердость [гидроксилапатита] следует зависимости Холла-Петча, когда размер зерен уменьшается от суб-микрометров до нанометров". Повышенный предел текучести у бедренных костей самок крыс, но отсутствие такого
30 повышения у самцов крыс, предполагает - в случае костей - возможность вмешательства фактора, искажающего результаты, например фактора, который повышал пониженный предел текучести, вопреки увеличению размера зерен, у самок, но не самцов.

Не желая быть связанным теорией, заявитель полагает, что травление зубной поверхности усиливает осаждение нового фосфата кальция и/или гидроксилапатита.
35 Одностадийный процесс травления можно применять, используя любую неорганическую кислоту, в том числе, но не ограничиваясь ими, HCl (соляную кислоту), HNO₃ (азотную кислоту), H₂SO₄ (серную кислоту) и/или H₃PO₄ (фосфорную кислоту) и/или любую органическую кислоту, в том числе, но не ограничиваясь ими, молочную кислоту,
40 пировиноградную кислоту, гликолевую кислоту, хлоруксусную кислоту, дихлоруксусную кислоту, трихлоруксусную кислоту, цианоуксусную кислоту, винную кислоту, янтарную кислоту, глутаровую кислоту, малеиновую кислоту, фумаровую кислоту, малоновую кислоту, цитраконовую кислоту, орто-фталевую кислоту, мета-фталевую кислоту, пара-фталевую кислоту, лимонную кислоту, трикарбаллиловую кислоту, 1,3,5-
45 пентантрикарбоновую кислоту, тримеллитовую кислоту, 2-акриламидо-2-метилпропансульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, бензойную кислоту, бромуксусную кислоту, 10-камфорахинонсульфоновую кислоту, 10-камфорасульфоновую кислоту, дибромуксусную кислоту, 2,4-динитрофенол, муравьиную кислоту, фумаровую кислоту, 2-гидрокси-4-метоксибензофенон-5-сульфоновую кислоту,

малеиновую кислоту, 2- нафталинсульфоновую кислоту, азотную кислоту, щавелевую кислоту, *п*-нитрофенол, фенол, эфиры фосфористой кислоты (такие как 2,2'-бис(а-метакрилокси-*б*-гидроксипропоксифенил)пропан дифосфонат (бис-GMA дифосфонат), дибутилфосфит, ди-2-этил-гексилфосфат, ди-2-этил-гексилфосфит, гидроксиэтилметакрилат-монофосфат, глицерилдиметакрилат фосфат, глицерил-2-фосфат, глицерилфосфорную кислоту, метакрилоксиэтил фосфат, пентаэритрит триакрилат монофосфат, пентаэритрит триметакрилат монофосфат, дипентаэритрит пентаакрилат монофосфат и дипентаэритрит пентаметакрилат монофосфат, толуолсульфоновую кислоту, трибромуксусную кислоту, трифторуксусную кислоту, трифторметансульфоновую кислоту и/или тригидроксibenзойную кислоту и их смеси. Можно также применять двухстадийный процесс травления, описанный в примере 4, используя любую из перечисленных выше кислот. Концентрация указанной кислоты или кислот может составлять (независимо) от примерно 0,01 М до примерно 2 М, от примерно 0,025 М до примерно 1,5 М, от примерно 0,05 М до примерно 1 М, от примерно 0,075 М до примерно 0,75 М, от примерно 0,085 М до примерно 0,5 М, от примерно 0,09 М до примерно 0,4 М, от примерно 0,1 М до примерно 0,3 М, от примерно 0,1 М до примерно 0,25 М, от примерно 0,1 М до примерно 0,2 М и предпочтительно примерно 0,1 М. Предпочтительно используют двухстадийный процесс травления, включающий орошение/погружение/воздействие в течение примерно 15 секунд с применением 0,1 М HCl, промывание дистиллированной водой, затем орошение/погружение/воздействие в течение примерно 15 секунд с применением 0,1 М раствора щавелевой кислоты и затем еще раз промывание дистиллированной водой.

В настоящем документе заявители представляют неожиданный и удивительный результат, что зубы человека, подвергаемые воздействию композиции теобромина, демонстрируют значительное повышенную твердость на вдавливание несмотря на сопутствующее увеличение размера зерен. Заявители также представляют дополнительный неожиданный и удивительный результат, что такое воздействие вызывает значительное осаждение нового гидроксилapatита/фосфата кальция на зубные поверхности и что такое осаждение происходит в большей степени, чем осаждение, наблюдаемое в контрольных случаях или при применении NaF. Обнаружение указанных фактов представляет значительный успех в предотвращении повреждения зубов, в том числе растрескивания зубов (в целом), растрескивания эмали, скалывания и кариеса.

ПРИМЕР 1

Исследование фторида относительно теобромина

Используя низкоскоростную пилу Buehler isomet, оборудованную серией алмазных лезвий 15HC, каждый из тринадцати человеческих зубов разрезали на четыре приблизительно равные части, обеспечивая, таким образом, тринадцать групп, содержащих по четыре образца в каждой группе. Заднюю сторону (поверхность среза) каждого образца отшлифовывали, делая ее плоской, и прикрепляли с помощью адгезива к бронзовому зажимному колпачку, оставляя исходную наружную поверхность зуба открытой и доступной для экспериментирования. Один образец из каждой группы (т.е. один образец от каждого зуба) применяли при каждом из трех экспериментальных условий, приберегая один образец на группу (т.е. приберегая один образец на зуб) на тот случай, если плоские участки, подходящие для исследования микротвердости, отсутствовали.

Образцы ежедневно на тридцать минут погружали либо в контрольный раствор (искусственную слюну, показанную в таблице 2), контрольный раствор, содержащий NaF, либо в контрольный раствор, содержащий теобромин. После такого ежедневного

режима погружения образцы промывали дистиллированной водой и помещали в контрольный раствор (искусственную слюну) на время, оставшееся от 24-часового периода. Единственное отклонение от указанного режима промывки имело место на восьмой день, когда стадия промывки была опущена для избежания разрушения поверхности эмали перед воздействием на образцы сканирующей электронной микроскопии (SEM).

Таблица 2

| Реагент | Количество | Предпочтительное количество |
|---------------------------------------|------------|-----------------------------|
| Карбоксиметилцеллюлоза | 0-9,0 г | 9,0 г |
| KCl | 0-1,2 г | 1,2 г |
| NaCl | 0-0,84 г | 0,84 г |
| MgCl ₂ ·6H ₂ O | 0-0,06 г | 0,06 г |
| MgCl ₂ | 0-0,0281 г | 0,0281 г |
| CaCl ₂ - 2H ₂ O | 0,1-1,0 г | 0,32 г |
| K ₂ HPO ₄ | 0,1-1,0 г | 0,34 г |
| Раствор сорбита (70%, водный) | 0-50 г | 42,80 г |
| Ксилит | 0-3,0 г | 3,0 г |
| Масло лимона | 0-0,4 г | 0,4 г |
| Метил-4-гидроксibenзоат | 0-3,0 г | 2,0 г |
| Триклозан | 0-1,5 г | 1,5 г |
| Дистиллированная вода | до 1000 мл | до 1000 мл |
| РН | 6-8,5 | 6-8,5 |

Фторид натрия исследовали при концентрациях, равных 0,15% (примерно 35,7 мМ), 0,25% (примерно 59,5 мМ), 0,5% (примерно 119 мМ) и 1,1% (примерно 262 мМ), представляющих как нижний предел коммерчески доступных концентраций фторида натрия (отпускаемых без рецепта), так и уровень концентрации, отпускаемый по рецепту и составляющий 1,1%. Влияние теобромина исследовали при концентрациях, равных 1 мг/л (примерно 0,006 мМ), 5 мг/л (примерно 0,028 мМ), 10 мг/л (примерно 0,056 мМ), 25 мг/л (примерно 0,139 мМ), 50 мг/л (примерно 0,278 мМ), 100 мг/л (примерно 0,556 мМ), 200 мг/л (примерно 1,11 мМ) и 500 мг/л (примерно 2,78 мМ). В случае теобромина применяли более широкий диапазон доз, поскольку его эффективная доза была неизвестна. Максимальная доза теобромина - 500 мг/л - соответствует среднему уровню теобромина, найденному в коммерческом какао-порошке (примерно 1,89%), как упомянуто выше, и представляет собой верхний предел растворимости теобромина в воде. 500 мг/л теобромин приготавливали путем смешивания 1890 мг (1,89 г) теобромина с литром искусственной слюны.

Чистый гидроксилapatит характеризуется отношением кальция к фосфору (Ca:P), равным 1,67: 1. Трикальция фосфат Ca₃(PO₄)₂ или "ТКФ" является основной примесью, обнаруженной в гидроксилapatите, и может быть определен с помощью рентгеновской дифракции, как отклонение отношения Ca:P от заданного соотношения 1,67:1. Образование трикальция фосфата легко свести к минимуму путем обеспечения присутствия в растворе искусственной слюны достаточного количества кальция (например, в виде хлорида кальция) (Van Der Bijl и De Waal (1993), Kelly et al. (2004)).

Состав, предложенный заявителями, отличается от составов, описанных в литературе тем, что раствор искусственный слюны содержит в два раза больше обычного количества хлорида кальция (0,32 г/л CaCl₂·2H₂O) с тем, чтобы минимизировать образование ТКФ. Увеличение эффективного порогового уровня кальция также представляет особый интерес для разработки средства для чистки зубов, предложенного заявителями.

ПРИМЕР 2

Испытания на микротвердость по Кнупу

Испытания на микротвердость по Кнупу проводили на каждом образце каждый день в течение восьми дней, используя установку для испытаний на микротвердость Buehlet Micromet-1, оборудованную удлиненным ромбовидным инденторным наконечником.

Измерения, проведенные в первый день, отражали исходную твердость каждого образца. Поскольку каждый зуб был разрезан на четыре разных образца, заявители могли сравнить влияние различных экспериментальных условий на ориентировочно одинаковые поверхности эмали. Для групп, в которых все четыре разделенные на части образца от одного зуба имели плоские поверхности, подходящие для испытания на микротвердость по Кнупу, были исследованы дополнительные дозы теобромина, поскольку имелось больше значений для сравнения полученных при изучении экспериментальной группы, использующей теобромин.

Алмазный наконечник Micromet-1 опускали для создания контакта с поверхностью эмали каждого образца зуба. После создания контакта индентор для измерения микротвердости прикладывал к поверхности эмали каждого образца 50 грамм силы в течение 5 секунд. Приложенная сила была ориентировочно перпендикулярна к поверхности эмали. После окончания алмазный наконечник автоматически втягивался, и длину длинной диагонали вмятины, видной на поверхности эмали каждого образца, измеряли с помощью сканирующей электронной микроскопии (см., например, Фиг.1). Длину вмятин использовали для расчета значений микротвердости (числа твердости по Кнупу или "ТК") согласно формуле 1:

$$ТК = \frac{\text{нагрузка}}{\text{площадь}} = \frac{P}{C_p L^2} \quad \text{Формула 1}$$

где значения ТК обычно лежат в диапазоне от 100 до 1 000 паскаль (Па или кгс/мм²; где 1 кгс/мм²=9,80665 МПа); P = нагрузка (в настоящем документе, 50 г-с; площадь = площади отпечатка; C_p = фактор корреляции, связанный с формой индентора, связывающий расчетную площадь вмятины с квадратом длины длинной диагонали (в настоящем документе, для применяемого ромбовидного индентора равен 0,07); и L = длина вмятины вдоль ее длинной оси (мкм).

ПРИМЕР 3

Микроснимки, полученные на сканирующем электронном микроскопе

Микроснимки, полученные на сканирующем электронном микроскопе (SEM), были сделаны с применением цифрового SEM Amray 1820 при ускоряющем напряжении 15 кВ и рабочем расстоянии 18 мм, наклоне образца 25° и конечной апертуре 400 мкм.

Многократные 24-битовые изображения в формате TIFF размером 512×512 пикселей были получены с применением программы EDS 2006, которая является частью интегрированного пакета программного обеспечения, разработанного компанией IXRF Systems Inc. (см., например, Фиг.1-9).

Как объяснено выше в примере 2, длину каждой вмятины, видимой на поверхности эмали каждого образца, измеряли под микроскопом (см., например, Фиг.1, 3-9). Длину вмятин использовали для расчета значений микротвердости (ТК) согласно формуле 1. Зубы, обработанные с помощью композиции теобромина согласно настоящему описанию, демонстрировали значительное защитное покрытие и поверхностную рекристаллизацию на поверхности эмали. Зубы, обработанные с применением 500 мг/л

(примерно 2,78 мМ) композиции теобромина, проявляли такую громадную поверхностную рекристаллизацию, что отложения вновь осажденного гидроксипатита начали покрывать исходные изъеденные и пористые поверхности (см. Фиг.8 и 9). Такие микроснимки, полученные на сканирующем электронном микроскопе, позволяют

5 предположить, что описанная в настоящем документе композиция теобромина действует как некоего рода катализатор для образования гидроксипатита на поверхности зубов.

Как показано на графике Фиг.10, после воздействия на зубы композиции теобромина согласно настоящему описанию в условиях, описанных в примере 1, всего лишь 1 мг/л теобромина (примерно 0,006 мМ) приводил - удивительно и неожиданно - к результатам,

10 эквивалентным результатам, полученным с помощью 0,25% (масс./об.) фторида натрия (примерно 59,5 мМ), количества фторида, которое обычно встречается в коммерческих средствах для чистки зубов. Поскольку монофторфосфат натрия (Na_2FPO_3) содержит один ион фторида на молекулу (также как в случае фторида натрия), профиль доза/ответ, наблюдаемый при применении NaF, как ожидают, является примерно таким же,

15 как и в случае Na_2FPO_3 . Как ясно показано на Фиг.10, всего лишь 25 мг/л теобромина (примерно 0,139 мМ) позволяли получить результаты, эквивалентные результатам, достигаемым с помощью 1,1% фторида натрия (примерно 262 мМ), количества, которое обычно встречается в зубных пастах, отпускаемых по рецепту. Удивительно, теобромин в диапазоне концентраций от 100 мг/л до 500 мг/л приводил к резкому улучшению

20 значений микротвердости в течение 8-дневного периода испытания. Напомним, что 500 мг/л теобромина соответствует среднему уровню теобромина, обнаруженному в коммерческом какао-порошке (примерно 1,89%), как упомянуто выше.

Удивительная и неожиданная эффективность предложенной композиции теобромина дополнительно продемонстрирована на полулогарифмическом графике, приведенном

25 на Фиг.11, на котором молярность растворов фторида натрия и теобромина, применяемая для получения Фиг.10, показана вдоль оси X (графически нанесена на логарифмическую шкалу). Фиг.11 ясно показывает, что композиция теобромина является значительно более эффективной, чем фторид натрия, на основе связи молекулы-с-молекулой, при усилении сопротивления зубов вдавливаю.

30 ПРИМЕР 4

Сравнение воздействия теобромина и NaF на исцарапанные зубы человека

На поверхность эмали удаленных человеческих зубов алмазным резцом наносили царапины. Далее каждый зуб подвергали травлению в течение 15 секунд в 0,1 М HCl, промывали дистиллированной водой, а затем в течение 15 секунд подвергали

35 воздействию 0,1 М раствора щавелевой кислоты и еще раз промывали дистиллированной водой. Затем зубы помещали в 0,2 М Na_2HPO_4 раствор, к которому добавляли либо теобромин (до конечной концентрации 200 мг/л), NaF (до конечной концентрации 0,25%) либо воду (контрольное испытание). Устанавливали pH, равным 7,4-7,6, после чего добавляли при перемешивании раствор 0,2 М CaCl_2 (этот раствор немедленно

40 становится мутным из-за осаждения фосфата Ca). Контролировали pH и сразу же устанавливали его значение в диапазоне от 7,4 до 7,6, по мере необходимости. Как указано выше, конечные концентрации теобромина и NaF составляли 200 мг/л и 0,25% соответственно. Чтобы избежать избытка или Ca или P, использовали объемное

45 соотношение раствора Na_2HPO_4 к раствору CaCl_2 , равное примерно 3:5. Зубы выдерживали в таком режиме при комнатной температуре в течение примерно 90 минут, после чего их извлекали из раствора, осторожно промывали несколько раз дистиллированной водой и затем высушивали в эксикатор в течение 24 часов. После

высушивания зубы покрывали углеродом для визуального отображения с помощью сканирующей электронной микроскопии (SEM). Результаты SEM показаны на Фиг.12-14 и описаны ниже.

На Фиг.12А показан исцарапанный зуб, который выдерживали в контрольном растворе (не содержащем теобромин или NaF) в течение 90 минут. Царапина, сделанная алмазным резцом, показанная стрелками, проходит от верхней части Фигуры до нижней части и является глубокой и отчетливо выраженной. На Фиг.12 В показан исцарапанный зуб, который был выдержан в течение 90 минут в присутствии 0,25% NaF. Царапина, сделанная алмазным резцом, по-видимому, частично заполнена, как показано стрелками, указывающими на тень на поверхности зуба, однако царапина все еще остается широкой. Зубы, выдержанные в присутствии NaF, также содержали небольшие, локализованные минеральные отложения по всей видимой поверхности. На Фиг.12С показан исцарапанный зуб, который был выдержан в течение 90 минут в присутствии 200 мг/л теобромин, проявляющий заметное отличие, как от контрольного эксперимента, так и от эксперимента с применением NaF. Царапина, сделанная алмазным резцом (приблизительное положение показано стрелками), почти полностью скрыта под гладким слоем свежесаженного фосфата кальция.

ПРИМЕР 5

Осаждение фосфата кальция: теобромин относительно NaF

С помощью бормашины были просверлены отверстия в поверхности эмали удаленных человеческих зубов, при этом в каждом зубе были сделаны три отверстия в трех различных местах. После просверливания зубы выдерживали в растворах, как описано в примере 4, кроме того, дополнительный набор зубов выдерживали в присутствии 200 мг/л и 0,25% NaF. После высыхания каждый зуб разрезали для визуализации просверленных отверстий и измерения степени осаждения фосфата кальция в указанных отверстиях. Зубы визуализировали с помощью SEM, как в примере 4, и измеряли степень отложения фосфата кальция для каждого экспериментального условия.

Как показано ниже в таблице 3, все способы обработки приводили к статистически значимому увеличению количества осажденного фосфата кальция по сравнению с контрольным экспериментом. Хотя вдвое выдерживание с применением NaF и теобромином позволяло получить более высокое среднее количество осажденного фосфата кальция, оно не значительно отличалось от количества, получаемого при применении одного NaF. Удивительно, выдерживание с применением одного теобромин приводило к статистически значимому увеличению количества осажденного фосфата кальция по сравнению со всеми другими условиями испытания.

| Таблица 3 | |
|--------------------------------|-------------------------|
| Условия выдерживания | Фосфат кальция (мкм)±CO |
| Контроль | 54±6,1 |
| NaF (0,25%) | 70±8,8 |
| Теобромин (200 мг) | 87±5,5 |
| NaF (0,25%)+теобромин (200 мг) | 84±7,6 |

ПРИМЕР 6

Сравнение теобромин и NaF в модели кариеса

Противокариесный потенциал составов зубных паст на основе теобромин сравнивали со стандартным средством для чистки зубов, содержащим NaF, путем определения реминерализации с начальными кариесными повреждениями в общепризнанной модели in vitro pH циклов при реминерализации/демнерализации.

Образование искусственных повреждений, подобных кариесу После получения

согласия людей-доноров, недавно извлеченные человеческие коренные зубы были собраны из различных клиник Стоматологической школы Научного центра здоровья в Сан-Антонио при Техасском университете (UTHSCSA). Зубы были очищены от зубного налета/красящих веществ и исследованы с применением трансиллюминатора. Зубы без кариеса или повреждений эмали были отобраны и очищены с помощью пемзы для удаления остатков пелликулы со щечной поверхности. С помощью охлаждаемого водой станка для резки алмазной проволокой были изготовлены 3 зубных блока из каждого из 30 применяемых зубов, при этом размер каждого блока приблизительно составлял 3 мм в длину × 2 мм в ширину × 1,5 мм в толщину. Затем, для получения плоской поверхности, с помощью плоской алмазной притирочной пленки (1 мкм) в прецизионной полировальной машине MultiPrep™ (Allied High Tech, США) полировали поверхность эмали каждого блока. После этого на все поверхности каждого блока, за исключением щечной поверхности, наносили два слоя кислотостойкого лака для ногтей. Далее, на такой незащищенной щечной поверхности каждого блока образовалось начальное кариесоподобное повреждение после 7 дней деминерализации в подкисленной гелевой системе, описанной Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. в публикации " Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro" Archives of Oral Biology 1998; 43: 619-628 (включенной в полном объеме посредством ссылки). Указанный гель получали путем добавления 0,10 М гидроксида натрия к 0,10 М молочной кислоте для достижения конечного значения pH, равного 4,5. К этому раствору добавляли 6% масс./об. гидроксиэтилцеллюлозу при энергичном перемешивании. Конечная консистенция полученного геля имела вязкость в диапазоне 100 сП.

После образования повреждения лак для ногтей осторожно и полностью удаляли с помощью ацетона. Таким образом, от каждого зуба (30 зубов) было получено в общей сложности 3 имеющих повреждение блока, которые применяли испытания на реминерализацию (в общей сложности 90 блоков).

Процедура обработки

3 блока от каждого зуба были случайным образом распределены на три экспериментальные группы (n=30, на экспериментальную группу) в зависимости трех подвергаемых испытанию средств для чистки зубов: группа 1: Контрольная зубная паста (не содержащая ни фторид, ни теобромин); группа 2: стандартная зубная паста на основе NaF (например, Colgate, Crest regular), содержащая 0,243% NaF; и группа 3: теоброминовая зубная паста, содержащая 200 мг/л теобромина. Указанные 30 блоков каждой экспериментальной группы были распределены на 3 подгруппы из 10 блоков каждая. С помощью кислотостойкого лака для ногтей, 10 блоков для каждой подгруппы были вставлены в цилиндрический стержень, прикрепленный к крышке 30 мл флакона с цветовой маркировкой с получением в общей сложности трех флаконов для каждой группы средств для чистки зубов.

Исследование реминерализации проводили, используя модель pH циклов (деминерализация/реминерализация), имитирующую активность во внутриротовой среде с максимально возможной достоверностью (см. таблиц 4). Смешанную от нескольких доноров человеческую слюну применяли в качестве среды реминерализации при всех режимах обработки, тогда как подкисленный гель, описанный выше и применяемый для развития начального кариесного повреждения, использовали в качестве кислотной среды. Свежую, смешанную человеческую слюну использовали каждый день. Стандартную суспензию средств для чистки зубов приготавливали путем перемешивания до гомогенности 1 части средства для чистки зубов и 3 частей смешанной человеческой слюны (9 г: 27 мл), используя лабораторный стационарный смеситель.

Свежую суспензию для каждой группы готовили непосредственно перед каждой серией обработки. Циклический режим каждодневной обработки состоял из трех одночасовых обработок кислотой, трех 2-минутных периодов обработки средством для чистки зубов и затем обработки слюной в течение оставшегося времени, как показано ниже в программе обработки, приведенной в таблице 4 (в 1 день на протяжении всего дня проводили обработку слюной, чтобы дать возможность развиваться пелликуле; обработку в последующие дни проводили в соответствии с таблицей 4).

| Таблица 4 | | |
|--------------|--------------------------|--------------------------------------|
| Время начала | Время завершения | Обработка |
| 8:00 | 9:00 | Воздействие кислотой |
| 9:00 | 9:02 | Обработка средством для чистки зубов |
| 9:02 | 12:00 | Обработка слюной |
| 12:00 | 13:00 | Воздействие кислотой |
| 13:00 | 13:02 | Обработка средством для чистки зубов |
| 13:02 | 16:00 | Обработка слюной |
| 16:00 | 17:00 | Воздействие кислотой |
| 17:00 | 17:02 | Обработка средством для чистки зубов |
| 17:02 | 8:00 (на следующий день) | Обработка слюной |

Для обработки 15 мл обрабатывающей среды (смешанной человеческой слюны, суспензии средства для чистки зубов или подкисленного геля) помещали в каждый 30 мл флакон с цветовой маркировкой. Содержимое флаконов перемешивали при скорости 350 об./мин. Перед обработкой один раз в день измеряли pH каждого продукта (одной суспензии). После обработки одной средой образцы промывали проточной деионизированной водой и высушивали бумажным полотенцем перед погружением в следующий агент. Указанный ежедневный режим повторяли в течение 14 дней, после чего 10 блоков от каждой из трех групп извлекали для испытания на микротвердость по Викерсу, как описано ниже.

Оставшиеся 20 блоков от каждой из трех групп (n=60) продолжают обрабатывать в соответствии с программой обработки, приведенной в таблице 4, в течение в общей сложности 28 дней и оценивают, как описано в разделах "Анализ исходных данных, полученных методом поперечной микрорентгенографии (ПМР)" и "Способы последующей обработки".

Анализ микротвердости по Викерсу

Испытания на микротвердость по Викерсу были выполнены на каждом образце (3 группы из 10 блоков каждый, всего 30), с применением алмазного индентора, имеющего форму правильной пирамиды, для нанесения углублений на исследуемый материал.

Микротвердость по Викерсу каждого из указанных блоков измеряли перед процедурой обработки, описанной выше, и еще раз уже после процедуры обработки, продолжавшейся в течение 14 дней. Пирамиду алмазного индентора, имеющую квадратное основание и угол 136° между противоположными гранями, подвергали нагрузке в 25 г-с (грамм-сила) в течение 15 сек времени выдержки. Прилагаемая сила была ориентировочно перпендикулярна к поверхности эмали. После окончания алмазный наконечник автоматически втягивался, и длины двух диагоналей, образованные наконечником и видимые на поверхности эмали каждого образца, измеряли с помощью сканирующей электронной микроскопии и рассчитывали их среднее значение. Твердость по Викерсу (ТВ) рассчитывали путем деления нагрузки (в кгс) на квадрат площади (мм) вмятины согласно формуле 2, где F=нагрузка (кгс) и d=среднее значение двух диагоналей (мм).

$$ТВ = \frac{2F \sin \frac{136^0}{2}}{d^2} = \text{приблизительно } 1,854 \frac{F}{d^2}$$

Как показано на Фиг.13, блоки, подвергнутые воздействию согласно модели кариеса и затем обработанные в течение 14 дней теоброминовой зубной пастой, демонстрировали резкое улучшение ТВ (увеличение поверхностной твердости на 27,5%) по сравнению с блоками, обработанными в течение 14 дней либо искусственной слюной (контрольный эксперимент), либо зубной пастой, содержащей NaF (увеличение поверхностной твердости на 9,4% и 8,5% соответственно).

Анализ исходных данных, полученных методом поперечной микрорентгенографии (ПМР)

От каждого зубного блока, имеющего повреждение, отрезали срез (~150 мкм толщиной), используя охлаждаемый водой станок для резки алмазной проволокой.

Такой срез служил в качестве исходного уровня и применялся перед реминерализацией для определения методом ПМР параметров повреждения (потери минеральных веществ (ΔZ) и глубины повреждения (ГП)) при предварительной обработке (параметров, полученных до начала испытания). Кроме того, такие параметры контрольных срезов используют для выбора повреждений, подходящих для исследования реминерализации.

Для оценки методом ПМР исходные срезы обрабатывают следующим образом. Вначале, обе стороны среза полируют с помощью адгезивной притирочной пленки в прецизионной полировальной машине MultiPrep™ (Allied High Tech, США) для получения плоских параллельных поверхностей, а также уменьшения толщины среза до 100 мкм (подходящей толщины для ПМР). После этого срезы фотографируют методом

микрорентгенографии на стеклянные рентгеновские пластинки высокого разрешения типа 1A (Microchrome Technology, CA, США), применяя систему генераторов рентгеновских лучей Phillips, установленную для этой цели. Указанные пластинки экспонируют в течение 10 минут при анодном напряжении 20 кВ и токе разряда 10 мА, а затем обрабатывают. Обработка заключается в 5 минутном проявлении в проявителе

Kodak HR и 15 мин фиксации в быстром фиксаже Kodak перед заключительным 30 минутным периодом промывки. После высушивания микрорентгенограммы визуализируют и анализируют изображение с применением компьютерной программы, (ПМР2006 версия 3.0,0,6). Аппаратные средства представляли собой оптический микроскоп Leica DMR, связанный через камеру Sony модель XC- 15 75CE CCTV с персональным компьютером. Увеличенное изображение микрорентгенограммы анализируют в стандартных условиях интенсивности света и увеличения и обрабатывают, вместе с данными от изображения ступенчатого клина, с применением программ ПМР. С помощью этого способа для каждого кариозного повреждения количественно определяют параметры интегрированной потери минеральных веществ (ΔZ , об.%хмкм) и глубину повреждения (ГП, мкм).

Способы последующей обработки

После обработки в течение 28 дней зубной срез (~150 мкм толщиной) отрезают от каждого из 60 блоков и обрабатывают для получения микрорентгенограммы, как описано выше в случае контрольного образца. Хотя контрольные срезы фотографируют методом микрорентгенографии и анализируют с целью выбора подходящих повреждений, их следует сфотографировать еще раз вместе со срезами, исследуемыми после испытания, чтобы проанализировать вместе и те и другие срезы для количественного определения ΔZ и ГП, как описано выше при рассмотрении

контрольных срезов.

Это позволяет сфотографировать обе группы методом микрорентгенографии и проанализировать полученные результаты в одинаковых условиях. В результате проведения описанного выше эксперимента получают следующую информацию: 1) полученные методом ПМР параметры повреждений до испытания (ΔZ_1 и ГП₁); 2) полученные методом ПМР параметры повреждений (ΔZ_2 и ГП₂) после испытания; и 3) полученные методом ПМР изображения повреждений, полученные до и после испытания.

Обработка и интерпретация данных

Средние ($n=20$) значения параметров повреждения, потерю минеральных веществ [ΔZ (об.%×мкм)] и глубину повреждения [ГП (мкм)], рассчитывали для групп, подвергаемых исследованию до и после испытания, каждого из трех экспериментальных средств для чистки зубов. Проводят следующие исследования с применением полученных данных и изображений: А) исследуют и описывают, используя полученные методом ПМР изображения, характер и степень реминерализации, происходящей во внутренней структуре каждого повреждения под действием каждого способа обработки. Такие изменения четко проявляются при сравнении помещенных рядом изображений, полученных до и после испытания; и В) для определения любого значительного изменения (реминерализации), произошедшего в тестируемом продукте, сравнивают средние значения измеренных до и после испытания параметров повреждения (ΔZ и ГП) для каждого тестируемого продукта. Однако для сравнения трех указанных тестируемых групп в случае каждого тестируемого продукта определяют процентное изменение параметров повреждения, рассчитанное относительно контрольной группы (процентное изменение используют для ранжирования и сравнения, чтобы предусмотреть тот факт, что хотя три блока получены от одного и того же зуба, параметры повреждения для таких блоков могут отличаться еще на исходном уровне). Процентное изменение рассчитывали согласно формулам 3 и 4:

$$\% \text{ изменения } \Delta Z = \frac{\Delta Z_1(\text{контроль}) - \Delta Z_2(\text{тест})}{\Delta Z_1(\text{контроль})} \cdot 100$$

$$\% \text{ ГП} = \frac{\text{ГП}_1(\text{контроль}) - \text{ГП}_2(\text{тест})}{\text{ГП}_1(\text{контроль})} \cdot 100$$

Анализ статистической мощности

Анализ мощности выполняют с применением программного обеспечения nQuery Advisor (Statistical Solutions, Корк, Ирландия) на основе предварительных результатов, описанных Amaechi BT. в публикации "Pattern of the Effect of Fluoride Varnishes On Early Caries". Dent Res. 2008; 87 (Special Issue B):abst. 1195 (включенной в полном объеме посредством ссылки).

ПРИМЕР 7

Сравнение теобромина и NaF в модели эрозии

Противокариесный потенциал составов зубных паст на основе теобромина сравнивали со стандартным средством для чистки зубов, содержащим NaF, путем определения реминерализации с начальными кариесными повреждениями в общепризнанной модели *in vitro* pH циклов при реминерализации/деминерализации.

Образование искусственных эрозийных повреждений

После получения согласия людей-доноров недавно извлеченные человеческие коренные зубы были собраны из различных клиник Стоматологической школы

Научного центра здоровья в Сан-Антонио при Техасском университете (UTHSCSA). Зубы были очищены от зубного налета/красящих веществ и исследованы с применением трансиллюминатора. Зубы без кариеса или повреждений эмали были отобраны и очищены с помощью пемзы для удаления остатков пелликулы со щечной поверхности.

5 С применением охлаждаемого водой станка для резки алмазной проволокой были изготовлены 3 зубных блока из каждого из 30 применяемых зубов, при этом размер каждого блока приблизительно составлял 3 мм в длину × 2 мм в ширину × 1,5 мм в толщину. Затем с помощью плоской алмазной притирочной пленки (1 мкм) в прецизионной полировальной машине MultiPrep™ (Allied High Tech, USA), полировали
10 поверхность эмали каждого блока для получения плоской поверхности.

После этого на все поверхности каждого блока за исключением щечной поверхности, наносили два слоя кислотостойкого лака для ногтей. С помощью кислотостойкого лака для ногтей прикрепляли 90 зубных блоков к 9 предметным стеклам (10 блоков/стекло). Каждое предметное стекло, содержащее указанные блоки, на 10 минут
15 погружали в 50 мл стакан, содержащий свежеприготовленный 1% раствор лимонной кислоты (1,0 г порошковой безводной лимонной кислоты, растворенной в 100 мл деионизированной дистиллированной воды при постоянном перемешивании магнитной мешалкой), при постоянном перемешивании магнитной мешалкой. После погружения в течение заданного времени образцы удаляли из раствора и тщательно промывали
20 дистиллированной водой в течение 10 секунд. Затем образцы осторожно высушивали бумажным полотенцем и удаляли с предметного стекла, получая в общей сложности три содержащих повреждения блока от каждого зуба, предназначенных для испытаний на реминерализацию.

Процедуру обработки выполняли, как описано выше в примере 6. Как и в примере
25 6, десять блоков от каждой из трех экспериментальных групп (контрольной группы, зубной пасты с содержанием NaF и зубной пасты с содержанием теобромина) удаляли после погружения в течение 14 дней и подвергали испытанию на микротвердость по Викерсу, как описано выше в примере 6.

Оставшиеся 20 блоков от каждой из трех групп (n=60) продолжают обрабатывать
30 в соответствии с программой обработки, приведенной в таблице 4, в течение в общей сложности 28 дней и оценивают, как описано в разделах "Анализ исходных данных, полученных методом поперечной микрорентгенографии (ПМР)" и "Способы последующей обработки" в примере 6, приведенном выше; для указанных 20 блоков, анализ исходных данных, полученных методом поперечной микрорентгенографии
35 (ПМР), последующую обработку, обработку и интерпретацию данных и анализ статистической мощности выполняли, как описано выше в примере 6.

Как показано на Фиг. 14, блоки, подвергнутые воздействию согласно модели эрозии и затем обработанные в течение 14 дней зубной пастой, содержащей теобромин, продемонстрировали резкое улучшение ТВ (увеличение поверхностной твердости на
40 43,9%) по сравнению с блоками, обработанными в течение 14 дней либо искусственной слюной (контрольный эксперимент), либо зубной пастой, содержащей NaF (увеличение поверхностной твердости на 4,6% и 4,9% соответственно).

Все ссылки, цитируемые в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством ссылки как если бы для каждой ссылки было специально и по отдельности
45 указано, что она включена посредством ссылки. Цитирование любой ссылки предназначено для ее описания до даты подачи заявки и не должно быть истолковано как признание, что настоящая заявка не уполномочена датировать такую ссылку задним числом в силу предшествующего изобретения.

Следует понимать, что каждый из элементов, описанных выше, или два или более элементов вместе также могут найти полезное применение в способах другого типа, отличающихся от типа, описанного выше.

Без дополнительного анализа, приведенное выше описание так полно раскрывает
 5 сущность настоящей заявки, что другие специалисты могут, применяя настоящие знания, легко адаптировать их с различными целями, не упуская особенностей, которые с точки зрения известного уровня техники фактически составляют существенные свойства общих или специальных аспектов настоящей заявки, изложенных в прилагаемой формуле изобретения. Описанные выше варианты реализации изобретения представлены только
 10 в качестве примера; объем настоящей заявки должен быть ограничен только следующей формулой изобретения.

Формула изобретения

1. Композиция для реминерализации по меньшей мере одного зуба, содержащая:
 15 а) выделенный теобромин или его соль или двойную соль;
 б) по меньшей мере один источник кальция;
 в) по меньшей мере один источник фосфата; и
 г) рН от 5,0 до 8,5.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один
 20 источник кальция выбран из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций.
3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный по меньшей мере один источник фосфата выбран из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидрофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, гидрофосфата натрия,
 25 тринатрийфосфата и их комбинаций.
4. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая по меньшей мере один изотонический агент.
5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный изотонический агент представляет собой многоатомный спирт.
- 30 6. Композиция по п. 5, отличающаяся тем, что указанный многоатомный спирт выбран из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций.
7. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая по меньшей мере один загуститель.
8. Композиция по п. 7, отличающаяся тем, что указанный загуститель выбран из
 35 группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и их комбинаций.
9. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая антибактериальный агент, противомикробный агент или их комбинации.
10. Композиция по п. 9, отличающаяся тем, что указанный антибактериальный агент
 40 выбран из группы, состоящей из триклозана, перекиси водорода, метил-4-гидроксibenзоата, гвоздичного масла и их комбинаций.
11. Способ лечения кариеса у нуждающегося в этом млекопитающего, включающий:
 а) обеспечение композиции, содержащей выделенный теобромин, соль теобромина, полиморфы или двойную соль теобромина, по меньшей мере один источник кальция
 45 и по меньшей мере один источник фосфата, при этом рН указанной композиции составляет от 5,0 до 8,5; и
 б) введение указанной композиции указанному млекопитающему.
12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один

источник кальция выбран из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций.

13. Способ по п. 11, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один источник фосфата выбран из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидрофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, гидрофосфата натрия, тринатрийфосфата и их комбинаций.

14. Способ по п. 11, дополнительно включающий по меньшей мере один изотонический агент.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанный изотонический агент представляет собой многоатомный спирт.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный многоатомный спирт выбран из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций.

17. Способ по п. 11, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит по меньшей мере один загуститель.

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что указанный загуститель выбран из группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и их комбинаций.

19. Способ по п. 11, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит антибактериальный агент, противомикробный агент или их комбинации.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный антибактериальный агент выбран из группы, состоящей из триклозана, перекиси водорода, метил-4-гидроксibenзоата, гвоздичного масла и их комбинаций.

21. Способ увеличения твердости на вдавливание по меньшей мере одного зуба, включающий:

а) обеспечение композиции, содержащей выделенный теобромин, соль теобромона или двойную соль теобромона, по меньшей мере один источник кальция и по меньшей мере один источник фосфата, при этом рН указанной композиции составляет от 5,0 до 8,5; и

б) введение указанной композиции указанному млекопитающему.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один источник кальция выбран из группы, состоящей из хлорида кальция, карбоната кальция, глюконата кальция, фосфата кальция и их комбинаций.

23. Способ по п. 21, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один источник фосфата выбран из группы, состоящей из дигидрофосфата калия, гидрофосфата калия, трикалийфосфата, дигидрофосфата натрия, гидрофосфата натрия, тринатрийфосфата и их комбинаций.

24. Способ по п. 21, дополнительно включающий по меньшей мере один изотонический агент.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный изотонический агент представляет собой многоатомный спирт.

26. Способ по п. 25, отличающийся тем, что указанный многоатомный спирт выбран из группы, состоящей из ксилита, сорбита, маннитола, мальтита, лактита, изомальта, эритрита, арабита, глицерина и их комбинаций.

27. Способ по п. 21, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит по меньшей мере один загуститель.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанный загуститель выбран из группы, состоящей из метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы,

гидроксипропилцеллюлозы и их комбинаций.

29. Способ по п. 21, отличающийся тем, что указанная композиция дополнительно содержит антибактериальный агент, противомикробный агент или их комбинации.

30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что указанный антибактериальный агент
5 выбран из группы, состоящей из триклозана, перекиси водорода, метил-4-
гидроксibenзоата, гвоздичного масла и их комбинаций.

10

15

20

25

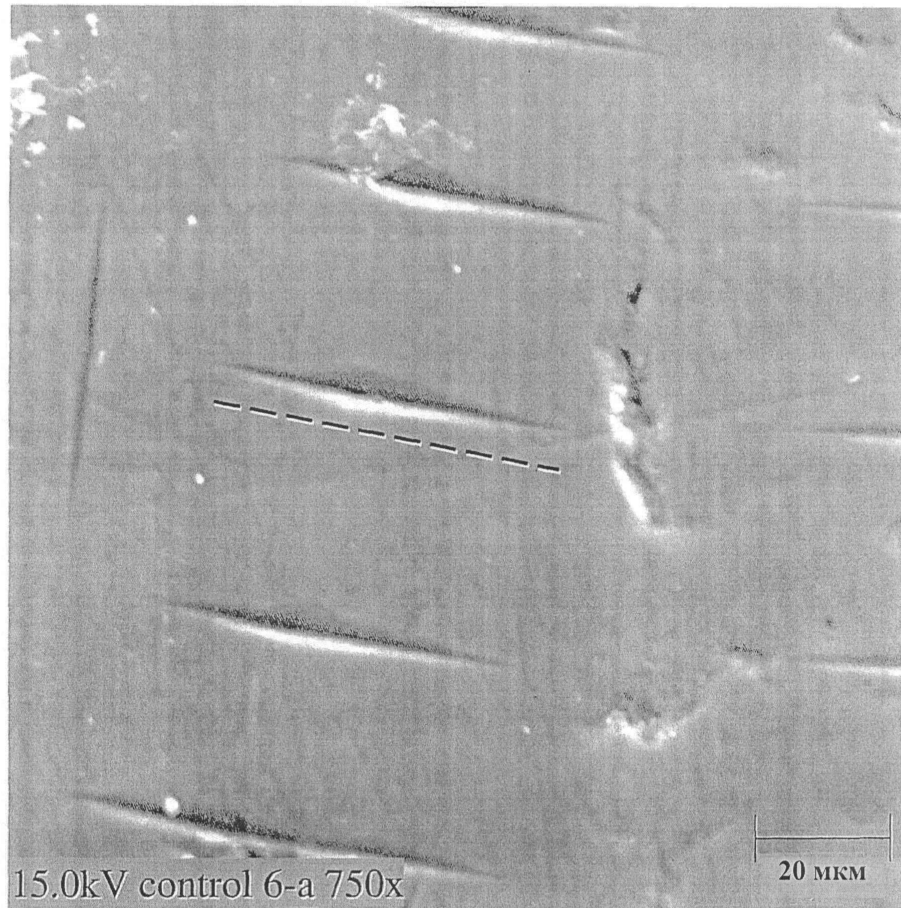
30

35

40

45

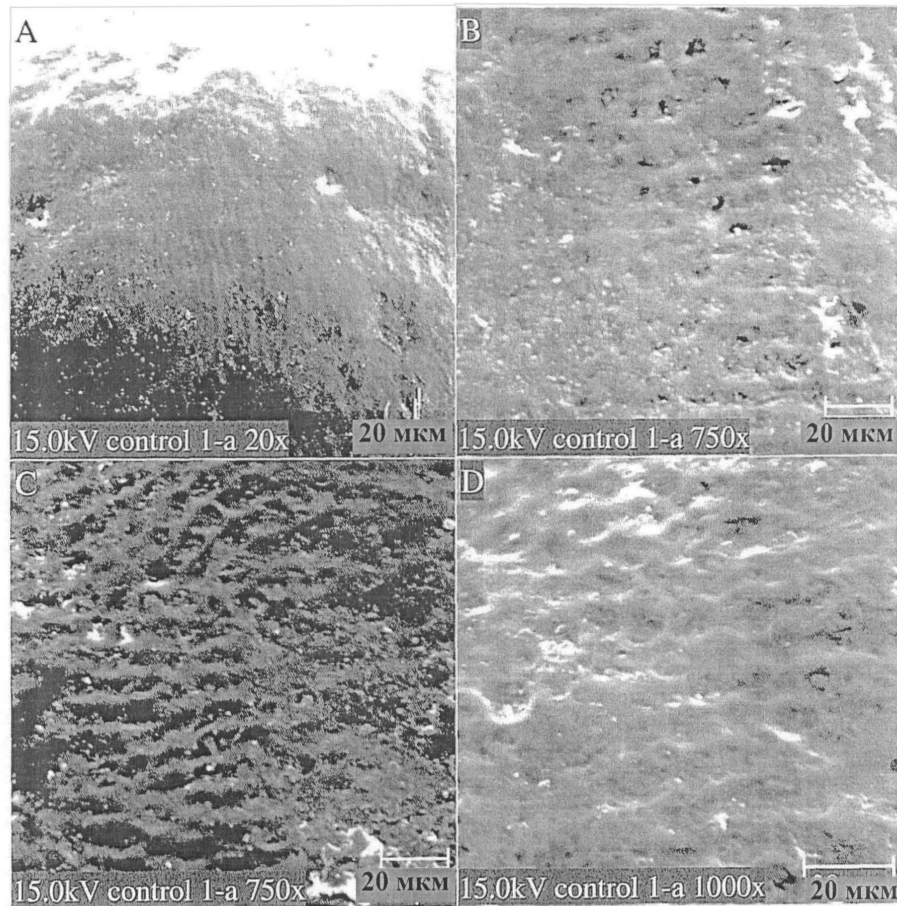
Страница 1/13



ФИГ. 1

К заявке № 2012133316

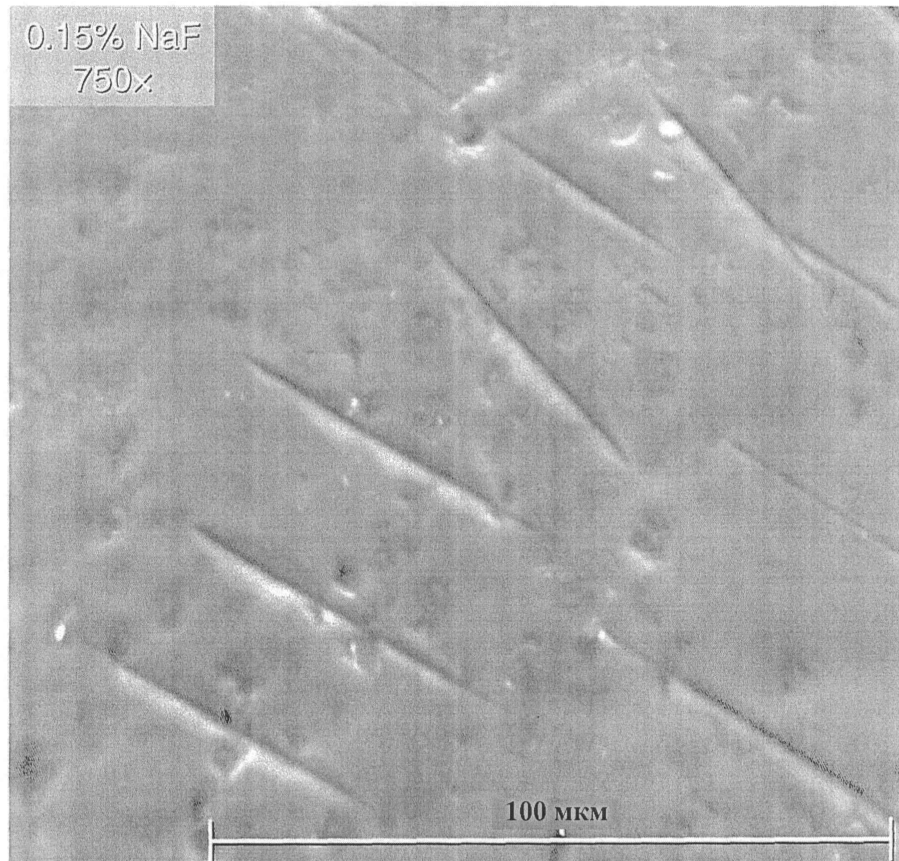
Страница 2/13



ФИГ. 2

К заявке № 2012133316

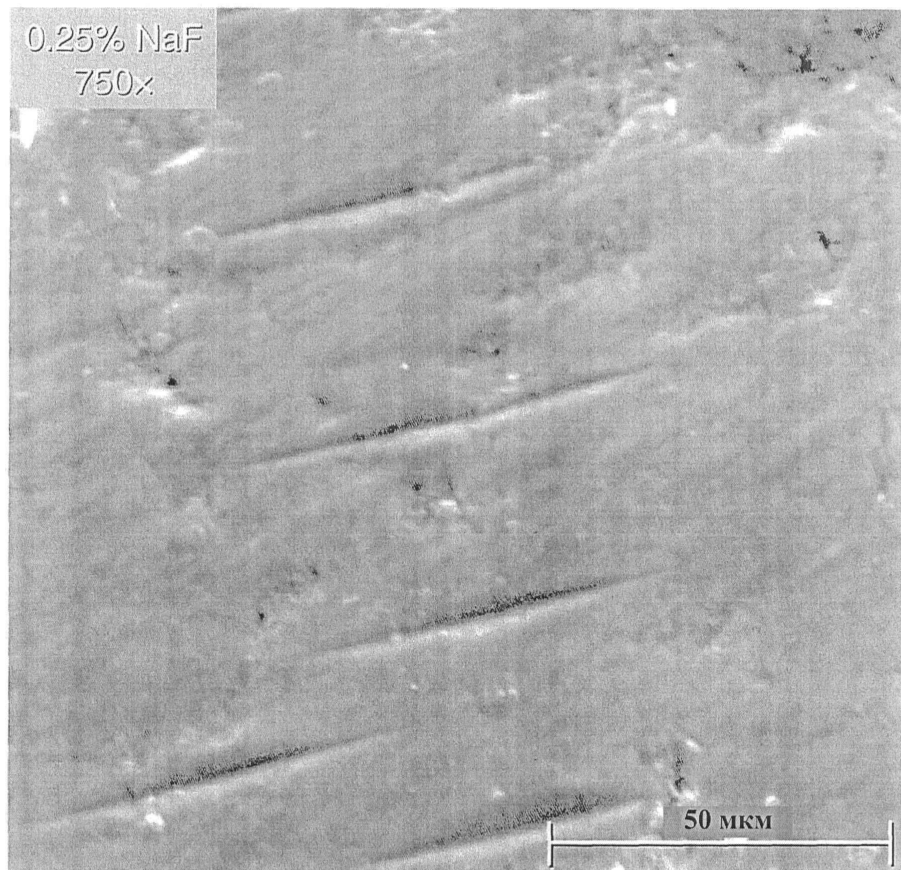
Страница 3/13



ФИГ. 3

К заявке № 2012133316

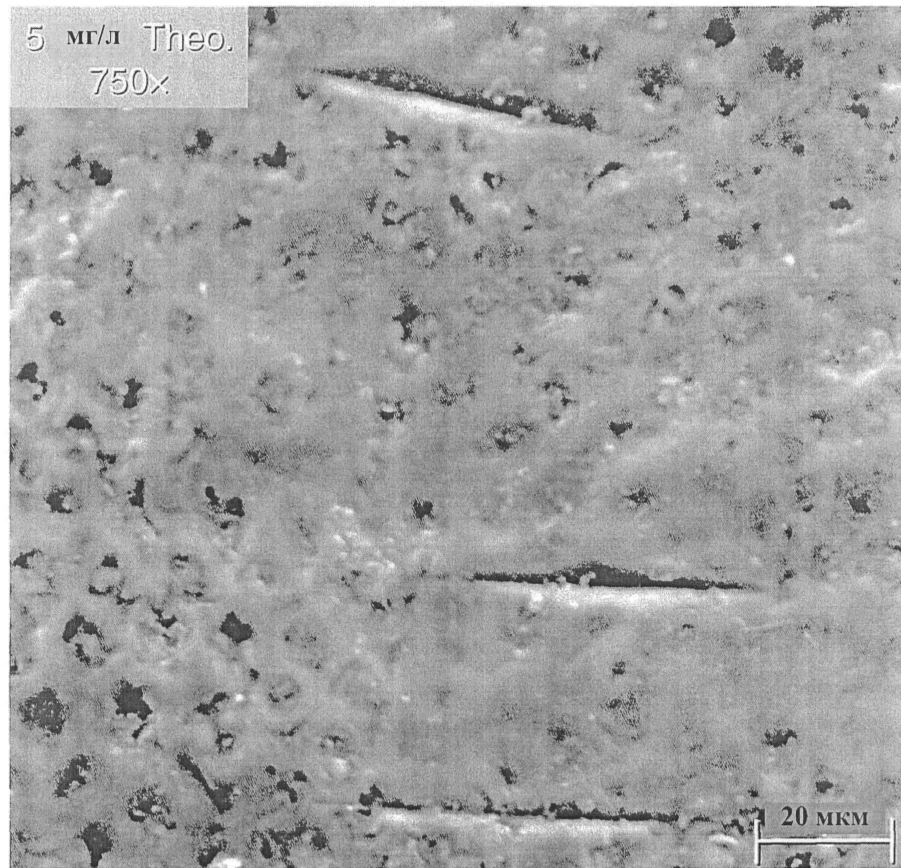
Страница 4/13



ФИГ. 4

К заявке № 2012133316

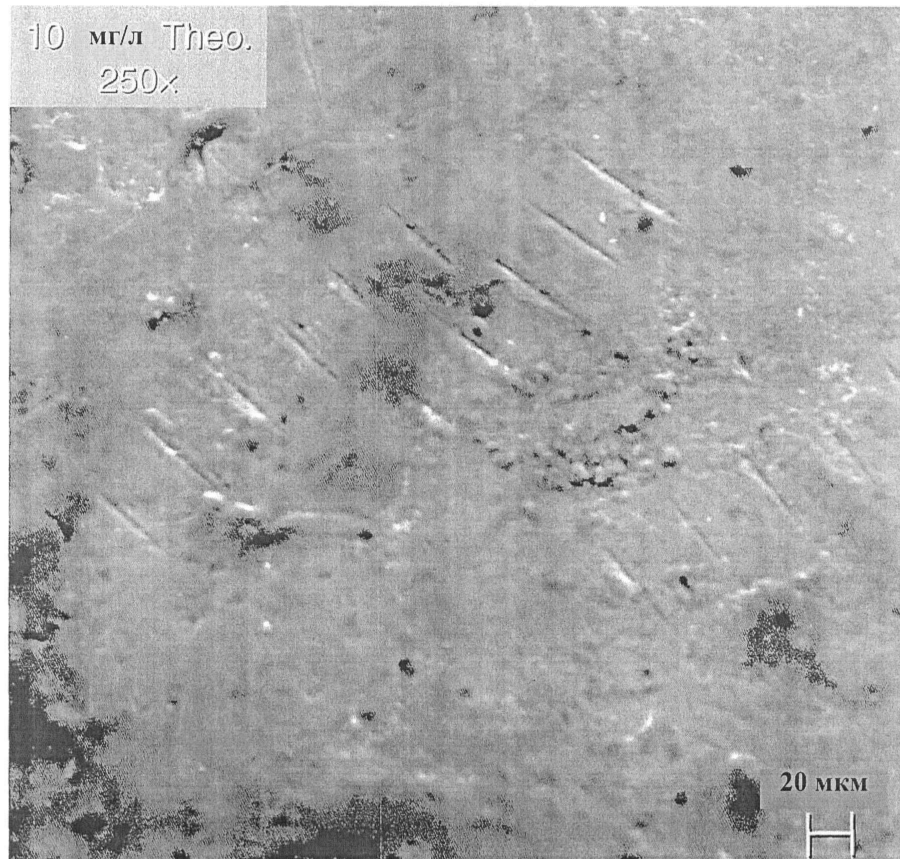
Страница 5/13



ФИГ. 5

К заявке № 2012133316

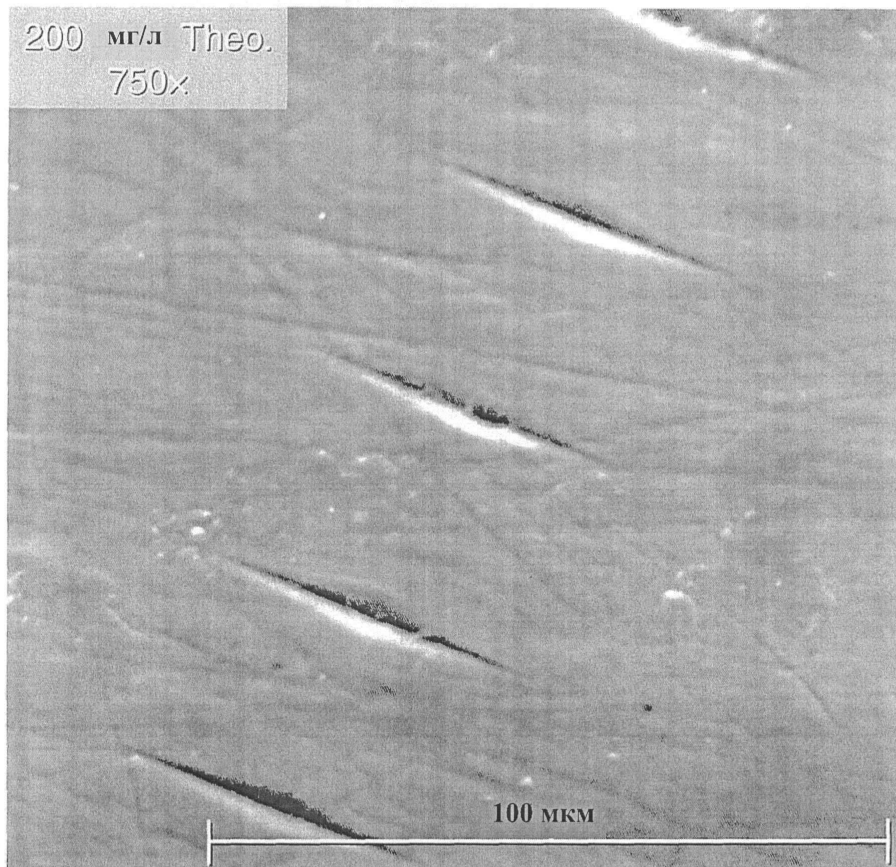
Страница 6/13



ФИГ. 6

К заявке № 2012133316

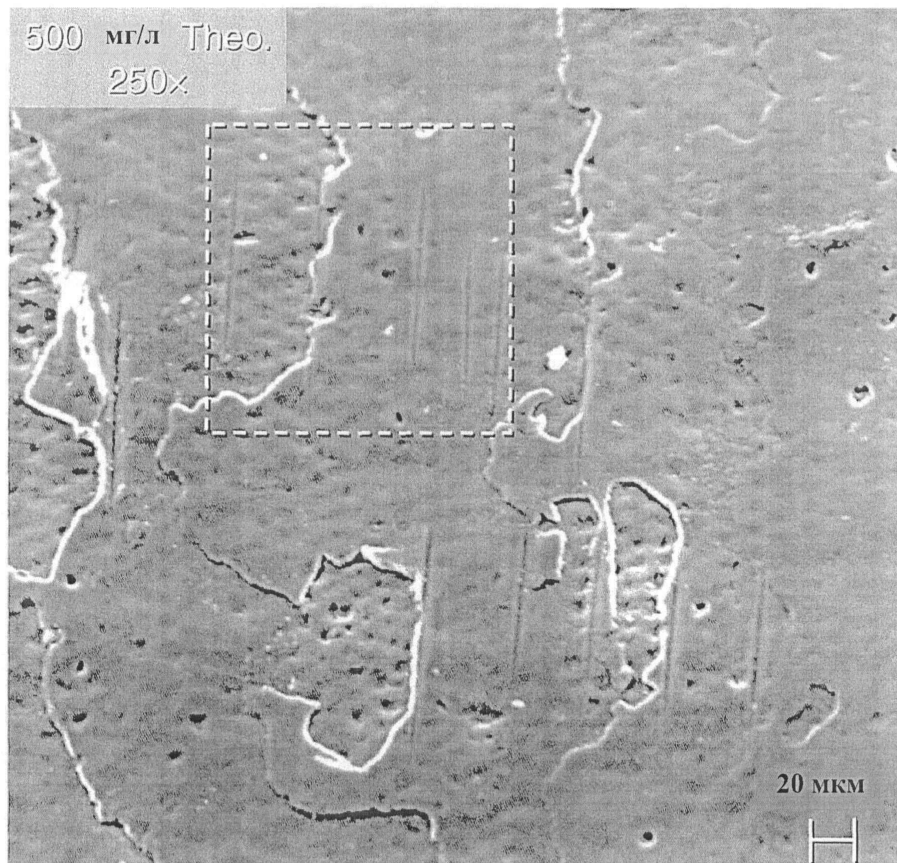
Страница 7/13



ФИГ. 7

К заявке № 2012133316

Страница 8/13



ФИГ. 8

К заявке № 2012133316

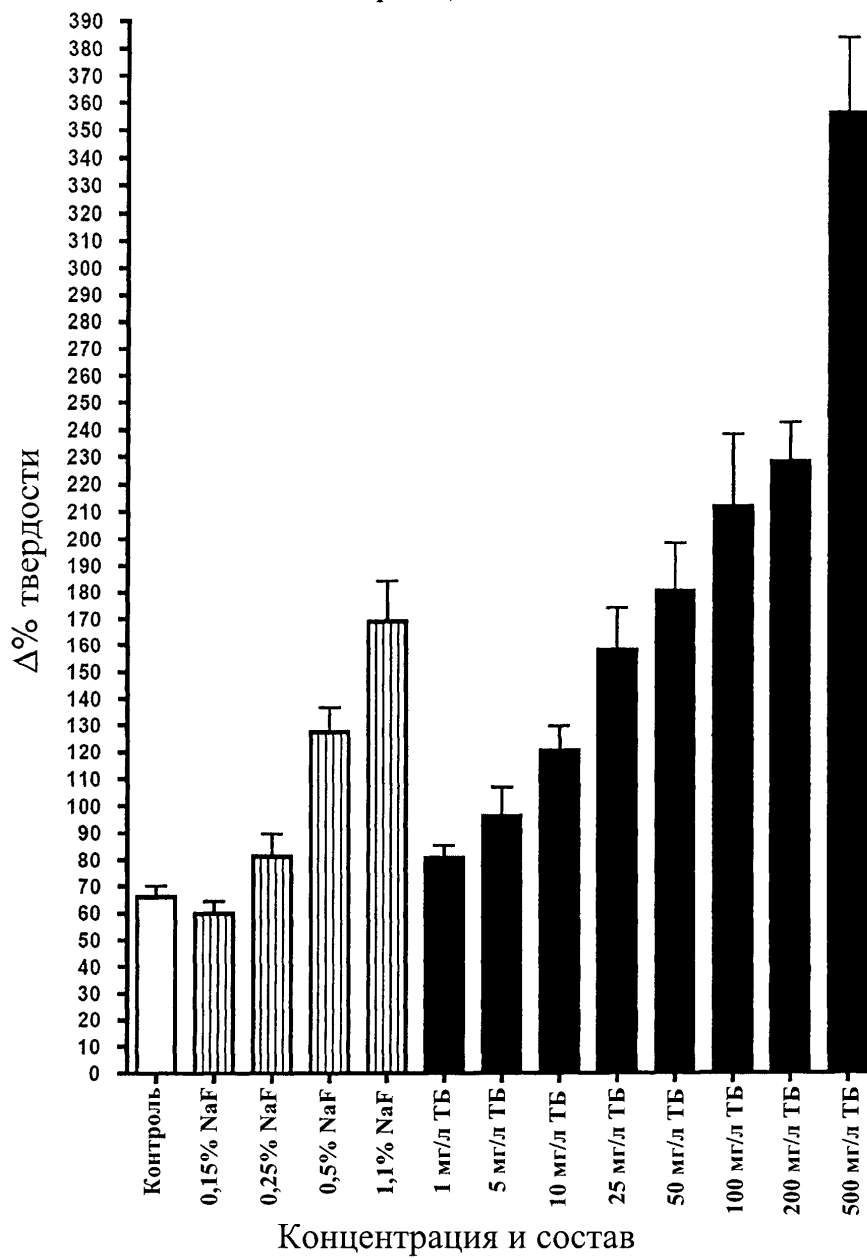
Страница 9/13



ФИГ. 9

К заявке № 2012133316

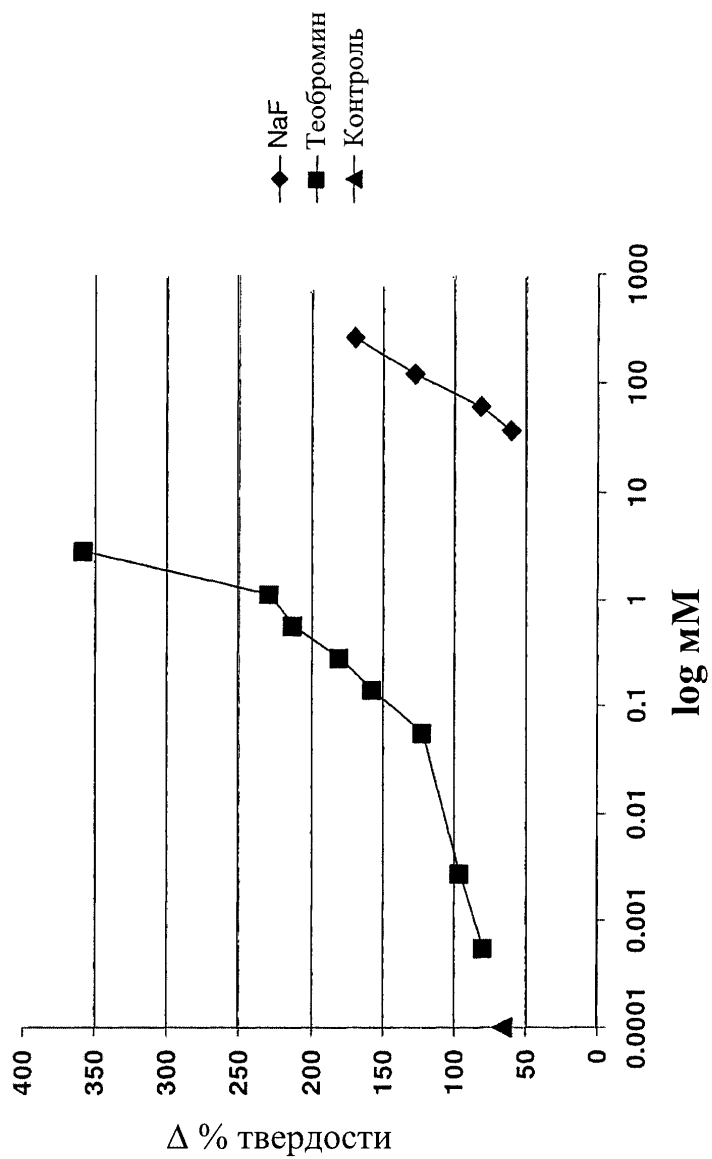
Страница 10/13



ФИГ. 10

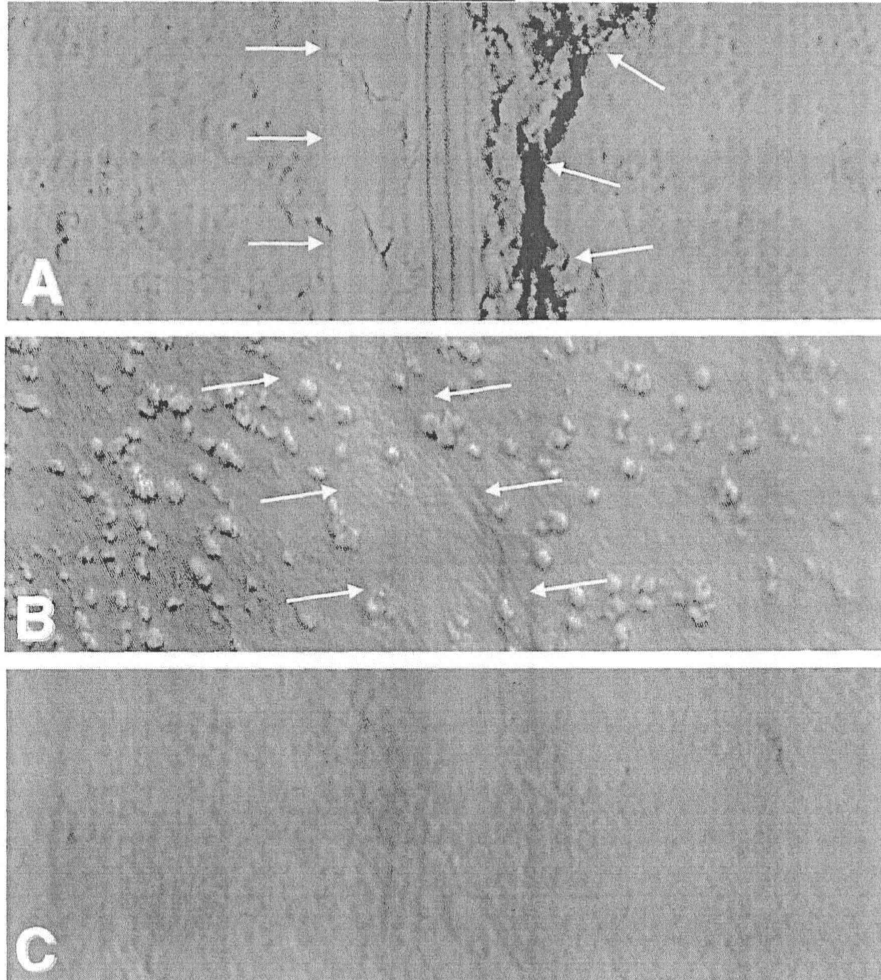
К заявке № 2012133316

Страница 11/13



ФИГ. 11

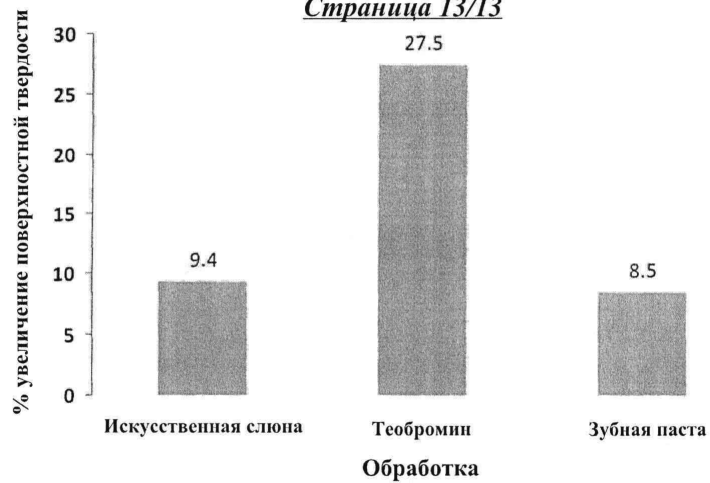
Страница 12/13



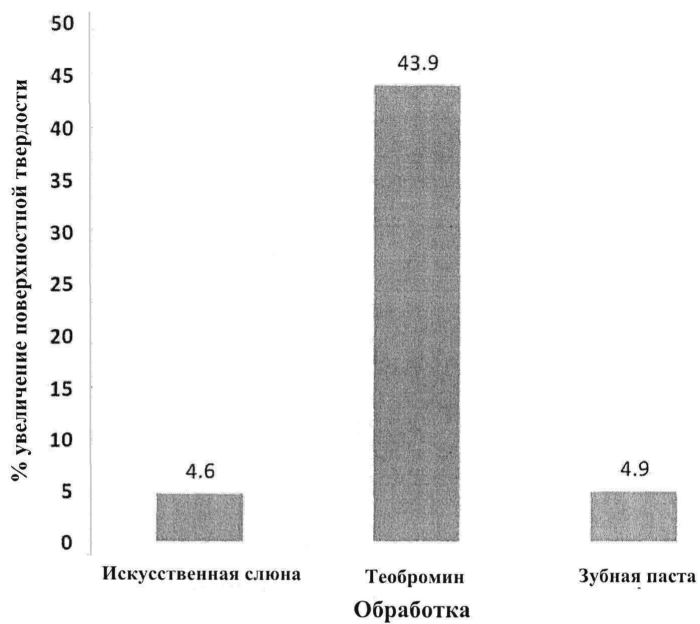
ФИГ. 12

К заявке № 2012133316

Страница 13/13



ФИГ. 13



ФИГ. 14