



(51) МПК

A61K 33/42 (2006.01)

A61K 8/24 (2006.01)

A61K 38/08 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 33/42 (2019.08); A61K 8/24 (2019.08); A61K 38/08 (2019.08); A61K 8/64 (2019.08); A61K 38/17 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2017126092, 24.12.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.12.2015

Дата регистрации:
28.04.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
24.12.2014 AU 2014905281

(43) Дата публикации заявки: 25.01.2019 Бюл. № 3

(45) Опубликовано: 28.04.2020 Бюл. № 13

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 24.07.2017

(86) Заявка РСТ:
AU 2015/050843 (24.12.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/101041 (30.06.2016)

Адрес для переписки:
191186, Санкт-Петербург, а/я 230, В.В.
Дощечкина

(72) Автор(ы):

РЕЙНОЛЬДС Эрик Чарлз (AU)

(73) Патентообладатель(и):

Юниверсити оф Мельбурн (AU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 6036944, 14.03.2000. ЕА 011125
В1, 30.12.2008. WO 9840406, 17.09.1998.

(54) Минерализующие фторсодержащие композиции

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к стоматологии и раскрывает композиции для минерализации зубной поверхности, а также способы минерализации гипоминерализованных повреждений. Композиция характеризуется тем, что содержит монофторфосфат кальция и

минерализующее вещество. Группа изобретений может быть использована для минерализации зубной эмали и для лечения гипоминерализованных повреждений, вызванных зубным кариесом, эрозией зубов и флюорозом. 2 н. и 15 з.п. ф-лы, 2 ил., 5 табл., 14 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 33/42 (2006.01)*A61K 8/24* (2006.01)*A61K 38/08* (2006.01)*A61K 8/64* (2006.01)*A61K 38/17* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 33/42 (2019.08); A61K 8/24 (2019.08); A61K 38/08 (2019.08); A61K 8/64 (2019.08); A61K 38/17 (2019.08)

(21)(22) Application: **2017126092, 24.12.2015**

(24) Effective date for property rights:
24.12.2015

Registration date:
28.04.2020

Priority:

(30) Convention priority:
24.12.2014 AU 2014905281

(43) Application published: **25.01.2019 Bull. № 3**(45) Date of publication: **28.04.2020 Bull. № 13**(85) Commencement of national phase: **24.07.2017**

(86) PCT application:
AU 2015/050843 (24.12.2015)

(87) PCT publication:
WO 2016/101041 (30.06.2016)

Mail address:
**191186, Sankt-Peterburg, a/ya 230, V.V.
Doshchechkina**

(72) Inventor(s):

REYNOLDS, Eric Charles (AU)

(73) Proprietor(s):

The University of Melbourne (AU)(54) **MINERALIZING FLUORINE-CONTAINING COMPOSITIONS**

(57) Abstract:

FIELD: dentistry.

SUBSTANCE: group of inventions discloses dental mineralization compositions, as well as methods for hypomineralized injures mineralization. Composition is characterized by that it contains calcium monofluorophosphate and a mineralising substance.

EFFECT: group of inventions can be used for mineralization of dental enamel and for treating hypomineralized injuries caused by dental caries, tooth erosion and fluorosis.

17 cl, 2 dwg, 5 tbl, 14 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к композициям для областей применения, включающих в себя минерализацию поверхности зубов, в частности, зубной эмали. Предлагаются также способы минерализации гипоминерализованных повреждений (включая подповерхностные повреждения) в зубной эмали, вызванных различными механизмами, включая зубной кариес, коррозию зубов и флюороз.

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Настоящая заявка на патент испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент Австралии №2014905281, содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Уровень техники

Обычными причинами гипоминерализованных повреждений являются кариес и флюороз.

Зубной кариес остается одной из самых серьезных проблем здравоохранения. Кроме того, восстановленные поверхности зубов могут быть подвержены дальнейшему развитию зубного кариеса вокруг границ зоны восстановления. Несмотря на то, что распространенность зубного кариеса снизилась благодаря использованию фтора в наиболее развитых странах, это заболевание остается острой проблемой здравоохранения. Эрозия (патологическая истираемость) или коррозия зубов представляет собой утрату зубами минералов под воздействием пищевой или отрыгнутой кислот. Гиперчувствительность зубов вызвана открытыми дентинными канальцами вследствие утраты защитного минерализованного слоя, цемента. Зубные отложения представляют собой нежелательное нарастание кальций-фосфатных минералов на зубной поверхности. Все эти состояния - зубной кариес, зубная эрозия, гиперчувствительность зубов и зубные отложения - связаны, таким образом, с дисбалансами уровня кальций фосфатов.

Флюороз эмали (пятнистое поражение) выявлялся в течение почти столетия, однако этиологическая роль фторида не была идентифицирована до 1942 г. Характеристическая картина флюороза может отличаться от других нарушений эмали.

Клинические признаки флюорозных повреждений эмали (ФПЭ) представляют континуум, начиная с тонких темных линий, исходящих из перикимат, до меловой, белой эмали. Наличие сравнительно высокоминерализованной эмалевой наружной поверхности и гипоминерализованной подповерхности во флюорозном повреждении вызывает зарождение эмалевого «белого пятна» кариозного повреждения. С увеличением тяжести заболевания глубина эмали, вовлеченной в повреждение, и степень гипоминерализации увеличиваются. Развитие флюороза сильно зависит от дозы, длительности и времени экспозиции фторида и, как полагают, связаны с повышением концентраций сывороточного фторида. Повреждения в виде меловых «белых пятен» могут также формироваться на развивающихся зубах у детей, как, например, после лечения антибиотиками или лихорадки. Такие повреждения указывают на зоны гипоминерализации (т.е. слишком небольшой минерализации) зубной эмали.

В зависимости от тяжести повреждения флюороз лечили клинически путем восстановительного замещения или микроабразии наружной эмали. Эти методы лечения являются неудовлетворительными, так как они предусматривают замещение или удаление зубной ткани. Желательно такое лечение, которое будет минерализовывать гипоминерализованную эмаль для получения естественной картины и структуры.

Было показано, что специфические комплексы казеиновых фосфопептидов и аморфного кальция фосфата («CPP-АСР», от англ. - casein phosphopeptide-amorphous

calcium phosphate complexes, доступные коммерчески как Recaldent™) реминерализуют эмалевые подповерхностные повреждения *in vitro* и *in situ* (Reynolds, 1998; Shen et al., 2001; Reynolds et al., 2003).

В патенте WO 98/40406, полученном на имя Мельбурнского университета (содержание которого полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки), описаны комплексы казеинового фосфопептида и аморфного фосфата кальция (CPP-ACP) и CPP-стабилизированные комплексы аморфного фторида фосфата кальция (CPP-ACFP), которые получают при щелочном pH. Было показано, что такие комплексы предотвращают деминерализацию эмали и стимулируют реминерализацию эмалевых подповерхностных повреждений на кариесных моделях *in situ* животных и человека (Reynolds, 1998). Усовершенствованные комплексы казеина фосфопептида и аморфного фосфата кальция (CPP-ACP) и CPP-стабилизированные комплексы аморфного фторида фосфата кальция (CPP-ACFP) были также описаны в патентах WO 2006/056013 и WO 2006/135982, включая предпочтительные комплексы, сформированные при pH от 5 до 6,5.

CPP, который активен при формировании комплексов, не зависит от того, являются ли они частью полноразмерного казеинового белка. Примеры активного (CPP), который может быть выделен после триптического переваривания полноразмерного казеина, были описаны в патенте США №5,015,628 и включают пептиды Bos α_{s1} - казеин X-5P (f59-79), Bos β - казеин X-4P (f1-25), Bos α_{s2} - казеин X-4P (f46-70) and Bos α_{s2} - казеин X-4P (f1-21).

В патенте WO 2010/068359 описана обработка кальций-фосфатных частиц при помощи по меньшей мере одного сахароспирта и/или по меньшей мере одного соединения глицерофосфорной кислоты.

Существует потребность в обеспечении улучшенных или альтернативных способов лечения гипоминерализованных повреждений.

Ссылка на любой известный уровень техники в описании не является и не должна считаться признанием или любой формой указания на то, что данный уровень техники относится к общеизвестным сведениям в Австралии или любой другой юрисдикции, или что можно обоснованно ожидать, что специалист в данной области техники будет определять, понимать, или рассматривать в качестве существенного этот известный уровень техники.

Раскрытие изобретения

В одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий в себя контактирование зубной поверхности или подповерхности с монофторфосфатом кальция и минерализующим веществом.

Монофторфосфат кальция (также называемый в настоящей заявке CaMFP или CaFPO_3^0) может присутствовать или обеспечиваться в количестве, описанном ниже. Например, монофторфосфат кальция может присутствовать в композиции согласно настоящему изобретению или в способе изобретения в диапазоне от приблизительно 200 ppm (от англ. parts per million - частей на миллион или миллионная доля) до 5000 ppm F (миллионных долей фторида). Как дополнительно поясняется далее, содержание фторида обычно обозначают при помощи ppm, и поскольку каждый CaMFP содержит один фторид, целесообразно использовать ту же единицу измерения. В предпочтительном варианте осуществления монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 200 ppm до приблизительно 3000 ppm F, 400 ppm до приблизительно

1500 ppm F, или от приблизительно 1000 ppm до 1450 ppm F. В еще одном предпочтительном варианте монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно свыше 500, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 или 1500 ppm F.

Минерализующее вещество предпочтительно представляет собой стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР). Зубная поверхность предпочтительно представляет собой зубную эмаль. В одном варианте осуществления зубная подповерхность представляет собой повреждение эмали, например, повреждение, вызванное кариесом, зубной эрозией или флюорозом.

АСР и АСФР осаждаются в терапевтических концентрациях, поэтому предпочтительно АСР и/или АСФР являются стабилизированными фосфопептидом (РР). Предпочтительно фосфопептидом (как определено ниже) является казеиновый фосфопептид. АСР или АСФР предпочтительно находятся в форме комплекса АСР и/или АСФР, стабилизированного казеиновым фосфопептидом.

В предпочтительном варианте осуществления стабилизированный фосфопептидом комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) содержит сильносвязанный и слабосвязанный кальций, причем слабосвязанного кальция в комплексе меньше, чем сильносвязанного кальция в комплексе АСР или АСФР, сформированном при рН, равном 7,0. В некоторых случаях АСР или АСФР находятся преимущественно в основной форме.

В предпочтительном варианте осуществления содержание ионов кальция стабилизированного комплекса АСР или АСФР находится в диапазоне от приблизительно 30 до 100 моль кальция на моль РР. Более предпочтительно, содержание ионов кальция находится в диапазоне от приблизительно 30 до приблизительно 50 моль кальция на моль РР.

В любом аспекте или вариантах осуществления, описанных в настоящей заявке, стабилизированные АСР и/или АСФР могут иметь состав с дополнительной кальциевой солью (такой как лактат, карбонат, фосфат, хлорид и т.д.). Как правило, состав включает в себя РР-стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР вместе с по меньшей мере равным весовым количеством растворимого фосфата кальция.

Предпочтительно фаза АСР является преимущественно основной фазой, в которой АСР содержит преимущественно соединения Ca^{2+} , PO_4^{3-} и OH^- . Основная фаза АСР может иметь общую формулу $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_x[\text{Ca}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})]$, где x больше или равно 1. Предпочтительно x равен от 1 до 5. Более предпочтительно, x равен 1. Предпочтительно два компонента формулы находятся в равных пропорциях. Соответственно в одном варианте осуществления основная фаза АСР имеет формулу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})$.

Предпочтительно фаза АСФР является преимущественно основной фазой, в которой АСФР содержит преимущественно соединения Ca^{2+} , PO_4^{3-} and F^- . Основная фаза АСФР может иметь общую формулу $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_x[\text{Ca}_2(\text{PO}_4)\text{F}]_y$, где x больше или равно 1, когда y равен 1 или где y больше или равно 1, когда x равен 1. Предпочтительно y равен 1 и x равен от 1 до 3. Более предпочтительно y равен 1 и x равен 1. Предпочтительно два компонента формулы находятся в равных пропорциях. Соответственно в одном варианте осуществления базовая фаза АСФР имеет формулу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2(\text{PO}_4)\text{F}$.

В одном варианте осуществления комплекс АСР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата и гидроокиси, и воды.

В одном варианте осуществления комплекс АСФР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата, фторида и гидроокиси, и воды.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ минерализации зубной поверхности, включающий в себя обеспечение монофторфосфата кальция и источника АСР или АСФР. В предпочтительном варианте осуществления зубная поверхность представляет собой эмаль.

5 В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ лечения флюороза, включающий в себя контактирование флюоротического повреждения в зубной эмали с монофторфосфатом кальция и стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ лечения зубного кариеса, включающий в себя контактирование кариозного повреждения в зубной эмали
10 с монофторфосфатом кальция и стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ лечения зубной эрозии, включающий в себя контактирование повреждения в зубной эмали, вызванного эрозией, с монофторфосфатом кальция и стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ уменьшения
15 повреждений в виде белых пятен на зубной эмали, включающий в себя контактирование повреждения в виде белого пятна с монофторфосфатом кальция и стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ реминерализации повреждения в зубной эмали, включающий в себя контактирование повреждения с
20 монофторфосфатом кальция и стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте изобретения предлагается способ реминерализации повреждения в зубной эмали, включающий в себя следующие шаги:

обеспечивают контактирование с монофторфосфатом кальция и источником АСР или АСФР; и

25 вводят композицию, способную увеличивать или поддерживать рН раствора.

Предпочтительно композиция, способная увеличивать или поддерживать рН раствора, содержит бикарбонат натрия или мочевины. Предпочтительно композиция является средством для полоскания или промывания полости рта.

В одном варианте осуществления соединение, способное увеличивать или
30 поддерживать рН раствора, не является гипохлоритом натрия NaOCl, т.е. композиция согласно настоящему изобретению не содержит NaOCl.

В любом аспекте или варианте осуществления, раскрытом в настоящей заявке, соединение, способное увеличивать или поддерживать рН раствора, вводят
одновременно, в качестве средства, применяемого до или после лечения, с источником
35 стабилизированного АСР или АСФР и монофторфосфата кальция..

В любом аспекте или варианте осуществления, раскрытом в настоящей заявке, АСР и/или АСФР стабилизированы фосфопептидом (РР). Предпочтительно фосфопептидом (как определено ниже) является казеиновый фосфопептид. АСР или АСФР
предпочтительно находятся в форме комплекса АСР и/или АСФР, стабилизированного
40 казеиновым фосфопептидом.

В другом аспекте предлагается композиция, включающая в себя стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР) и монофторфосфат кальция. Композиция предпочтительно дополнительно содержит
соединение, увеличивающее или поддерживающее рН раствора, как описано в настоящей
45 заявке.

Стабилизированный АСР и/или АСФР и/или монофторфосфат кальция могут контактировать с зубной поверхностью в течение периода от приблизительно 1 минуты до 2 часов, или от 5 минут до 60 минут, или приблизительно 10 минут.

Стабилизированный АСР и/или АСФР может быть повторно нанесен на зубную поверхность в течение периода от 1 дня до нескольких месяцев.

В одном варианте осуществления монофторфосфат кальция контактирует с дентальной поверхностью от 1 до 60 минут, или от 1 до 30 минут, или от 1 до 5 минут перед контактированием дентальной поверхности со стабилизированным АСР и/или АСФР.

В одном варианте осуществления монофторфосфат кальция контактирует с зубной поверхностью от 1 до 60 минут, или от 1 до 30 минут, или от 1 до 5 минут после контактирования зубной поверхности со стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ минерализации зубной поверхности, включающий в себя нанесение комплекса АСР и/или АСФР и монофторфосфата кальция на зубную поверхность.

Предпочтительно зубная поверхность представляет собой зубную эмаль или дентин зуба. Как правило, зубной поверхностью является зубная эмаль, содержащая повреждение, выбранное из группы, состоящей из одного или более из: повреждения в виде белого пятна; флюорозного повреждения; кариозного повреждения; или повреждения, вызванного зубной эрозией. Предпочтительно стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР и монофторфосфат кальция содержатся в одной и той же композиции, которая наносится на зубную поверхность.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий в себя контактирование зубной поверхности или подповерхности с соединением, содержащим монофторфосфат, источник кальция и минерализующее вещество, причем соединение, содержащее монофторфосфат и источник кальция, поступает в ротовую полость в состояниях, обеспечивающих возможность образования монофторфосфата кальция.

Предпочтительно соединение, содержащее монофторфосфат, является таким, как описано в настоящей заявке, еще более предпочтительно, соединение, содержащее монофторфосфат, представляет собой двунатриевый монофторфосфат.

Предпочтительно источник кальция является таким, как описано в настоящей заявке, еще более предпочтительно, источник кальция представляет собой хлористый кальций.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий в себя обеспечение композиции для контактирования с зубной поверхностью или подповерхностью, причем композиция, до контактирования с зубной поверхностью или подповерхностью, содержит монофторфосфат кальция и минерализующее вещество. Иными словами, монофторфосфат кальция присутствует в композиции до контактирования композиции с зубной поверхностью или подповерхностью или до ее введения в ротовую полость. Минерализующее вещество предпочтительно представляет собой стабилизированный фосфопептидом АСР и/или АСФР, такой как CPP-АСР и/или CPP-АСФР.

В любом способе или композиции согласно настоящему изобретению монофторфосфат кальция может быть образован при помощи способа, включающего в себя следующий шаг:

смешивают источник монофторфосфата и источник кальция при pH в диапазоне от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,0,

тем самым, образуют монофторфосфат кальция.

Предпочтительно источник монофторфосфата является таким, как описано в настоящей заявке, более предпочтительно, источник монофторфосфата представляет собой двунатриевый монофторфосфат. Предпочтительно источник кальция является

таким, как описано в настоящей заявке, более предпочтительно, источник кальция представляет собой хлористый кальций. Как правило, рН составляет приблизительно 7,0.

Источник монофторфосфата и источник кальция могут смешиваться в приблизительно эквивалентных количествах. Например, около 80 мкмоль двунатриевого монофторфосфата на г могут быть тщательно смешаны с 80,0 мкмоль хлористого кальция (CaCl_2) на г. В одном варианте осуществления 76,3 мкмоль двунатриевого монофторфосфата на г могут быть тщательно смешаны с 80,0 мкмоль хлористого кальция (CaCl_2) на г.

В любом способе или композиции согласно настоящему изобретению монофторфосфат кальция может быть образован при помощи способа, описанного в примере 9.

В любом способе или композиции согласно настоящему изобретению АСР и/или АСФР стабилизирован при помощи СРР. Предпочтительно комплекс СРР-АСР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата и гидроокиси, и воды. Предпочтительно комплекс СРР-АСФР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата, фтора и гидроокиси, и воды.

В любом варианте осуществления зубная поверхность нуждается в таком лечении.

Поэтому изобретение включает в себя, в дополнение к шагам любого способа, описанного в настоящей заявке, шаг идентификации пациента (испытуемого), страдающего флюорозом, зубным кариесом, гиперчувствительностью зубов и зубными отложениями, повреждением в виде белого пятна; флюорозным повреждением; кариозным повреждением; или повреждением, вызванным зубной эрозией.

Настоящее изобретение обеспечивает композицию, содержащую монофторфосфат кальция и стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР) для применения при минерализации зубной поверхности или подповерхности.

В еще одном аспекте обеспечивается способ лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза, включающий в себя шаги введения монофторфосфат кальция в зубы пациента после введения комплекса или композиции АСР и/или АСФР. Местное введение комплекса является предпочтительным. Способ предпочтительно включает в себя введение комплекса в составе, описанном в настоящей заявке.

В еще одном аспекте обеспечивается применение монофторфосфата кальция и стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) при производстве композиции для лечения и/или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза.

В еще одном аспекте обеспечивается композиция, содержащая в качестве активного вещества монофторфосфат кальция и стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР) для минерализации зубной поверхности или подповерхности. Как правило, минерализация зубной поверхности или подповерхности предназначена для лечения и/или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза.

В еще одном аспекте или в любом способе или варианте применения настоящего изобретения дополнительно обеспечивается шаг применения источника свободных ионов фторида. Источник свободных ионов фторида может применяться одновременно с монофторфосфатом кальция и источником АСР или АСФР. В альтернативном варианте источник свободных ионов фторида может применяться до или после монофторфосфата

кальция или источника АСР или АСФР. Примеры источников свободных ионов фторида включают в себя фторид натрия, фторид олова и фторид амина. Безотносительно к какой-либо конкретной теории, эти свободные ионы фторида могут взаимодействовать с АСР или АСФР с образованием фторапатита при контакте с зубной поверхностью, который может быть более устойчивым к кислотной нагрузке, чем нормальная зубная эмаль.

Настоящее изобретение также обеспечивает композицию, содержащую монофторфосфат кальция и минерализующее вещество. Минерализующее вещество предпочтительно представляет собой стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР). Композиция предпочтительно включает в себя также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или наполнитель.

В предпочтительном варианте осуществления стабилизированный фосфопептидом комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) в композиции содержит сильносвязанный и слабосвязанный кальций, причем слабосвязанного кальция в комплексе меньше, чем сильносвязанного кальция в комплексе АСР или АСФР, сформированном при рН, равном 7,0. В некоторых случаях АСР или АСФР находятся преимущественно в основной форме.

В другом предпочтительном варианте осуществления содержание ионов кальция стабилизированного комплекса АСР или АСФР в композиции находится в диапазоне от приблизительно 30 до 100 моль кальция на моль РР. Более предпочтительно, содержание ионов кальция находится в диапазоне от приблизительно 30 до приблизительно 50 моль кальция на моль РР.

В любом варианте осуществления АСР и/или АСФР в композиции могут находиться в форме комплекса АСР и/или АСФР, стабилизированного казеиновым фосфопептидом.

Изобретение также относится к набору для лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, флюороза и зубной эрозии, включающему (а) монофторфосфат кальция и (b) комплекс стабилизированного АСР и/или АСФР в фармацевтически приемлемом носителе. Желательно, чтобы набор дополнительно включал в себя инструкции по их применению для минерализации зубной поверхности у пациента, нуждающегося в таком лечении. Инструкции могут описывать применение набора для лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза. В одном варианте осуществления вещество и комплекс имеются в подходящих количествах для лечения пациента. Стабилизированный АСР и/или АСФР предпочтительно стабилизирован фосфопептидом (РР). Предпочтительно фосфопептидом (как определено ниже) является казеиновый фосфопептид. АСР или АСФР предпочтительно находятся в форме комплекса АСР и/или АСФР, стабилизированного казеиновым фосфопептидом.

Композиция или набор настоящего изобретения может дополнительно включать в себя источник свободных ионов фторида. Свободные ионы фторида могут поступать из любого подходящего источника. Источник свободных ионов фторида может включать в себя свободные ионы фторида или фтористые соли. Примеры источников свободных ионов фтора включают в себя, без ограничений, следующее: фторид натрия, фторид олова, кремнефтористый натрий, фторид серебра, фторид амина или ионная фтористая соль любого металла. Источником ионов фторида может быть гипотфторит. Эти источники ионов фторида могут быть обеспечены в растворе (как правило, водном растворе) или суспензии.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Устройства, подготовленные, как описано в примере 8, применяемые при клиническом испытании, описанном в примере 10.

Фиг. 2. Реминерализация эмалевых подповерхностных повреждений *in situ* фторидом натрия (NaF) в сравнении с монофторфосфатом кальция (CaMFP) с CPP-АСР и без него. Результаты применения верхнего устройства показаны в столбцах слева, результаты применения верхнего устройства показаны в столбцах справа. Композиции, содержащие монофторфосфат кальция, обеспечивали статистически более значимую реминерализацию, чем содержащие фторид натрия.

* Статистический анализ методом дисперсионного анализа повторных измерений, при этом уровень значимости составлял $p < 0,05$.

Подробное описание изобретения

Дополнительные аспекты настоящего изобретения и дополнительные варианты осуществления аспектов, раскрытых в предшествующих параграфах, станут понятными из последующего описания, приведенного в качестве примера со ссылкой на прилагаемые чертежи. Следует понимать, что изобретение, раскрытое и определенное в настоящем описании, распространяется на все альтернативные комбинации двух или более отдельных признаков, упомянутых или очевидных из текста или чертежей. Все эти разные комбинации составляют различные альтернативные аспекты изобретения.

Обратимся теперь подробным образом к некоторым вариантам осуществления изобретения. Хотя настоящее изобретение раскрыто в связи с конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что изобретение не ограничивается этими вариантами осуществления. Напротив, изобретение охватывает все альтернативные варианты, модификации и эквиваленты, которые могут быть включены в объем настоящего изобретения, определяемый формулой изобретения.

Специалист в данной области техники примет во внимание многие способы и материалы, аналогичные или эквивалентные раскрытым в настоящей заявке, которые могут быть использованы при практической реализации настоящего изобретения. Настоящее изобретение ни в коей мере не ограничивается описанными способами и материалами. Все патенты и публикации, упоминаемые в настоящей заявке, включены в нее во всех отношениях посредством ссылки.

В целях интерпретации настоящего описания термины, используемые в форме единственного числа, включены в него также в форме множественного числа, и наоборот. Если контекст не требует иного, применяемый в настоящей заявке термин «содержат» и грамматические варианты этого термина, такие как «содержащий», «содержит» и «содержащийся», не исключают дополнительные добавки, компоненты, целые числа или этапы. Если контекст не требует иного, применяемые в настоящей заявке термины «содержат» и «включают» могут быть использованы взаимозаменяемо.

Настоящее изобретение обеспечивает способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий контактирование зубной поверхности или подповерхности с монофторфосфатом кальция и минерализующим веществом. Зубная подповерхность, как правило, представляет собой гипоминерализованное повреждение, такое, что соединение или минерализующее вещество, приведенное в контакт с зубной поверхностью, перемещается через любой слой поверхности, т.е. бляшку и/или зубной налет, через пористую зубную поверхность к области, требующей минерализации. Минерализующее вещество предпочтительно представляет собой стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (ACFP). Зубная поверхность предпочтительно представляет собой зубную эмаль. Зубная подповерхность представляет собой повреждение эмали, например, повреждение,

вызванное кариесом, эрозией зубов или флюорозом.

Если в явном виде не указано иное, ссылка в настоящей заявке на монофторфосфат кальция также включает в себя соединения или композиции, содержащие монофторфосфат и кальций или способные продуцировать монофторфосфат кальция, подвергаясь воздействию водного раствора. Иными словами, в любом способе или любой композиции согласно настоящему изобретению монофторфосфат кальция может быть образован до введения в ротовую полость, или монофторфосфат кальция может быть образован в ротовой полости соединением или источником монофторфосфата, например, двунатриевым монофторфосфатом, и компонентом или источником кальция, например, хлористым кальцием. Предпочтительные соединения, которые обеспечивают или дают возможность образования монофторфосфата кальция, включают в себя монофторфосфат натрия плюс источник кальция (например, кальциевую соль). Монофторфосфат натрия плюс источник кальция (например, кальциевая соль) могут образовывать монофторфосфата кальция, подвергаясь воздействию соответствующих условий, таких как количества и pH, раскрытые ниже и описанные в примерах. Монофторфосфат кальция не образуется просто путем добавления СРР-АСР и монофторфосфата натрия, так как АСР уже находится в стабилизированной форме. Кроме того, монофторфосфат кальция не образуется из монофторфосфата натрия, смешиваемого с водонерастворимыми полировочными материалами, обычно присутствующими в зубных пастах, такими как трикальцийфосфат, двуводный фосфат кальция, безводный дикальцийфосфат или пирофосфат кальция. В дополнение к этому, в ротовой полости недостаточно кальция, тем более в биологически доступной форме, для генерации терапевтически эффективного количества монофторфосфата кальция в случае, когда, например, монофторфосфат натрия или любое другое соединение, содержащее монофторфосфат, присутствует в ротовой полости. Хотя в ротовой полости имеется некоторое количество кальция, оно несравненно меньше, чем количество кальция, необходимое для образования терапевтически эффективного количества монофторфосфата кальция, как описано в настоящей заявке.

Настоящее изобретение неожиданно выявило, что нейтральная ионная пара CaFPO_3^0 превосходит F^- в отношении стимулирования реминерализации эмали. Это оказалось неожиданным, так как раньше считали, что для реминерализации повреждения поверхности или подповерхности требуются свободные ионы фторида, и полагали, что монофторфосфат, в частности, монофторфосфат кальция, не высвобождает свободные ионы фторида. Поэтому монофторфосфат не рассматривался в качестве подходящего соединения для использования при реминерализации повреждений поверхности или подповерхности, в частности, совместно со стабилизированными фосфопептидом АСР и/или АСРР. Безотносительно к какой-либо конкретной теории или механизму действия, полагают, что монофторфосфат образует нейтральную ионную пару с ионами кальция $\text{Ca}^{2+} + \text{FPO}_3^{2-} \leftrightarrow \text{CaFPO}_3^0$, и эта нейтральная ионная пара способствует образованию фторапатита на повреждении поверхности или подповерхности. Монофторфосфат кальция не является легко гидролизующимся внутри ротовой полости, за пределами повреждения, в отличие от монофторфосфата натрия. Это обеспечивает преимущество, так как монофторфосфат кальция сохраняется в виде нейтрального иона, тем самым, с большей легкостью поступая в зону повреждения, тогда как монофторфосфат натрия диссоциирует с образованием отрицательных ионов, например, PFO_3^{2-} или HPFO_3^{1-} , при этом отрицательные ионы притягиваются/отталкиваются эмалью/поверхностью,

пораженной зубным налетом, что ограничивает их проникновение в зону повреждения. Нейтральная ионная пара CaFPO_3^0 может диффундировать по градиентам концентрации в зону подповерхностного повреждения эмали и влиять на реминерализацию,

5 обеспечивая ионы кальция, фторида и фосфата. CaFPO_3^0 превосходит нейтральную ионную пару CaHPO_4^0 , так как обеспечивает Ca, F и фосфат, тогда как другая нейтральная ионная пара обеспечивает только ионы кальция и фосфата.

В области техники, к которой относится изобретение, количество фторида в композиции обычно описывается в виде частей на миллион (ppm). Специалист в данной области техники поэтому приводит содержание фторида, ссылаясь на число ppm фторида, высвобождаемых фторидсодержащим соединением, таким как монофторфосфат. Физиологической значимостью обладает биологически доступный фторид, т.е. количество фторида, которое он содержит и высвобождает. В любом аспекте настоящего изобретения монофторфосфат кальция присутствует в указанном 15 ниже количестве. Например, монофторфосфат кальция может присутствовать в композиции или применяться в способе согласно изобретению в количестве от приблизительно 200 ppm до 5000 ppm F. В предпочтительном варианте осуществления монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 200 ppm до 20 приблизительно 3000 ppm, от 400 ppm до приблизительно 1500 ppm F, или от 1000 ppm до 1450 ppm F. В еще одном предпочтительном варианте монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно свыше 500, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 или 1500 ppm F.

В любой композиции или способе настоящего изобретения монофторфосфат кальция 25 присутствует в количестве, большем, чем приблизительно 1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM, 40 mM, 50 mM, 60 mM или 70 mM. Предпочтительно монофторфосфат кальция присутствует в количестве приблизительно 1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM, 40 mM, 50 mM, 60 mM, 70 mM или 75 mM.

Любая композиция или способ настоящего изобретения содержит монофторфосфат 30 кальция в количестве, которое, при контакте с зубной поверхностью или подповерхностью, дает клинически наблюдаемую величину реминерализации по сравнению со случаем, когда монофторфосфат кальция отсутствует.

В любом аспекте изобретения, раскрытого в настоящей заявке, ссылка на соединение, обеспечивающее монофторфосфат, включает в себя монофторфосфат кальция.

Стабилизированный комплекс АСР или АСFR, как раскрыто в настоящем описании, 35 представляет собой «закрытые» комплексы, показанные на Фиг. 2 в работе Cross et al., 2007. В работе Cross et al. было показано, что комплексы СРР-АСР, получаемые при pH 7, являются «открытыми», тогда как комплексы СРР-АСР, получаемые при непрерывном добавлении ионов гидроокиси, являются «закрытыми» комплексами. Этот «закрытый» комплекс значительно отличается от «открытого» комплекса, так 40 как имеет совершенно иную структуру и содержит основные фазы фосфата кальция. Было показано, что клинически он обладает существенно улучшенным эффектом и доставляет к зубам больше фосфата кальция.

Стабилизированный комплекс АСР или АСFR, согласно изложенному в настоящем документе, включает в себя стабилизированный комплекс АСР или АСFR, раскрытый 45 в WO 2006/056013, содержание которого включено в настоящую заявку посредством ссылки.

В предпочтительном варианте осуществления стабилизированный фосфопептидом комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция

(ACFP) содержит сильносвязанный и слабосвязанный кальций, причем слабосвязанного кальция в комплексе меньше, чем сильносвязанного кальция в комплексе АСР или АСР, образованном при рН, равном 7,0. В некоторых случаях АСР или АСР находится преимущественно в основной форме.

- 5 Стабилизированный комплекс АСР или АСР, согласно изложенному в настоящем документе, включает в себя стабилизированный комплекс АСР или АСР, образованный при рН ниже 7,0. Предпочтительно комплекс образован при рН в диапазоне от приблизительно 5,0 и выше, но ниже 7,0. Более предпочтительно, комплекс образован при рН в диапазоне от приблизительно 5,0 до приблизительно 6,0. В предпочтительном
10 варианте осуществления комплекс образован при рН от приблизительно 5,0 до приблизительно 5,5. В некоторых случаях АСР или АСР в комплексе находятся преимущественно в основной форме.

Стабилизированный АСР может быть получен способом, включающим в себя следующие шаги:

- 15 (i) получают раствор, содержащий по меньшей мере один фосфопептид; и
(ii) смешивают растворы, содержащие ионы кальция, ионы фосфата и ионы гидроокиси, поддерживая при этом рН равным приблизительно 7,0 или ниже.

Стабилизированный АСР может быть получен способом, включающим в себя следующие шаги:

- 20 (i) получают раствор, содержащий по меньшей мере один фосфопептид; и
(ii) смешивают растворы, содержащие ионы кальция, ионы фосфата, ионы гидроокиси и ионы фторида, поддерживая при этом рН равным приблизительно 7,0 или ниже.

- Ионы гидроокиси титруют в растворе, чтобы поддерживать раствор фосфопептида, по существу, при постоянном рН. Ионы кальция и фосфата титруют в растворе
25 фосфопептида при постоянном перемешивании и скорости, что позволяет избегать образования осадка фосфата кальция в растворе фосфопептида.

- В контексте настоящего документа стабилизированный фосфопептидом комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСР) может также включать АСР в комплексе, который содержит сильносвязанный и
30 слабосвязанный кальций, причем сильносвязанного кальция в комплексе меньше, чем сильносвязанного кальция в комплексе АСР или АСР, образованном при рН, равном 7,0, при этом АСР или АСР преимущественно находятся в основной форме, получаемой или полученной способом, включающим в себя следующие шаги:

- а) примешивают первый раствор, содержащий ионы кальция, второй раствор,
35 содержащий ионы фосфата и, в некоторых случаях, третий раствор, содержащий ионы фторида, к раствору, содержащему фосфопептиды и растворитель с рН в диапазоне от приблизительно 5,0 и выше, но ниже 7,0; и

б) поддерживают рН раствора в диапазоне от приблизительно 5,0 и выше, но ниже 7,0 при подмешивании путем добавления ионов гидроокиси.

- 40 «Сильно-» и «слабо-» связанные кальций и фосфат могут быть определены с использованием аналитической ультрафильтрации, как показано в примере 2. Коротко говоря, раствор фосфопептида, кальция, фосфата и, в некоторых случаях, фторида, примешиваемый при поддержании рН равным приблизительно 7,0 или ниже, может быть сначала отфильтрован через 0,1-микронный фильтр для удаления свободных
45 кальция и фосфата, не ассоциированных с комплексами. Эти свободные кальций и фосфат присутствуют в фильтрате и удаляются. Любой свободный кальций или фосфат, не связанный каким-либо образом с комплексами, не будет биологически доступным, т.е. доставляемым фосфопептидом к зубам. Ретентат (задержанный материал)

фильтрации посредством 0,1-микронного фильтра может подвергаться дальнейшему анализу посредством центрифугирования через фильтр, отсекающий молекулярные массы 3000 Да при 1000 г в течение 15 минут. Получаемый фильтрат содержит кальций или фосфат, слабосвязанный или ассоциированный с комплексами. При этой

5 центробежной силе кальций и фосфат, не являющиеся сильно связанными с комплексами, высвобождаются и перемещаются в фильтрат. Са и Рi, сильно связанные с комплексами, остаются в ретентате. Количество сильно связанных Са и Рi в ретентате может затем быть определено путем вычитания количества Са и Рi в фильтрате из общего количества Са и Рi в ретентате фильтрации посредством 0,1-микронного фильтра.

10 Стабилизированный комплекс АСР или АСФР, согласно изложенному в настоящем документе, включает в себя стабилизированный АСР или АСФР комплекс, раскрытый в WO 2006/135982, содержание которого включено в настоящую заявку посредством ссылки.

«Сверхнагруженный» аморфный фосфат кальция (АСР) или аморфный фторид

15 фосфата кальция (АСФР) стабилизирован фосфопептидом или фосфопротеином (РР). Комплекс может быть образован при любом рН (например, 3-10). Предпочтительно фосфопептид включает в себя последовательность -А-В-С-, где А является фосфоаминокислотой, предпочтительно фосфосерином, В является любой аминокислотой, включающей в себя фосфоаминокислоту, и С является глутаминовой

20 кислотой, аспарагиновой кислотой или фосфоаминокислотой. Фосфоаминокислота может представлять собой фосфосерин. РР сверхнагружен ионами кальция и фосфата. Ионы кальция могут находиться в диапазоне 30-1000 моль Са на моль РР, или в диапазоне 30-100 или 30-50 моль Са на моль РР. В другом варианте осуществления моль Са на моль РР составляет по меньшей мере 25, 30, 35, 40, 45 или 50.

25 Настоящее изобретение включает в себя стабилизированный фосфопептидом или фосфопротеином (РР) комплекс аморфного фосфата кальция или аморфного фторида фосфата кальция, имеющий содержание ионов кальция, большее, чем приблизительно 30 моль кальция на моль РР. В предпочтительном варианте осуществления содержание ионов кальция находится в диапазоне от приблизительно 30 до 100 моль кальция на

30 моль РР. Более предпочтительно, содержание ионов кальция находится в диапазоне от приблизительно 30 до приблизительно 50 моль кальция на моль РР.

Изобретение также обеспечивает стабилизированный фосфопептидом или фосфопротеином (РР) комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР), получаемый способом, включающим в себя

35 следующие шаги:

(i) получают растворы, содержащие кальций, неорганический фосфат и фторид (дополнительно); и

(ii) смешивают (i) с раствором, содержащим РР-АСР.

В предпочтительном варианте осуществления РР представляет собой казеиновый

40 фосфопептид (СРР).

В еще одном аспекте настоящее изобретение также включает в себя применение состава, состоящего из (а) РР-стабилизированного комплекса АСР и/или АСФР вместе с по меньшей мере равным весовым количеством фосфата кальция и (б) соединения, обеспечивающего монофторфосфат. Предпочтительно фосфат кальция представляет

45 собой СаНРО₄ или молочнокислый кальций, или любое другое растворимое соединение фосфата кальция. Предпочтительно фосфат кальция (например, СаНРО₄) подвергают сухому смешиванию с РР-стабилизированным комплексом АСР и/или АСФР. В предпочтительном варианте осуществления соотношение комплекс РР-АСР и/или РР-

АСРР:фосфат кальция составляет приблизительно 1:1-50, более предпочтительно приблизительно 1:1-25, более предпочтительно приблизительно 1:5-15. В одном варианте осуществления соотношение комплекс РР-АСР и/или РР-АСФР:фосфат кальция составляет приблизительно 1:10.

5 Лекарственная форма для ухода за полостью рта, которая включает в себя стабилизированный фосфопептидом или фосфопротеином (РР) комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР), имеющий содержание ионов кальция, большее, чем приблизительно 30 моль кальция на моль РР при использовании в ротовой полости, может быть получена при помощи способа, включающего в себя следующие шаги:

- (i) получают порошок, содержащий комплекс РР-АСР и/или РР-АСФР;
- (ii) подвергают сухому смешиванию с эффективным количеством фосфата кальция и соединением, обеспечивающим монофторфосфат кальция; и
- (iii) составляют из сухой смеси лекарственную форму для ухода за полостью рта.

15 Предпочтительной формой фосфата кальция для сухого смешивания является любой растворимый фосфат кальция, включая, без ограничений, CaHPO_4 , Ca_2HPO_4 и молочнокислый кальций.

Стабилизированный комплекс АСР или АСФР, согласно изложенному в настоящем документе, может также включать в себя стабилизированный комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР), содержащий ассоциированное олово, раскрытый в заявке согласно РСТ № РСТ/AU 2014/050447, поданной 24 декабря 2014 г. на имя Мельбурнского университета. Олово может быть связано со стабилизированным аморфным фосфатом кальция (АСР) и/или аморфным фторидом фосфата кальция (АСФР), как определено протоколом эксперимента в примере 2. В одном варианте осуществления стабилизированный ассоциированным оловом комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) получают способом, раскрытым в настоящей заявке, включая, без ограничений, способ, раскрытый в примере 1.

Казеиновые фосфопептиды могут стабилизировать соединение олова в водной среде, и в присутствии стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и стабилизированного аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) эти комплексы превосходят другие формы фторида и стабилизированного АСР или АСФР при реминерализации эмалевых подповерхностных повреждений. Минерализация дентальных поверхностей может быть существенно улучшена за счет обеспечения соединения олова в процессе минерализации стабилизированным АСР и/или стабилизированным АСФР. В частности, было установлено, что минерализация эмали стабилизированными растворимыми формами комплексов АСР и АСФР, содержащих ассоциированное олово, улучшена по сравнению со стабилизированным АСР и фторидом без ассоциированного олова. Иными словами, ионы олова связываются в комплекс с комплексами СРР-АСР и/или СРР-АСФР, и эти Sn-ассоциированные комплексы СРР-АС(F)Р обеспечивают превосходные свойства. Полезны различные композиции, включающие в себя эти комплексы для введения. При использовании фтористой оловянной соли в композициях комплексов АСР/АСФР, содержащих ассоциированное олово, имеются дополнительные ионы фторида. Дополнительные ионы фторида могут также быть обеспечены посредством включения NaF в композицию.

Стабилизированный АСР или АСФР, содержащий ассоциированное олово, может иметь содержание ионов олова, составляющее по меньшей мере 1 моль олова на моль фосфопептида. Предпочтительно стабилизированный АСР или АСФР, содержащий

ассоциированное олово, имеет содержание ионов олова, составляющее по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 моль олова на моль фосфопептида. Еще более предпочтительно содержание ионов кальция находится в диапазоне от 1 до 100, от 1 до 50, от 1 до 20 или от 1 до 10 моль олова на моль фосфопептида.

5 Стабилизированный АСР или АСРР, содержащий ассоциированное олово, может быть получен следующим образом. Приобретают комплекс казеинового фосфопептида с аморфным фосфатом кальция (СРР-АСР), выпускаемый компанией Cadbury Enterprises Pte Ltd под торговым наименованием Recaldent™. Приготавливают раствор с использованием СРР-АСР, SnF₂ и NaF для получения при 0,4% масс/об. СРР-АСР, 220
10 ppm F в виде SnF₂ и 70 ppm F в виде NaF, pH 5,6. В частности, стабилизированные комплексы АСР, содержащие ассоциированное олово, могут быть получены путем добавления СРР-АСР к дистиллированной/деионизированной воде, после чего добавляют SnF₂ (в твердом состоянии) и NaF с добавлением 1 М HCl для поддержания pH в диапазоне между 4,0 - 6,5. pH не должен превышать 6,5. Общий объем добавленной
15 кислоты был меньше, чем 1% объема раствора стабилизированного АСР с ассоциированным оловом. Хотя в этом способе можно добавлять NaF, он является второстепенным компонентом и большую часть фторида получают из SnF₂. Способ может быть реализован с использованием только SnF₂ (без NaF).

Настоящее изобретение также обеспечивает способ минерализации зубной
20 поверхности или подповерхности, включающий в себя следующие шаги:
(i) обеспечивают контакт зубной поверхности с агентом, разрушающим белок, и
(ii) обеспечивают контакт зубной поверхности с композицией согласно настоящему изобретению.

Зубная поверхность предпочтительно представляет собой зубную эмаль. В одном
25 варианте осуществления зубная поверхность представляет собой повреждение эмали, например, повреждение, вызванное кариесом, эрозией зубов или флюорозом. Любой подходящий агент, разрушающий белок, может применяться в способе настоящего изобретения. Этот агент нужен для уменьшения белкового барьера, образованного над поверхностью, которая должна быть пролечена, такой как кутикула над зубами.
30 Примеры подходящих агентов включают в себя отбеливатель, детергент, хаотропные агенты, такие как мочевины, высокие фосфатные концентрации, коктейли протеаз (например, эндопептидаз, протеиназ и экзопептидаз) и любой другой агент, солюбилизирующий, разрушающий или гидролизующий белок. Примеры подходящих отбеливателей включают гипохлорит натрия (NaOCl) и карбамид-пероксидные
35 отбеливатели. В предпочтительном варианте осуществления отбеливателем является щелочной отбеливатель. В еще одном предпочтительном варианте осуществления щелочным отбеливателем является NaOCl. Агент, разрушающий белок, действует путем солюбилизации и частичного или полного удаления белков с зубной поверхности, особенно белков кутикулы.

40 Композиция, описанная в настоящей заявке, может дополнительно включать в себя свободные ионы фторида. Свободные ионы фторида могут поступать из любого подходящего источника. Источник свободных ионов фторида может включать в себя свободные ионы фторида или фтористых солей. Примеры источников свободных ионов фторида включают в себя, без ограничений, следующее: фторид натрия, фторид олова,
45 кремнефтористый натрий и фторид амина. Они могут быть обеспечены в растворе (как правило, водном растворе) или суспензии.

Свободные ионы фторида предпочтительно присутствуют в композиции в количестве большем, чем 1 ppm. Более предпочтительно, это количество больше, чем 3 ppm. В

другом варианте осуществления оно предпочтительно больше, чем 10 ppm. В типичных вариантах осуществления, раскрытых ниже, это количество может составлять несколько сотен или тысяч ppm. Содержание свободного фторида, как правило, измеряют в ppm в пероральных композициях способом, общеупотребительным в данной области техники.

5 Когда фторид обеспечивается из источника со стабилизированным АСР, количество ppm относится к концентрации фторида в этом источнике, как правило, растворе или суспензии биологически доступного фторида.

Минерализация зубных поверхностей может быть значительно улучшена за счет увеличения pH повреждения в процессе минерализации. В частности, было установлено, что минерализация эмали при помощи стабилизированных растворимых форм АСР (CPP-АСР) и АСФР (CPP-АСФР) улучшается соединением, которое увеличивает pH внутри повреждения, если pH внутри повреждения является кислотным, или сохраняет pH, если pH внутри повреждения является нейтральным или основным. Например, при образовании кариеса pH жидкости внутри повреждения может составлять 6 или меньше.

15 Соединение, способное увеличивать или сохранять pH раствора, может контактировать с зубной поверхностью в течение периода времени от приблизительно 1 до 60 минут, или от приблизительно 1 до 30 минут. В одном варианте осуществления соединение, способное увеличивать или поддерживать pH раствора, контактирует с зубной поверхностью в течение приблизительно 20 минут. Примером того, как это достигается служит составление на основе этого соединения композиции для ухода за полостью рта, такой как паста, а затем приведение в контакт или нанесение этой композиции на зубную поверхность. Пероральная композиция, такая как паста, обладает достаточной вязкостью, чтобы оставаться на зубе в течение требуемого периода времени.

25 Стабилизированный АСР и/или АСФР предпочтительно могут контактировать с зубной поверхностью в течение периода от приблизительно 1 минуты до 2 часов, или от 5 минут до 60 минут, или приблизительно 10 минут. Стабилизированный АСР и/или АСФР может быть повторно нанесен на зубную поверхность в течение периода от 1 дня до нескольких месяцев.

30 В одном варианте осуществления соединение, способное увеличивать или сохранять pH раствора, контактирует с зубной поверхностью от 1 до 60 минут, или от 1 до 30 минут, или от 1 до 5 минут перед контактированием зубной поверхности со стабилизированным АСР и/или АСФР.

В одном варианте осуществления соединение, способное увеличивать или сохранять pH раствора, контактирует с зубной поверхностью от 1 до 60 минут, или от 1 до 30 минут, или от 1 до 5 минут после контактирования зубной поверхности со стабилизированным АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предлагается способ минерализации зубной поверхности, включающий в себя нанесение комплекса АСР и/или АСФР, соединения, обеспечивающего монофторфосфат кальция, и соединения, способного увеличивать или сохранять pH раствора, на зубную поверхность. Предпочтительно зубная поверхность представляет собой зубную эмаль. Как правило, зубной поверхностью является зубная эмаль или дентин зуба, содержащий повреждение, выбранное из группы, состоящей из одного или более из: повреждения в виде белого пятна; флюорозного повреждения; кариозного повреждения; или повреждения, вызванного зубной эрозией.

В одном варианте осуществления зубная поверхность нуждается в таком лечении. Поэтому в другом аспекте изобретение включает в себя, в дополнение к шагам любого

способа, описанного в настоящей заявке, шаг идентификации пациента, страдающего флюорозом, зубным кариесом, гиперчувствительностью зубов и зубными отложениями, повреждением в виде белого пятна; флюорозным повреждением; кариозным повреждением; или повреждением, вызванным зубной эрозией.

5 Настоящее изобретение обеспечивает композицию, содержащую:

(a) соединение, способное увеличивать или поддерживать pH раствора;

(b) стабилизированный АСР и/или АСФР; и

(c) соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция для использования при минерализации зубной поверхности или подповерхности.

10 Соединение, способное увеличивать или поддерживать pH раствора, включает в себя соединение, которое может принимать катионы (протоны) водорода или, в более общем смысле, являться донором пары валентных электронов. Предпочтительно, соединение может обычно являться основанием. Соединение способно увеличивать pH раствора, который имеет кислотный pH (т.е. меньше, чем pH 7). Предпочтительно
15 соединение способно повышать pH жидкости внутри дентального повреждения с 6 до 7,5. В одном варианте осуществления соединение, способное увеличивать или поддерживать pH раствора, представляет собой щелочь, обладающую способностью высвобождать ионы гидроокиси.

Соединение, способное увеличивать или поддерживать pH раствора, также включает
20 в себя соединение, которое может поддерживать в качестве буфера pH нейтрального или основного раствора (т.е. pH больше или равен 7), когда нейтральный или основной раствор подвергается воздействию кислоты. Как правило, соединение способно поддерживать pH раствора в диапазоне от 7 до 9, предпочтительно около 7,5.

Любые фармацевтически приемлемые соединения, описанные в качестве основания,
25 пригодны для использования в настоящем изобретении. Как правило, основание пригодно для перорального применения. Предпочтительно соединение действует в качестве основания, т.е. только высвобождает ионы гидроокиси или отдает электроны в присутствии кислоты. Основание может быть в форме свободного основания или фармацевтически приемлемой солевой форме. Неограничивающие примеры оснований,
30 пригодных для использования в настоящем изобретении, включают в себя гидроокиси, хлориды, бораты, фосфаты, в том числе гидрофосфаты и дигидрофосфаты, цитраты, карбонаты, бикарбонаты, гипохлориты, амины и любые их солевые формы, включая солевые формы щелочных металлов. Более конкретно, неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых оснований включают в себя гидроокись аммония,
35 гидроокись натрия, гидроокись калия, гидроокись лития, гидроокись кальция, гидроокись магния, гидрозакись железа, гидроокись цинка, гидроокись меди, гидроокись алюминия, гидроокись железа, изопропиламин, триметиламин, этаноламин, 2-диметиламиноэтанол, 2-диэтиламиноэтанол, лизин, аргинин, гистидин. Гипофторит, способный действовать в качестве основания, как описано в настоящем документе,
40 также может использоваться в изобретении в качестве вещества для увеличения или поддержания pH. Подходящий гипофторит вступает в реакцию *in situ*, продуцируя ионы фторида и ионы гидроокиси (или другого основания). Специалисту в данной области понятно, что ионы фторида могут замещать гидроокись в кристаллической структуре апатит-образующего фторапатита.

45 В любом аспекте или вариантах осуществления, описанных в настоящей заявке, стабилизированные АСР и/или АСФР стабилизированы фосфопептидом (РР). Предпочтительно фосфопептидом (как определено ниже) является казеиновый фосфопептид. АСР или АСФР предпочтительно находятся в форме комплекса АСР и/

или АСРР, стабилизированного казеиновым фосфопептидом.

«Фосфопептид» в контексте описания этого изобретения означает аминокислотную последовательность, в которой по меньшей мере одна аминокислота фосфорилирована. Предпочтительно фосфопептид включает в себя одну или более из аминокислотной последовательности А-В-С-, где А является фосфоаминовым остатком, В является любым аминокислотным остатком, включающим фосфоаминовый остаток, и С выбран из глутаминового, аспарагинового или фосфоаминового остатка. Любой из фосфоаминовых остатков может независимо быть фосфосериловым остатком. В представляет желательный остаток боковой цепи, который не является ни относительно большим, ни гидрофобным. Это может быть Gly, Ala, Val, Met, Leu, Ile, Ser, Thr, Cys, Asp, Glu, Asn, Gln или Lys. По меньшей мере две фосфоаминокислоты в последовательности являются предпочтительно смежными. Предпочтительно фосфопептид включает последовательность А-В-С-D-E, где А, В, С, D и Е являются независимо фосфосерином, фосфотреонином, фосфотирозином, фосфогистидином, глутаминовой кислотой или аспарагиновой кислотой, и по меньшей мере две, предпочтительно три, из А, В, С, D и Е являются фосфоаминокислотой. В предпочтительном варианте осуществления фосфоаминокислотными остатками является фосфосерин, более предпочтительно три смежных фосфосериновых остатка. Также предпочтительно, чтобы D и Е являлись независимо глутаминовой или аспарагиновой кислотой.

В одном варианте осуществления АСР или АСРР стабилизируют посредством казеинового фосфопептида (СРР), который находится в форме интактного казеина или фрагмента казеина, и образованный комплекс предпочтительно имеет формулу $[\text{СРР}(\text{АСР})_8]_n$ или $[(\text{СРР})(\text{АСРР})_8]_n$, где n равно или больше чем 1, например 6. Образованный комплекс может быть коллоидным комплексом, где коровью частицы агрегируют с образованием больших (напр., 100 нм) коллоидных частиц, суспендированных в воде. Таким образом, РР может быть казеиновым белком или фосфопептидом.

РР может быть получен из любого источника; он может быть представлен в контексте большего полипептида, включая полноразмерный казеиновый полипептид, или он может быть выделен путем триптического или другого ферментативного или химического переваривания казеина или других обогащенных фосфоаминокислотой белков, таких как фосфитин, или путем химического или рекомбинантного синтеза, при условии, что он включает последовательность -А-В-С- или А-В-С-D-E, как описано выше. Последовательность, фланкирующая эту коровью последовательность, может быть любой последовательностью. Однако эти фланкирующие последовательности в $\alpha_{s1}(59-79)$, $\beta(1-25)$, $\alpha_{s2}(46-70)$ и $\alpha_{s2}(1-21)$ являются предпочтительными. Фланкирующие последовательности могут быть в некоторых случаях модифицированы путем удаления, добавления или консервативного замещения одного или нескольких остатков. Аминокислотная композиция и последовательность фланкирующей области не являются критическими.

Фосфопептид может быть выбран из любых, описанных в патентах WO 2006/056013, WO 2006/135982 или патенте США №5,015,628.

Примеры консервативных замещений показаны в таблице 1 ниже.

ТАБЛИЦА 1

Исходный остаток	Типичное консервативное замещение	Предпочтительное консервативное замещение
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Asn	Gln Lys His Phe	Gln

Исходный остаток	Типичное консервативное замещение	Предпочтительное консервативное замещение
Gln	Asn	Asn
Gly	Pro	Pro
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe	Leu
Leu	Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, Gln, Asn	Arg
Phe	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro	Gly	Gly
Ser	Thr	Thr
Val	Ile, Leu, Met, Phe, Ala	Leu
Asp	Glu	Glu
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr	Tyr
Tyr	Trp Phe Thr Ser	Phe

Фланкирующие последовательности могут также включать не встречающиеся в природе аминокислотные остатки.

Обычно встречающиеся аминокислоты, которые не кодируются генетическим кодом, включают в себя:

- 2-аминоадипиновую кислоту (Aad) для Glu и Asp;
- 2-аминопимелиновую кислоту (Apm) для Glu и Asp;
- 2-аминомасляную кислоту (Abu) для Met, Leu и других алифатических аминокислот;
- 2-аминогептановую кислоту (Ahe) для Met, Leu и других алифатических аминокислот;
- 2-аминоизомасляную кислоту (Aib) для Gly;
- циклогексилаланин (Cha) для Val, Leu и Ile;
- гомоаргинин (Har) для Arg и Lys;

2,3-диаминопропионовую кислоту (Dpr) для Lys, Arg и His;

N-этилглицин (EtGly) для Gly, Pro и Ala;

N-этиласпарагин (EtAsn) для Asn и Gln;

гидроксилизин (Hyl) для Lys;

5 аллогидроксилизин (AHyl) для Lys;

3-(и 4)гидроксипролин (3Hyp, 4Hyp) для Pro, Ser и Thr;

аллоизолейцин (Alle) для Ile, Leu и Val;

-амидинофенилаланин для Ala;

N-метилглицин (MeGly, саркозин) для Gly, Pro, Ala;

10 N-метилизололейцин (Melle) для Ile;

норвалин (Nva) для Met и других алифатических аминокислот;

норлейцин (Nle) для Met и других алифатических аминокислот;

орнитин (Orn) для Lys, Arg и His;

цитруллин (Cit) и метионин сульфоксид (MSO) для Thr, Asn и Gln;

15 N-метилфенилаланин (MePhe), триметилфенилаланин, галогено (F, Cl, Br и I) фенилаланин, трифторфенилаланин для Phe.

В одном варианте осуществления РР представляет собой один или более фосфопептидов, выбранных из группы, состоящей из α_{s1} (59-79), β (1-25), α_{s2} (46-70) и α_{s2} (1-21).

20 В другом варианте осуществления согласно изобретению стабилизированный комплекс АСРР или АСР и соединение, обеспечивающее монофторфосфат, включают в пероральные композиции, такие как зубная паста, жидкости для полоскания рта или составы для рта, способствующие профилактике и/или лечению зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии или флюороза. Комплекс АСРР или АСР может
25 включать 0,01-50 масс. % композиции, предпочтительно 1,0-50 масс. %. Для пероральных композиций предпочтительно, чтобы количество введенного СРР-АСР и/или СРР-АСРР составляло 0,01-50 масс. %, предпочтительно 1,0%-50 масс. % композиции. В особенно предпочтительном варианте осуществления пероральная композиция согласно
30 настоящему изобретению содержит приблизительно 2% СРР-АСР, СРР-АСРР или смеси того и другого. Пероральная композиция согласно настоящему изобретению, которая содержит вышеупомянутые вещества, может быть получена и использована в различных формах, применимых для полости рта, таких как средство для чистки зубов, включая
зубные пасты, зубные порошки и жидкие средства для чистки зубов, жидкости для
35 промывания рта, жидкости для полоскания рта, средства для орошения полости рта, лак, зубной цемент, пастилки, жевательные резинки, дентальные пасты, массажные кремы для десен, таблетки для полоскания, молочные продукты и другие продукты питания. Пероральная композиция в соответствии с настоящим изобретением может также включать в себя дополнительные хорошо известные ингредиенты в зависимости от типа и формы конкретной пероральной композиции.

40 В некоторых предпочтительных формах согласно изобретению пероральная композиция может быть по существу жидкой по своему характеру, такой как жидкость для промывания рта, жидкость для полоскания или аэрозоль. В таком препарате носитель обычно представляет собой водно-спиртовую смесь, желательную включающую
увлажнитель, как описано ниже. Обычно весовое отношение воды к спирту находится
45 в диапазоне от приблизительно 1:1 до приблизительно 20:1. Общее количество водно-спиртовой смеси в этом типе препарата находится обычно в диапазоне от приблизительно 70 до приблизительно 99,9 масс. % препарата. Спирт обычно представляет собой этанол или изопропанол. Этанол является предпочтительным.

В других желательных формах настоящего изобретения композиция может быть в основном твердой или пастообразной по своему характеру, такой как зубной порошок, дентальная таблетка, зубная паста (дентальный крем) или гелевое средство для ухода за зубами. Носитель в таких твердых или пастообразных оральных препаратах обычно содержит дентально приемлемый полирующий материал. Примерами полирующих материалов являются водонерастворимый метафосфат натрия, метафосфат калия, трикальцийфосфат, двуводный фосфат кальция, безводный дикальцийфосфат, пиррофосфат кальция, ортофосфат магния, тримагнийфосфат, карбонат кальция, гидратированный алюминий, кальцинированный алюминий, силикат алюминия, силикат циркония, кремнезем, бентонит и их смеси. Другие подходящие полирующие материалы включают в себя термоотвержденные смолы в виде частиц, такие как меламина-, фенол- и мочевиноформальдегидные смолы и сшитые полиэпоксиды и сложные полиэфиры. Предпочтительные полирующие материалы включают в себя кристаллический кремнезем, имеющий размер частиц вплоть до приблизительно 5 микрон, средний размер частиц вплоть до приблизительно 1,1 микрон и площадь поверхности вплоть до приблизительно $50000 \text{ см}^2/\text{г}$, силикагель или коллоидный кремнезем и комплексный аморфный алюмосиликат щелочного металла.

При использовании визуально прозрачных гелей полирующий агент коллоидного кремнезема, такой как имеющиеся в продаже под торговым названием SYLOID как Syloid 72 и Syloid 74 или под торговым названием SANTOCEL как Santocel 100, комплексы алюмосиликата щелочного металла особенно полезны, так как они имеют коэффициенты отражения, близкие к коэффициентам отражения систем гелеобразующий агент-жидкость (включая воду и/или увлажнитель), обычно используемых в средствах для ухода за зубами.

Многие так называемые «водонерастворимые» полирующие материалы являются анионными по своему характеру и также включают небольшое количество растворимого материала. Так, нерастворимый метафосфат натрия может быть образован любым приемлемым способом, например, как иллюстрировано в Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry, Volume 9, 4th Edition, p. 510-511. Формы нерастворимого метафосфата натрия, известные как соль Мадрелла и соль Курроля, являются далее примерами подходящих материалов. Эти метафосфатные соли обладают лишь незначительной растворимостью в воде, поэтому их обычно относят к нерастворимым метафосфатам (IMP). Там присутствует небольшое количество растворимого фосфатного материала в качестве примеси, обычно несколько процентов, например, до 4 масс. %. Количество растворимого фосфатного материала, которое, как считают, включает растворимый триметафосфат натрия в случае нерастворимого метафосфата, может быть уменьшено или исключено путем промывания водой при необходимости. Нерастворимый метафосфат щелочного металла обычно применяют в виде порошка с таким размером частиц, чтобы не более 1% материала имело размер более 37 мкм.

Полирующий материал обычно присутствует в твердых или пастообразных композициях в весовых концентрациях от приблизительно 10% до приблизительно 99%. Предпочтительно он присутствует в количестве от приблизительно 10% до приблизительно 75% в зубной пасте и от приблизительно 70% до приблизительно 99% в зубном порошке. В зубных пастах, когда полирующий материал является силикатным по природе, он обычно представлен в количестве от приблизительно 10 до 30 масс. %. Другие полирующие материалы обычно представлены в количестве от приблизительно 30 до 75 масс. %.

В зубной пасте жидкий носитель может содержать воду и увлажнитель обычно в

количестве, изменяющемся в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 80 масс. % препарата. Глицерин, пропиленгликоль, сорбит и полипропиленгликоль являются примерами приемлемых увлажнителей/носителей. Также эффективными являются жидкие смеси воды, глицерина и сорбита. В прозрачных гелях, где показатель преломления является важным фактором, предпочтительно использовать приблизительно 2,5-30 масс. % воды, от 0 до приблизительно 70 масс. % глицерина и приблизительно 20-80 масс. % сорбита.

Зубная паста, кремы и гели обычно содержат природный или синтетический загуститель или гелеобразующий агент в пропорциях от приблизительно 0,1 до приблизительно 10, предпочтительно от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 масс. %. Подходящим загустителем является синтетический гекторит, синтетическая комбинированная глина из коллоидного магния и силиката щелочного металла, доступный, например, как Laponite (напр., CP, SP 2002, D), предлагаемый компанией Laporte Industries Limited. Laponite D состоит приблизительно из 58,00% SiO₂, 25,40% MgO, 3,05% Na₂O, 0,98% Li₂O в масс. % и небольшого количества воды и следов металла. Его истинное значение удельной массы составляет 2,53, при этом он имеет кажущуюся объемную плотность 1,0 г/мл при 8% влажности.

Другие подходящие загустители включают в себя ирландский мох, йота каррагенан, трагакантовую камедь, крахмал, поливинилпирролидон, гидроксиэтилпропилцеллюлозу, гидроксибутилметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксиэтилцеллюлозу (напр., доступную как Natrosol), карбоксиметилцеллюлозу натрия и коллоидный кремнезем, такой как тонкоизмельченный Syloid (напр., 244). Также могут быть включены солюбилизующие агенты, такие как увлажняющие полиолы, например, пропиленгликоль, дипропиленгликоль и гексиленгликоль, целлозолы, такие как метилцеллозол и этилцеллозол, растительные масла и воски, содержащие по меньшей мере приблизительно 12 атомов углерода в прямой цепи, такие как оливковое масло, касторовое масло и петролатум, и сложные эфиры, такие как амилацетат, этилацетат и бензилбензоат.

Следует понимать, что, как это и принято, лекарственные препараты для перорального приема должны, как правило, продаваться или распространяться иным способом в подходящих маркированных упаковках. Так, баночка зубного эликсира будет иметь этикетку, описывающую его по существу как зубной эликсир или жидкость для полоскания рта и содержащую инструкции по его применению; при этом зубная паста, крем или гель должны находиться, как правило, в легкосжимаемом тюбике, обычно алюминиевом, освинцованном или пластиковом, или другом приспособлении для выдавливания, выкачивания или выжимания с дозированием содержимого, имеющем этикетку с описанием его по существу как зубной пасты, геля или зубного крема.

Органические поверхностно-активные вещества могут применяться в композициях согласно настоящему изобретению для усиления профилактического действия, содействия в достижении глубокой и полной дисперсии активного вещества через ротовую полость и для получения косметически более приемлемых композиций, не требующих приготовления перед употреблением. Органический поверхностно-активный материал предпочтительно имеет анионную, неионную или амфолитическую природу и предпочтительно не взаимодействует с активным веществом. Его предпочтительно применяют как поверхностно-активный агент моющего материала, который придает композиции моющие и пенящие свойства. Подходящими примерами анионных поверхностно-активных веществ являются водорастворимые соли моносulfатов моноглицеридов высших жирных кислот, такие, как натриевая соль моносulfата

моноглицерида жирных кислот гидрогенизированного кокосового масла, высокие алкилсульфаты, такие как лаурилсульфат натрия, алкиларилсульфонаты, такие как додецилбензолсульфонат натрия, высшие алкилсульфоацетаты, сложные эфиры высших жирных кислот и 1,2-диоксипропансульфоната, и существенно насыщенные высшие алифатические ациламиды из низших алифатических аминокислот, имеющих от 12 до 16 углеродных атомов в жирной кислоте, алкильные или ацильные радикалы и т.п. Примерами последних упомянутых амидов являются N-лауроилсаркозин и натриевые, калиевые и этаноламиновые соли N-лауроил, N-миристоил или N-пальмитоилсаркозин, которые по существу не содержат мыла или подобных материалов высших жирных кислот. Применение этих саркозинатных соединений в пероральных композициях настоящего изобретения особенно благоприятно, т.к. эти вещества оказывают заметный и продолжительный эффект подавления кислотности в полости рта благодаря разрушению углеводов в дополнение к некоторому снижению растворимости зубной эмали в кислотных растворах. Примерами водорастворимых неионных поверхностно-активных веществ, подходящих для использования, являются продукты конденсации этиленоксида с различными активными водородсодержащими соединениями, реагирующими с соединениями, имеющими длинные гидрофобные цепи (напр. алифатические цепи примерно от 12 до 20 углеродных атомов), продукты конденсации которых («этоксамеры») содержат гидрофильные полиоксиэтиленовые фрагменты, например, продукты конденсации поли(этиленоксида) с жирными кислотами, жирными спиртами, жирными амидами, многоатомными спиртами (например, сорбитанмоностеарат) и полипропиленоксидом (например, плурониловые материалы).

Поверхностно-активные вещества обычно представлены в количестве от приблизительно 0,1 до 5 масс. %. Следует отметить, что поверхностно-активное вещество может содействовать растворению активного вещества согласно изобретению и, тем самым, уменьшать количество требуемого солюбилизующего увлажнителя.

В состав пероральных препаратов согласно настоящему изобретению, могут быть включены различные другие материалы, такие как отбеливающие агенты, консерванты, силиконы, хлорофильные соединения и/или аммонизированный материал, такой как мочевины, фосфат диаммония и их смеси. Эти адъюванты в случае их присутствия включаются в препараты в количестве, которое не оказывает заметного вредного влияния на желательные свойства и характеристики.

Может также использоваться любой подходящий ароматизирующий или подслащивающий материал. Примерами подходящих ароматизирующих компонентов являются ароматические масла, например масло мяты кудрявой, мяты перечной, винтергрена, сассафраса, гвоздичного дерева, шалфея, эвкалипта, майорана, коричневого дерева, лимона и апельсина и метилсалицилат. Подходящие подслащивающие вещества включают в себя сахарозу, лактозу, мальтозу, сорбит, ксилит, цикламат натрия, периллартин, АФМ (аспартилфенилаланин метиловый эфир), сахарин и т.п. Подходящие ароматизирующие или подслащивающие вещества могут, каждое или совместно, содержать от приблизительно 0,1% до 5% и более препарата.

Композиции согласно настоящему изобретению также могут быть включены в состав таблеток для рассасывания, жевательных резинок или других продуктов, например, путем размешивания в теплой гуммиоснове или покрытия наружной поверхности гуммиосновы, характерными примерами которых являются джелутонг, каучуковый латекс, винилитовый полимер и т.п., желательно с соответствующими пластификаторами или умягчителями, сахаром или другими подсластителями, такими как глюкоза, сорбит и тому подобное. Композиция согласно настоящему изобретению может представлять

собой двухфазную композицию, в которой каждая фаза позволяет высвободить компоненты в течение различных периодов времени. Например, в ходе использования двухфазная композиция может высвободить стабилизированный АСР и/или АСФР, предпочтительно СРР-АСР и/или СРР-АСФР, из первой фазы с большей скоростью, чем соединение, обеспечивающее монофторфосфат, из второй фазы. Двухфазная композиция предпочтительно представляет собой двухфазную жевательную резинку.

В еще одном аспекте изобретение обеспечивает композиции, включающие в себя фармацевтические композиции, содержащие любой из комплексов АСФР и/или АСР, как описано выше, вместе с соединением, обеспечивающим монофторфосфат, и фармацевтически приемлемым носителем. Такие композиции могут быть выбраны из группы, состоящей из дентальных, антикариогенных и терапевтических композиций. Дентальные или терапевтические композиции могут быть в форме геля, жидкости, твердой фазы, порошка, крема или таблетки для рассасывания. Терапевтические композиции могут быть также в форме таблеток или капсул. В одном варианте осуществления АСР и/или АСФР и соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция, являются по существу единственными реминерализующими активными компонентами такой композиции. Например, может быть применен состав крема, содержащий: воду; глицерин; СРР-АСР; монофторфосфат кальция; D-сорбит; диоксид кремния; карбоксиметилцеллюлозу натрия (СМС-Na); пропиленгликоль; диоксид титана; ксилит; фосфорную кислоту; гуаровую камедь; оксид цинка; сахарин натрия; этил-р-гидроксибензоат; оксид магния; бутил-р-гидроксибензоат и пропил-р-гидроксибензоат.

Изобретение далее включает в себя состав, описанный выше, предлагаемый вместе с инструкциями по его применению для лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса или разрушения зуба, зубной эрозии, гиперчувствительности и флюороза.

В одном варианте осуществления активные компоненты композиции состоят в основном из соединения, обеспечивающего монофторфосфат кальция, и стабилизированного АСР и/или АСФР. Полагают, без связи с любой теорией или способом действия, что стабилизированный АСР и/или АСФР и соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция, являются центральными в терапевтическом или профилактическом действии вышеупомянутых вариантов осуществления настоящего изобретения, и, таким образом, варианты осуществления, состоящие в основном из этих компонентов (с носителями, вспомогательными веществами и т.п., согласно требованиям), включены в объем изобретения.

Изобретение также относится к набору для лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, флюороза и зубной эрозии, включающему (а) соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция, и (b) комплекс стабилизированного СРР-АСР и/или СРР-АСФР в фармацевтически приемлемом носителе. Желательно, чтобы набор дополнительно включал в себя инструкции по их применению для минерализации зубной поверхности у пациента, нуждающегося в таком лечении. Инструкции могут описывать применение набора для лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза. В одном варианте осуществления вещество и комплекс имеются в подходящих количествах для лечения пациента.

В еще одном аспекте предлагается способ лечения или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза, включающий в себя шаги введения соединения, обеспечивающего монофторфосфат кальция, в зубы пациента после введения комплекса или композиции АСР и/или АСФР. Местное введение

комплекса является предпочтительным. Способ предпочтительно включает в себя введение комплекса в составе, описанном выше.

В еще одном аспекте предлагается применение соединения, обеспечивающего монофторфосфат кальция, и стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида фосфата кальция (АСФР) при производстве композиции для лечения и/или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, зубной эрозии и флюороза.

В еще одном аспекте предлагается композиция, содержащая в качестве активного вещества соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция, и стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР) для минерализации зубной поверхности или подповерхности. Как правило, минерализация зубной поверхности или подповерхности предназначена для лечения и/или профилактики одного или более из зубного кариеса, разрушения зуба, гиперчувствительности, зубной эрозии и флюороза.

В соответствии с еще одним аспектом изобретения предлагается композиция для восстановления зуба, содержащая пломбировочный материал для зубов, к которому добавляют композицию согласно настоящему изобретению. Основой зубного пломбировочного материала может быть стеклянный иономерный цемент, композитный материал или любой другой пломбировочный материал, который является совместимым. Предпочтительно, количество стабилизированного АСР или АСФР, предпочтительно комплекса СРР-АСР или комплекса СРР-АСФР, включенного в зубной пломбировочный материал, составляет 0,01-80 масс. %, предпочтительно 0,510% и более предпочтительно 1-5 масс. %. Зубной пломбировочный материал данного изобретения, который содержит вышеупомянутые средства, можно получать и использовать в различных формах, применимых в зубоврачебной практике. Зубной пломбировочный материал согласно данному варианту осуществления может также включать в себя и другие ионы, например, противобактериальные ионы Zn^{2+} , Ag^{+} и т.д., или другие дополнительные ингредиенты в зависимости от типа и формы определенного зубного пломбировочного материала. Предпочтительно, чтобы рН зубного пломбировочного материала согласно данному варианту осуществления соответствовал диапазону между 2-10, более предпочтительно 5-9 и еще более предпочтительно 5-7. Предпочтительно, чтобы рН зубного пломбировочного материала, содержащего комплекс СРР-АСР или комплекс АСФР, соответствовал диапазону от приблизительно 2 до 10, более предпочтительно диапазону от приблизительно 5 до 9 и еще более предпочтительно диапазону от приблизительно 5 до 7.

В соответствии с еще одним аспектом изобретения предлагается лак, содержащий соединение, обеспечивающее монофторфосфат, и минерализующее вещество. Минерализующее вещество предпочтительно представляет собой любой стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР, описанный в настоящей заявке, и соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция.

Следует ясно понимать, что, хотя настоящее описание конкретно ссылается на применения для человека, изобретение также подходит для целей ветеринарии. Так, во всех аспектах изобретение подходит для применения домашним животным, таким как крупный рогатый скот, овцы, лошади и домашняя птица; для животных-компаньонов, таких как кошки и собаки; и для животных из зоопарка.

Далее изобретение будет описано со ссылкой на следующие неограничивающие примеры.

В одном примере минерализующая композиция или вещество содержит следующее

(в порядке убывания относительного содержания):

воду,
 глицерин,
 CPP-АСР,
 5 D-сорбит,
 диоксид кремния,
 карбоксиметилцеллюлозу натрия (СМС-Na),
 пропиленгликоль,
 диоксид титана,
 10 ксилит,
 фосфорную кислоту,
 гуаровую камедь,
 оксид цинка,
 сахарин натрия,
 15 этил-р-гидроксibenзоат,
 оксид магния,
 бутил-р-гидроксibenзоат,
 пропил-р-гидроксibenзоат.

Такая композиция поставляется компанией GC Corporation под названием Tooth
 20 Mousse™. Она пригодна для использования после добавления соединения,
 обеспечивающего монофторфосфат кальция, и имеет форму пасты или крема для
 облегчения ее задержки на зубах в течение приемлемого периода времени.
 Альтернативно, эта минерализующая композиция может содержать соединение,
 обеспечивающее монофторфосфат кальция.

25 Пример 1

Получение растворов CPP-ACFP и CPP-АСР

Исходные растворы 3,25 М CaCl₂, 1,25 М Na₂HPO₄ и 1 М NaOH добавляли
 приблизительно в тридцати аликвотах к 10-15% масс/об. продукта триптического
 гидролиза казеина до тех пор, пока не получали конечные концентрации приблизительно
 30 78 мМ Ca²⁺, 48 мМ фосфата и 12 мМ фторида. Растворы добавляли медленно (то есть
 менее, чем приблизительно 1% объемного добавления в минуту). Сначала добавляли
 аликвоту раствора фосфата, за которой следовала аликвота раствора кальция. pH
 поддерживали между приблизительно pH 9,0 и 5,5, используя NaOH при тщательном
 35 перемешивании. Раствор гидроокиси натрия добавляли автоматически с помощью pH-
 стата, при этом добавление ионов гидроокиси обычно осуществляли после каждого
 добавления ионов кальция. После добавления ионов кальция, ионов фосфата, ионов
 гидроокиси и ионов фторида раствор фильтровали через 0,1-микронный фильтр, чтобы
 сконцентрировать в 1-2 раза. Задержанный материал можно промывать водой, чтобы
 40 удалить соли и неактивные (и с горьким вкусом) пептиды, если необходимо. Растворы
 CPP-АСР готовили, как описано выше, без добавления фторида.

Пример 2

Определение слабо- и сильносвязанных кальция и фосфата

При завершении титрования и фильтрации для каждого pH в примере 1 брали пробу
 45 каждого ретентата и менее 10% собирали в виде фильтрата, используя
 ультрафильтрационную мембрану Centriprep 3, отсекающую молекулярную массу 3000.
 Мембраны Centriprep, содержащие пробы, подвергали центрифугированию при 1000 г
 в течение 15 минут на центрифуге Beckman J2-21, используя ротор JA 10.5. Исходную
 пробу до центрифугирования мембран Centriprep и пробу фильтрата после

центрифугирования брали для анализа концентраций кальция, фосфата и фторида. Анализ исходной пробы позволил установить общие концентрации кальция, фосфата и фторида, а анализ фильтрата показал концентрации слабосвязанных кальция, фосфата и фторида. Разность между общей и слабосвязанной концентрациями представляет собой концентрацию сильносвязанных Са, Рi и F посредством CPP.

Пример 3

Получение растворов CPP-ACFP и CPP-ACP

Recaldent™ (CPP-ACP) был приобретен у компании Recaldent Pty Ltd, штат Виктория, Австралия. Продукт (#841117) содержал 14,3% кальция, 22,3% фосфата и 47% казеинового фосфопептида по массе. Продукт растворяли при 0,5% и доводили pH до 5,5 добавлением HCl. Затем добавляли ионы кальция и фосфата титрованием 3,25 М CaCl₂ и 2 М NaH₂PO₄, поддерживая pH при 5,5 добавлением 2,5 М NaOH. Титрование ионами кальция и фосфата продолжали до тех пор, пока раствор не становился прозрачным. Записали концентрацию добавленных кальция и фосфата. Этот раствор можно также приготовить путем титрования ионами кальция и фосфата в 0,5% раствор CPP-ACP и снижения pH до 5,5 введением дополнительного фосфата кальция.

Таблица 2. Уровни кальция и фосфата в нормальном и сверхнагруженном CPP-ACP

	Кальций		Фосфат	
	ммоль/л	моль/моль CPP	ммоль/л	моль/моль CPP
Нормальный 0,5% (масс./об)	17,8	22,8	11,6	14,8

CPP-ACP				
Сверхнагруженный 0,5% (масс./об) CPP-ACP (sCPP-ACP)	37,8	48,3	23,6	30,2

Данные результаты демонстрируют, что CPP-ACP может быть сверхнагружен ионами кальция и фосфата с образованием термодинамически стабильных комплексов в метастабильном растворе.

Пример 4

Получение состава CPP-ACP и фосфата кальция

В другом примере выполняли сухое смешивание порошка Recaldent™ (CPP-ACP) с порошком СаНРО₄ при отношении CPP-ACP:СаНРО₄, равном 1:10 по массе. Этот порошок затем добавляли к составам жевательной резинки без сахара и зубной пасты в количестве 1-5% масс/об.

Пример 5

В данном примере и следующих за ним описаны варианты составов, которые включают в себя соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция; это может быть монофторфосфат кальция как таковой или соединение или композиция, которые обеспечивают монофторфосфат кальция, подвергаясь воздействию водного раствора.

В соответствии с настоящим изобретением может быть получен крем для локального применения, имеющий следующие ингредиенты:

вода,
 глицерин,
 стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР,
 соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция

5 D-сорбит,
 карбоксиметилцеллюлозу натрия (СМС-Na),
 пропиленгликоль,
 диоксид кремния,
 диоксид титана,

10 ксилит,
 фосфорную кислоту,
 фторид натрия,
 ароматизирующее вещество,
 сахарин натрия,
 15 этил-р-гидроксibenзоат,
 пропил-р-гидроксibenзоат,
 бутил-р-гидроксibenзоат.

Пример 6

В соответствии с настоящим изобретением может быть получен состав средства для
 20 полоскания рта, имеющий следующую композицию:

вода,
 спирт,
 полоксамер 407,
 лаурилсульфат натрия,
 25 стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР,
 соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция, фторид натрия,
 вкусовые ароматизирующие вещества,
 сахарин натрия,
 этил-р-гидроксibenзоат,
 30 пропил-р-гидроксibenзоат,
 бутил-р-гидроксibenзоат.

Пример 7

В соответствии с настоящим изобретением может быть получен состав жевательной
 резинки без сахара, имеющий следующую композицию:

35 кристаллизованный сорбит/маннит/ксилит,
 гуммиоснова,
 карбонат кальция,
 глицерин,
 стабилизированный комплекс АСР и/или АСФР,
 40 соединение, обеспечивающее монофторфосфат кальция,
 фторид натрия,
 ароматическое масло,
 вода.

Пример 8

45 Получение эмалевых подповерхностных повреждений и изготовление внутриротовых устройств

Здоровые, относительно плоские щечные и язычные поверхности зубов без трещин, пятен и флюорозных повреждений (которые осматривали при помощи препаровальной

лупы) отбирали из удаленных третьих моляров человека, полученных из Королевского стоматологического госпиталя Мельбурна, и обрабатывали в течение по меньшей мере двух недель в 10% фосфатно-буферном растворе (pH 7.0) формалина. Зубы трижды промывали водой Milli-Q и полировали с увлажнением до зеркальной отделки, используя диски Soflex™ (3М) на низкоскоростном противоугольном зубном наконечнике. Каждую полированную поверхность затем отпиливали от зуба в виде пластинки приблизительно 8×4 мм, используя охлаждаемую водой пилу с алмазным лезвием (Struers, Дания). Всю пластинку затем покрывали кислотостойким лаком для ногтей за исключением двух (окклюзионного и десенного) мезодистальных окон, как описано в работе Shen et al. (2001), каждая размером (1×7 мм), отделенных друг от друга расстоянием 1 мм. Подповерхностные деминерализованные повреждения создавали в эмалевых окнах погружением каждой пластинки в 40 мл неперемешанного деминерализующего буфера, содержащего 80 мл/л раствора полиакрилата Goodrite K-702 (Lubrizol Advanced Materials Inc, г. Кливленд, штат Огайо, США) (White, 1987), 500 мг/л гидроксиапатита (Bio-Gel® НТР, Bio-Rad Laboratories, г. Ричмонд, штат Калифорния) и 0,1 моль/л молочной кислоты (Ajax Chemicals, г. Оберн, штат Новый Южный Уэльс), pH 4,8 в течение 4 дней при 37°C. Спустя два дня пластинки извлекали из буфера, трижды промывали водой Milli-Q, промокали, высушивали и помещали в свежий деминерализующий буфер еще на два дня, затем снова промывали и высушивали. После деминерализации каждую эмалевую полосу распиливали по средней линии каждого окна на две полупластинки 4×4 мм и срезанную поверхность каждой полупластинки покрывали лаком для ногтей. Одну полупластинку из каждой пары оставляли в качестве контрольного образца деминерализации и хранили в маркированной микроцентрифужной пробирке объемом 1,7 мл вместе с каплей воды Milli-Q, создавая, таким образом, увлажненную среду. Другую эмалевую полупластинку пары вставляли во внутриротовое устройство, описанное ниже, с подповерхностными повреждениями эмали, открытыми, но углубленными на 1 мм ниже поверхности устройства, чтобы создать ловушку для зубного налета. Следили за тем, чтобы воск не попадал в окна. Каждую из двух пар полупластинки рандомизированно предназначали для контроля или лечения. Четыре эмалевые полупластинки помещали в каждое устройство, по две с каждой стороны в двусторонние углубления (Reynolds et al., 2003).

Съемные средненебные акриловые устройства/протезы, покрывающие небо от первого премоляра до последнего зуба в зубной дуге были получены для каждого испытуемого, как описано выше. Базис устройства удерживался во рту посредством четырех узких кольцевых кламмеров из нержавеющей стали. Устройства были выполнены с двусторонними углублениями (15 мм длиной, 7 мм шириной, 3 мм глубиной), врезанными в базис и рассчитанными на то, чтобы вмещать эмалевые пластинки. Эмалевые пластинки удерживались при помощи липкого зубного воска, как описано в работе Iijima et al. (2004) для получения 1-мм углубления над поверхностью эмали, чтобы обеспечить возможность образования и сохранения зубного налета. Устройства применяли при клинических испытаниях, как показано ниже на Фиг. 1.

Пример 9

Получение составов CPP-ACP и монофторфосфата кальция

Далее объясняются препараты и обозначения, используемые в таблицах 3 и 4 и на Фиг. 2, приведенных ниже. Препарат, применяемый в этих исследованиях, был получен на основе состава для композиции Tooth Mousse (ТМ), содержащей 10% CPP-ACP при pH 7,0. Например, как показано в таблице 3, ТМ 1450 MFP представляет собой состав Tooth Mousse, содержащий 10% CPP-ACP при pH 7,0, модифицированный таким образом,

чтобы он не содержал какого-либо другого фторидсодержащего соединения, за исключением монофторфосфата кальция при 1450 ppm F. Иными словами, MFP относится к монофторфосфату кальция в количестве 1450 ppm F. Монофторфосфат кальция образовывали путем добавления 76,3 мкмоль двунатриевого монофторфосфата на г вместе с 80,0 мкмоль хлористого кальция (CaCl_2) на г при pH 7,0 и тщательно смешивали для получения монофторфосфата кальция. Для получения монофторфосфата кальция могут использоваться и другие источники монофторфосфата, например, такие как описаны в настоящей заявке, и другие источники кальция, например, такие как описаны в настоящей заявке. Монофторфосфат кальция также может быть образован при другом pH, например, от 4,0 до 9,0, предпочтительно от 5,0 до 7,0, еще более предпочтительно около 7,0. Кроме того, как показывает, например, MFP 1450 в таблице 3, состав Tooth Mousse модифицирован таким образом, что не содержит CPP-ACP и не содержит какое-либо другое фторидсодержащее соединение, за исключением монофторфосфата кальция.

Пример 10

Клиническое исследование представляло собой двойное слепое рандомизированное контролируемое перекрестное испытание *in situ* для оценки способности экспериментальных составов реминерализировать эмалевые подповерхностные повреждения.

Одобрение для исследования получено от Комитета по этике исследований человека при Мельбурнском университете. Исследование проводилось в Мельбурне, Австралия. Двадцать здоровых участников (6 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 30 до 50 лет были приглашены для проведения исследования и предоставили свое информированное согласие. Минимальное количество участников, необходимое для проведения исследования, было определено на основе наших предшествующих исследований, использующих модель *in situ* и перекрестный дизайн (Cai et al., 2009; Walker et al., 2010). Все участники имели по меньшей мере 22 естественных зуба без текущего кариесного процесса, периодонтального заболевания или другой патологии полости рта, и ни один из них не принимал антибиотики или лекарственные средства, которые могли бы оказывать влияние на скорость слюноотделения. Слюну (нестимулированную) собирали у каждого участника, который наклонял голову, позволяя слюне стекать в предварительно взвешенную пробирку объемом 15 мл в течение двух минут. Слюну стимулировали при помощи жевательной резинки без сахара в течение двух минут и собирали в течение такого же периода времени, что и в случае нестимулированной слюны. Объем слюны определяли путем измерения веса.

Продукты рандомизировали с получением закодированных вариантов лечения/лечебных процедур. Один исследователь генерировал последовательность случайного распределения участников, включал участников в исследование и ставил участников в соответствие с закодированными продуктами. Рандомизационный код хранили независимо от участников и исследователей. Каждый день перед лечением подготавливали свежую водную суспензию продукта (1 г продукта плюс 4 мл дистиллированной, деионизированной воды, перемешиваемых вихревым способом в течение 5 минут) в закодированной пластмассовой пробирке. Каждый участник со вставленным устройством полоскал рот 5 мл суспензии в течение 60 секунд. Эта процедура выполнялась 4 раза в день в течение 10 дней в следующее время: 10:00 утра, 11:30 утра, 2:00 после полудня и 3:30 после полудня. Участникам рекомендовали снимать устройства перед едой и питьем и выполнением процедур гигиены полости рта. Снятые устройства хранили в герметически закрытом, влажном пластиковом пакете при комнатной температуре. Участникам рекомендовали не снимать устройства в течение

по меньшей мере одного часа после каждой лечебной процедуры. Участникам рекомендовали не есть и не пить ничего, кроме воды, при ношении устройств. Устройства очищали только дистиллированной водой, но не поверх вставных эмалевых пластинок. Участники переходили к каждому из других вариантов лечения после по меньшей мере 5 недельного периода отмытки. Участники вели дневник применения продукта. В диету участников и гигиенические процедуры полости рта не вносили никаких изменений в течение всего периода исследования. В ходе исследования участники получали 1000 ppm F (NaF) зубной пасты Colgate и зубную щетку Colgate для выполнения обычных гигиенических процедур полости рта, но не использовали никаких фторидных продуктов 10 за исключением исследуемых продуктов. После каждого периода лечения эмалевые пластинки извлекали из устройств, промывали водой Milli-Q и хранили в увлажненной среде до проведения анализа.

Пример 11

Изготовление срезов и микрорадиография

15 Реминерализованную эмалевую полупластинку помещали вместе с ее деминерализованной контрольной полупластинкой в свеженалитую прозрачную отверждающуюся на холоде метакрилатную смолу (Paladur, Heraeus Kulzer, Германия) с расположенными параллельно окнами повреждений (Iijima et al., 2004). Пробирку со смолой помещали в верхнем углу, чтобы идентифицировать тестируемый и контрольный 20 блоки, и оставляли смолу для застывания при комнатной температуре на ночь. Срезы толщиной приблизительно 200 мкм вырезали из залитых блоков перпендикулярно поверхности повреждения по средней линии повреждений при помощи микротомы с внутренним визуальным контролем кольцевого пространства (Leica 1600, Leica, Германия). Затем срезы шлифовали до 80 плюс/минус 5 мкм с использованием 25 шлифовально-полировального инструмента RotoPol-21/RotoForce4 (Struers, Дания) при помощи шлифовальной бумаги с зерном 1200 и 2400. Каждый срез, содержащий реминерализованное повреждение и деминерализованное контрольное повреждение из одной и той же эмалевой пластинки, радиографировали вместе с алюминиевым ступенчатым клином с шагами приращения толщиной 10×14 мкм, используя стеклянные 30 пластинки высокого разрешения Microchrome (тип 1A, Microchrome, США) и рентгеновское К-излучение меди с фильтрацией посредством никелевой фольги при анодном напряжении 20 кВ и токе разряда 10 мА в течение 6 минут. Применявшийся рентгенографический аппарат был описан ранее в работе Malcolm (1972). Каждую стеклянную пластинку проявляли в проявителе Microchrome Developer D5 (степень 35 разбавления 1:4, Microchrome, США) в течение 4 минут, помещали в стоп-ванну с ледяной уксусной кислотой на 30 секунд, а затем закрепляли в фиксаторе Microchrome Fixer F4 (степень разбавления 1:4, Microchrome, США) в течение 4 минут.

Микроденситометрия

Рентгенограммы повреждений просматривали в проходящем свете под микроскопом 40 Dialux 22 (Ernst Leitz Wetzlar, Германия). Изображения получали с помощью цифровой фотокамеры (Spot Insight, Diagnostic Instruments, Inc., штат Мичиган, США) и анализировали, используя компьютерную программу обработки изображений Optimas, версия 5.2. Изображения повреждений и соседних участков здоровой эмали сканировали, используя функцию спектральной световой эффективности линий по программе, которая 45 дает показания насыщенности серого в диапазоне от 0 до 256. Для анализа выбрали область, свободную от артефактов и трещин. Каждое сканирование включало 200 показаний, снятых с поверхности зуба по всему повреждению до здоровой эмали. Сканировали изображение алюминиевого ступенчатого клина на каждом слайде и

выстраивали график усредненных показаний насыщенности серого по ступеням в зависимости от толщины алюминия. Считываемые показания изображения зубного среза лежали в пределах линейной части кривой ступенчатого клина, при этом для преобразования данных насыщенности серого в значения эквивалентной толщины алюминия применяли метод линейной регрессии. Измеряли толщину среза и вычисляли объемное процентное содержание минералов с использованием уравнения Ангмара (Angmar, 1963) и коэффициентов линейного поглощения алюминия, органического вещества плюс воды и апатитного минерала (131,5, 11,3 и 260,5 соответственно). Изображение срединной здоровой эмали между двумя повреждениями (десенным и окклюзионным) сканировали шесть раз и усредняли, чтобы получить контрольный денситометрический профиль здоровой эмали. Изображения повреждения (окна реминерализации и контрольные окна деминерализации) на десневой и окклюзионной стороне срединной здоровой эмали сканировали аналогичным образом шесть раз как можно ближе к срединной полоске, но избегая любых неровностей, обычно обнаруживаемых на краях повреждений. Усредняли значения для нескольких сканов и вычисляли профили объемного процентного содержания минералов. Эти измерения повторяли для четырех эмалевых блоков, использовавшихся каждым участником для каждой лечебной процедуры, а затем усредняли для получения единственного значения для каждого участника и лечебной процедуры.

Пример 12

Анализ данных реминерализации

Профиль процентного содержания минералов деминерализованного и реминерализованного повреждения каждого эмалевого блока сравнивали с профилем процентного содержания минералов срединной эмали того же среза. Разность между площадями под денситометрическим профилем деминерализованного повреждения и срединной здоровой эмали, вычисляемая методом графического интегрирования методом трапеций, представлена как ΔZ_d . Разность между площадями под денситометрическим профилем реминерализованного повреждения и срединной здоровой эмали, вычисляемая методом графического интегрирования методом трапеций, представлена как ΔZ_r . Эти параметры затем преобразовывали в величины процентного изменения после реминерализации, таким образом, процент реминерализации (% R) представляет процентное изменение в величинах ΔZ : $\%R = (\Delta Z_d - \Delta Z_r) / \Delta Z_d \times 100$.

Первичным критерием эффективности служил процентный рост содержания минералов (%R). Его сравнивали по всем лечебным процедурам с использованием модели дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA) с коэффициентами для последовательности лечения, периода лечения и типа лечения (Jones and Kenward, 2003). Вторичным критерием эффективности служили концентрации кальция, неорганического фосфата и фторида в слюне после полоскания рта продуктом, которые сравнивали по всем лечебным продуктам с использованием моделей дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA) с коэффициентами для последовательности лечения, периода лечения и типа лечения. Апостериорные множественные сравнения различий между методами лечения выполняли по взвешенным средним, используя поправку Сидака на множественные сравнения (SPSS, 2008). Предположения ANOVA проверяли, используя графики остаточной и нормальной вероятности. Единицей анализа являлся участник. Критерии эффективности определяли и итоговые значения усредняли по участникам и периодам лечения, р-значения (значения вероятности), меньшие 0,05, рассматривали в качестве статистически значимых. Все анализы проводили при помощи статистического программного обеспечения SPSS (версия 17, SPSS Inc, г. Чикаго, штат

Иллинойс, США) или Stata (версия 10, Stata Corp LP, г. Колледж-Стейшн, штат Техас, США).

Пробы после полоскания рта в ходе клинического испытания, описанного в примере 10, подвергали центрифугированию при 1000 г в течение 15 минут. Пробы надосадочной жидкости разбавляли дистиллированной/ деионизированной водой и окисляли 0,01 N HNO₃, тщательно перемешанной и перемещенной в шприц объемом 10 мл, оснащенный фильтром 0,2 мкм (Minisart, г. Сарториус, штат Виктория, Австралия). Результаты приведены в таблице 5.

Пример 13 Анализ продукта

Уровни общего (кислотнорастворимого) кальция, фосфата и фторида определяли путем добавления 1 г продукта к 19 мл 1N HNO₃ в микроцентрифужной пробирке объемом 50 мл и смешивали за ночь. Эту суспензию дополнительно разбавляли 0,01 N HNO₃ по мере необходимости и анализировали на содержание ионов при помощи ионного хроматографа после центрифугирования и фильтрации, как описано ниже.

Уровни водорастворимого кальция, фосфата и фторида определяли путем добавления 1 г продукта к 19 мл деионизированной воды в микроцентрифужной пробирке объемом 50 мл и смешивали за ночь. Пробу затем центрифугировали при 1000 г в течение 15 минут при комнатной температуре. Пробу надосадочной жидкости добавляли к равному объему 0,01 N HNO₃ и фильтровали через фильтр 0,2 мкм.

Фильтраты затем анализировали на содержание неорганических ионов (кальция, неорганического фосфата и фторида) при помощи атомно-абсорбционного спектрометра или автоматического ионного хроматографа (Dionex Corporation, штат Калифорния, США), оборудованного двумя колонками для анализа катионов (IonPac CS12) и анионов (IonPac AS18) с использованием двух детекторов по проводимости (ICS 3000).

Для калибровки прибора применяли комбинированный 7-анионный стандарт и комбинированный 7-катионный стандарт

Таблица 3. Содержание растворимого и общего кальция, неорганического фосфата и фторида в продуктах эксперимента

Продукт	мкмоль/г пасты		
	Ca	Pi	Фторид
F 1450 (растворимый)	н.о.	н.о.	69,37 ± 1,32
F 1450 (общий)	н.о.	н.о.	73,07 ± 1,36
MFP 1450 (растворимый)	80*	н.о.	70,08 ± 4,94
MFP 1450 (общий)	80*	н.о.	68,95 ± 0,80
TM 1450 NaF (растворимый)	405,63 ± 16,76	180,61 ± 4,86	67,47 ± 1,08
TM 1450 NaF (общий)	413,48 ± 14,30	210,18 ± 8,49	72,16 ± 3,04
TM 1450 MFP (растворимый)	418,55 ± 20,32	180,81 ± 12,08	68,24 ± 3,87
TM 1450 MFP (общий)	483,49 ± 28,20	244,35 ± 2,04	67,60 ± 1,55

н.о. - не обнаруженный в условиях испытаний

* - приблизительно

Пример 14

Результат клинического испытания

Результаты клинического испытания представлены в таблице 4, таблице 5 и на Фиг. 2. Эти результаты показывают, что продукты (т.е. Tooth Mousse (TM) (пенка для зубов), содержащие монофторфосфат кальция (CaMFP), были значительно лучше (уровень значимости по методу дисперсионного анализа повторных измерений: $p < 0,05$), чем содержащие фторид натрия при той же концентрации фторидов ((1450 ppm F) при реминерализации эмали подповерхностных повреждений in situ.

Среднюю и среднеквадратическую ошибку для LDd, LDr, LDd-LDr, ΔZ_d , $\Delta Z_d - \Delta Z_r$ и процента реминерализации (%R) измеряли отдельно для верхнего и нижнего устройства для каждой лечебной процедуры и для всех комбинированных лечебных процедур. Различия между параметрами для двух устройств (Фиг. 1) анализировали, используя парные t-критерии, за исключением помеченных знаком *, где использовались критерии суммы знаковых рангов Уилкоксона с поправкой по методу Бонферрони. По каждому параметру не было различий между верхним и нижним устройством ($p > 0,05$).

Таблица 4. Реминерализация эмалевых подповерхностных повреждений *in situ* фторидом натрия (NaF) или монофторфосфатом кальция (CaMFP) с CPP-ACP и без него

Вариант лечения	Устройство	LDd	LDr	LDd-LDr	ΔZd	$\Delta Zd - \Delta Zr$	% реминерализации
1450 ppm F в виде NaF	Верхнее	103,55 ± 3,86	101,59 ± 3,71	1,97 ± 1,23	2728,90 ± 204,64	290,73 ± 17,17	10,76 ± 0,26*
	Нижнее	109,10 ± 2,97	103,46 ± 2,41	5,64 ± 1,47	3002,24 ± 130,46	306,33 ± 16,32	10,19 ± 0,22*
1450 ppm F в виде NaF плюс CPP-ACP (TM NaF)	Верхнее	121,26 ± 1,90	102,21 ± 1,94*	19,05 ± 1,29	3587,25 ± 156,96	1146,46 ± 55,51	31,92 ± 0,38
	Нижнее	120,16 ± 3,14	100,35 ± 1,85*	19,81 ± 1,47	3443,09 ± 138,22	1104,28 ± 48,21	32,04 ± 0,19
1450 ppm F в виде CaMFP	Верхнее	115,05 ± 2,60	111,44 ± 2,39	3,61 ± 1,13	3035,93 ± 151,79	377,06 ± 19,54	12,44 ± 0,30
	Нижнее	114,57 ± 1,99	108,20 ± 1,78	6,37 ± 0,85	3297,01 ± 99,45	420,86 ± 15,28	12,77 ± 0,30
1450 ppm F в виде CaMFP плюс 10% CPP-ACP	Верхнее	116,64 ± 2,28	98,02 ± 2,21	18,62 ± 1,98	3102,27 ± 100,68	1078,14 ± 27,47	34,83 ± 0,63
	Нижнее	120,08 ± 3,37	100,73 ± 2,46	19,35 ± 2,03	3267,39 ± 163,61	1136,16 ± 59,99	34,75 ± 0,23

Таблица 5. Содержание кальция, неорганического фосфата, фторида и монофторфосфата в слюне после полоскания для пастообразных продуктов, подвергавшихся испытаниям *in situ*

Продукт	Ca (мкмоль/мл)	Pi (мкмоль/мл)	F ⁻ (ppm)	MFP (ppm)	Общий (F+MFP) (ppm)
F 1450 (NaF)	2,90 ± 1,52	1,01 ± 0,48	151,11 ± 12,79	н.о.	151,11 ± 12,79
MFP 1450 (CaMFP)	0,73 ± 0,45	1,32 ± 0,53	11,87 ± 3,32	180,22 ± 20,07	192,08 ± 20,08

н.о. - не обнаруженный в условиях испытаний

Результаты, приведенные в таблице 5, показывают, что монофторфосфат, присутствующий в продуктах, такой как монофторфосфат кальция, оставался в виде монофторфосфата в ротовой полости, тогда как фторид натрия полностью диссоциировал с образованием свободных ионов фторида в ротовой полости испытуемых. Конкретно, в слюне после полоскания лиц, использовавших продукт Tooth Mousse, содержащий монофторфосфат кальция, почти весь монофторфосфат оставался в виде монофторфосфата без растворения с образованием свободных ионов фторида (т.е. 192,08±20,08 ppm фторида обнаружено в продукте, 180,22±20,07 ppm монофторфосфата было обнаружено в слюне после полоскания).

ССЫЛОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Reynolds EC (1998). Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. Spec Care Dentist 18:8-16.

- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 80:2066-70.

- Angmar B, Carlstrom D, Glas JE (1963). Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res* 8:12-23.

- Cai F, Shen P, Walker GD, Reynolds C, Yuan Y, Reynolds EC (2009). Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *J Dent* 37:763-768.

- Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC (2004). Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 38:551-556.

- Jones B, Kenward MG (2003). Design and analysis of cross-over trials. 2nd ed. Boca Raton, Florida, USA: Chapman and Hall/CRC.

- Malcolm AS (1972). A microradiographic apparatus. *Aust Dent J* 17:454-460.

- Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD (2003). Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 82:206-211.

- SPSS (2008). Statistics Base 17.0 User's Guide Chicago, Illinois, USA: SPSS Inc.

- Walker GD, Cai F, Shen P, Adams GG, Reynolds C, Reynolds EC (2010). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. *Caries Res* 44:33-40.

- White DJ (1987). Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res* 21:228-242.

(57) Формула изобретения

1. Композиция для минерализации зубной поверхности или подповерхности, содержащая монофторфосфат кальция и минерализующее вещество, отличающаяся тем, что минерализующее вещество представляет собой стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР), и монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 200 ppm до приблизительно 5000 ppm F (миллионных долей фторида).

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 400 ppm до приблизительно 1500 ppm F.

3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 1000 ppm до приблизительно 1450 ppm F.

4. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что композицию выбирают из группы, состоящей из зубной пасты, зубного порошка, жидкого средства для чистки зубов, жидкости для промывания рта, жидкости для полоскания рта, средства для орошения полости рта, лака, зубного цемента, пастилки, жевательной резинки, таблетки для рассасывания, дентальной пасты, массажного крема для десен, таблетки для полоскания, молочного продукта и других продуктов питания.

5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что композиция представляет собой зубную пасту.

6. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что композиция представляет собой лак.

7. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что композиция представляет собой зубной цемент.

8. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что композиция представляет собой жидкость для промывания рта.

9. Композиция по любому из пп. 1–8 для применения домашним животным,

животным-компаньонам или животным из зоопарка.

10. Способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий в себя контактирование зубной поверхности или подповерхности с монофторфосфатом кальция и минерализующим веществом, отличающийся тем, что минерализующее
5 вещество представляет собой стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР), и монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 200 ppm до приблизительно 5000 ppm F.

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 400 ppm до приблизительно 1500 ppm F.

10 12. Способ по п. 10, отличающийся тем, что монофторфосфат кальция присутствует в количестве от приблизительно 1000 ppm до приблизительно 1450 ppm F.

13. Способ по п. 10, отличающийся тем, что монофторфосфат кальция обеспечивается в композиции и присутствует в композиции до ее введения в ротовую полость.

14. Способ по п. 10, отличающийся тем, что зубная поверхность представляет собой
15 зубную эмаль.

15. Способ по п. 10, отличающийся тем, что зубная поверхность представляет собой повреждение эмали, вызванное кариесом, эрозией зубов или флюорозом.

16. Способ по п. 10, отличающийся тем, что минерализующее вещество представляет собой стабилизированный казеиновым фосфопептидом аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид фосфата кальция (АСФР).
20

17. Способ по любому из пп. 10–16, отличающийся тем, что зубная поверхность или подповерхность принадлежит домашнему животному, животному-компаньону или животному из зоопарка.

25

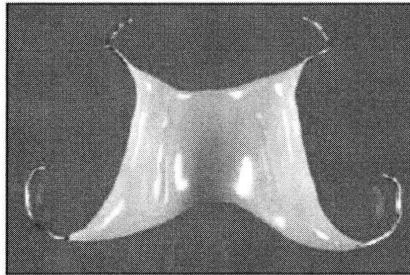
30

35

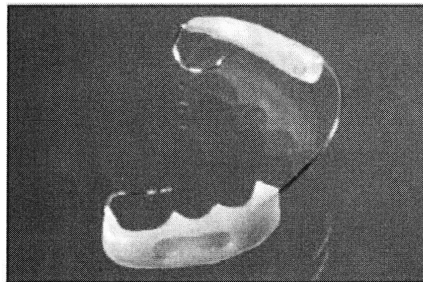
40

45

1



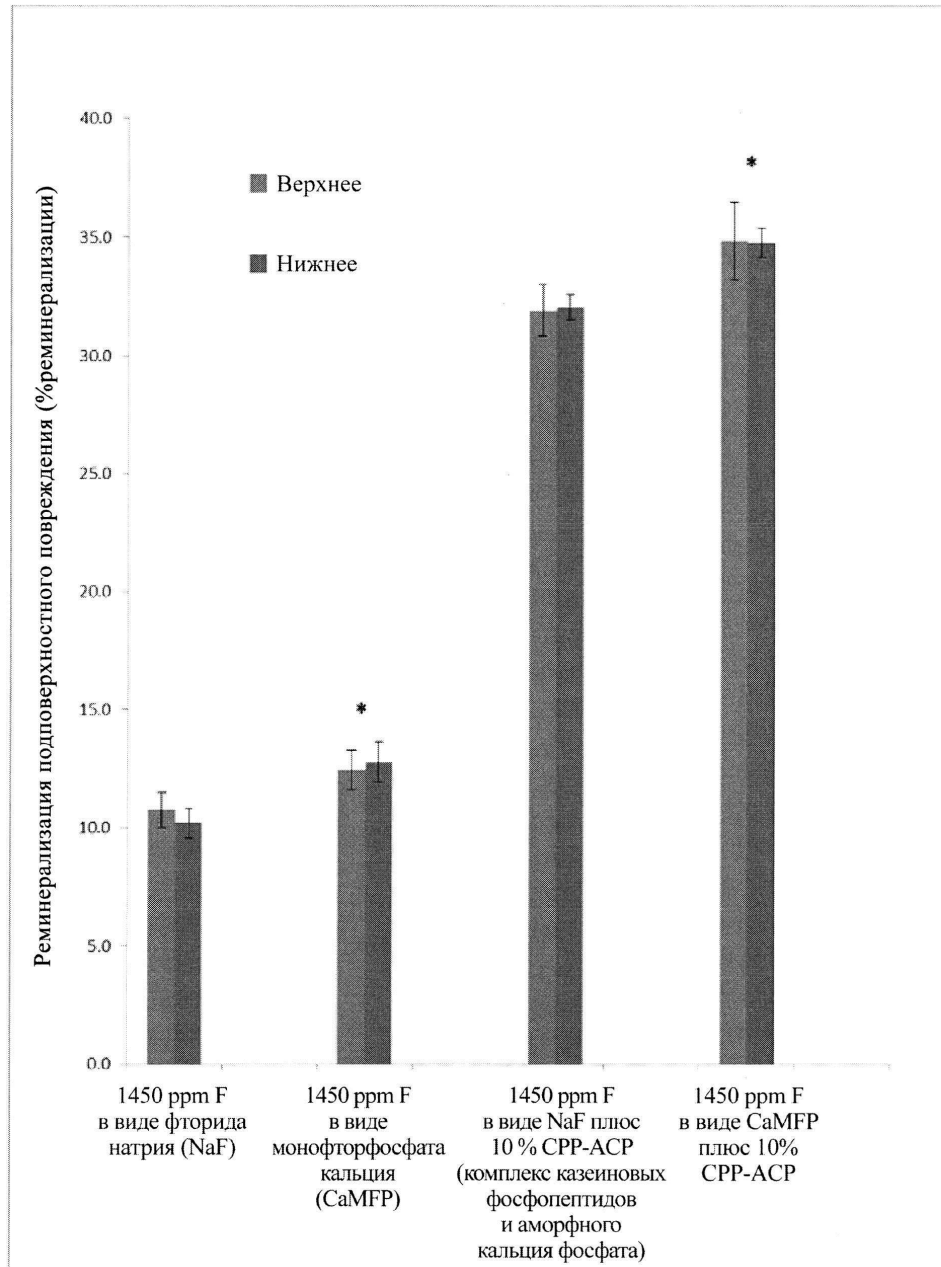
Верхнее устройство



Нижнее устройство

ФИГ. 1

2



ФИГ. 2