



(51) МПК
A61K 31/215 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)
A61K 8/37 (2006.01)
A61K 8/99 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/215 (2018.08); A61P 1/02 (2018.08); A61K 8/37 (2018.08); A61K 8/99 (2018.08); A61Q 11/00 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2016125546, 27.12.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.12.2013

Дата регистрации:
27.11.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.12.2013

(43) Дата публикации заявки: 01.02.2018 Бюл. № 4

(45) Опубликовано: 27.11.2018 Бюл. № 33

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 27.07.2016

(86) Заявка РСТ:
US 2013/077923 (27.12.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/099754 (02.07.2015)

Адрес для переписки:
107061, Москва, Преображенская площадь, 6,
ООО "Вахнина и Партнеры"

(72) Автор(ы):

СТЕТТЛЕР Ханс (US),
ТЕГХЕЛ Уим (BE),
КВАЙРИНЕН Марк (BE),
БУН Нико (BE)

(73) Патентообладатель(и):

КОЛГЕЙТ-ПАЛМОЛИВ КОМПАНИ (US),
КАТОЛИКИ ЮНИВЕРСИТЕЙТ ЛЁВЕН (BE),
ЮНИВЕРСИТЕЙТ ГЕНТ (BE)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2009/005379 A1, 08.01.2009. US 2009/0202450 A1, 13.08.2009. GB 2440440 A, 30.01.2008. EP 2623090 A1, 07.08.2013. RU 2473347 C1, 27.01.2013. RU 2476890 C2, 27.02.2013. KR 2009/0046629 A, 11.05.2009. БЕЛИКОВ В.Г. Фармацевтическая химия. Ч.1, М., Высшая школа, 1993, с. 43-47.

(54) ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ УХОДА ЗА ПОЛОСТЬЮ РТА, СОДЕРЖАЩИЕ КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области применения композиций для ухода за полостью рта для предупреждения заболеваний в ротовой полости. Предлагается применение композиции для ухода за полостью рта, содержащей карбоновую кислоту, где кислота представляет собой монометилсукцинат, для предупреждения одного или нескольких заболеваний пародонта, выбранных из группы, состоящей из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего

гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса. Также предлагается способ предупреждения одного или более заболеваний пародонта, выбранных из группы, состоящей из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта, причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта, содержащей эффективное количество карбоновой

кислоты, где карбоновая кислота представляет собой монометилсукцинат. Показано, что монометилсукцинат обладает пребиотическим действием, что позволяет использовать композиции, содержащие монометилсукцинат,

для поддержания и/или восстановления здоровой микробиоты полости рта и профилактики вышеуказанных заболеваний. 2 н. и 5 з.п. ф-лы, 8 табл., 3 пр.

R U 2 6 7 3 4 7 3 C 2

R U 2 6 7 3 4 7 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/215 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)
A61K 8/37 (2006.01)
A61K 8/99 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 31/215 (2018.08); A61P 1/02 (2018.08); A61K 8/37 (2018.08); A61K 8/99 (2018.08); A61Q 11/00 (2018.08)

(21)(22) Application: **2016125546, 27.12.2013**(24) Effective date for property rights:
27.12.2013Registration date:
27.11.2018

Priority:

(22) Date of filing: **27.12.2013**(43) Application published: **01.02.2018** Bull. № 4(45) Date of publication: **27.11.2018** Bull. № 33(85) Commencement of national phase: **27.07.2016**(86) PCT application:
US 2013/077923 (27.12.2013)(87) PCT publication:
WO 2015/099754 (02.07.2015)Mail address:
**107061, Moskva, Preobrazhenskaya ploshchad, 6,
OOO "Vakhnina i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**STETTLER Hans (US),
TEUGHELIS Wim (BE),
QUIRYNEN Marc (BE),
BOON Nico (BE)**

(73) Proprietor(s):

**COLGATE-PALMOLIVE COMPANY (US),
KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN
(BE),
UNIVERSITEIT GENT (BE)**

(54) **PREBIOTIC ORAL CARE COMPOSITIONS CONTAINING CARBOXYLIC ACIDS**

(57) Abstract:

FIELD: hygiene.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the field of use of oral care compositions to prevent diseases in the oral cavity. Disclosed is use of oral care compositions containing carboxylic acid, where said acid is monomethyl succinate, for the prevention of one or more periodontal diseases selected from the group consisting of gingivitis, periodontitis, peri-implantitis, peri-implant mucositis, necrotising gingivitis, necrotising periodontitis and caries. Also disclosed is a method of preventing one or more periodontal diseases selected from the group consisting of gingivitis, periodontitis, peri-implantitis, peri-implant mucositis,

necrotising gingivitis, necrotising periodontitis and caries in a subject, wherein the method includes bringing the oral cavity of the subject into contact with an oral care composition comprising an effective amount of a carboxylic acid, wherein the carboxylic acid is monomethyl succinate.

EFFECT: monomethyl succinate has been shown to have a prebiotic effect, which allows the use of compositions containing monomethyl succinate to maintain and/or restore a healthy oral microbiota and prevent the above diseases.

7 cl, 8 tbl, 3 ex

C 2
2 6 7 3 4 7 3
R U

R U
2 6 7 3 4 7 3
C 2

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

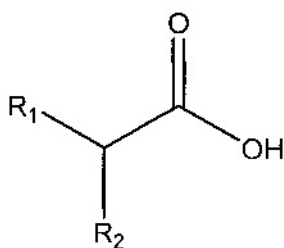
[1] Ротовая полость содержит множество различных видов бактерий. Некоторые виды патогенных бактерий в полости рта (например, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) принимают участие в развитии заболеваний пародонта, таких как пародонтит, гингивит, некротизирующий пародонтит, некротизирующий гингивит и пери-имплантит. Некоторые виды патогенных бактерий полости рта связаны с кариесом зубов (например, *Streptococcus mutans*).

[2] Считается, что некоторые виды бактерий полости рта способствуют сохранению здоровья пародонта. Без связи с какой-либо теорией, считают, что такие полезные бактерии полости рта могут препятствовать колонизации патогенными бактериями полости рта эпителиальной полости рта. Например, исследования показали, что *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* и *Streptococcus salivarius* оказывают подавляющее влияние на колонизацию *A. actinomycetemcomitans* эпителиальных клеток *in vitro* (W. Teughels et al., J Dent Res 86(7), 611-617, 2007). Кроме того, с применением модели на собаках показано, что внесение полезных бактерий в карманы пародонта после выравнивания поверхности корней зуба замедляет и снижает повторную колонизацию карманов пародонта патогенными бактериями (W. Teughels, et al., J Dent Res, 86(11), 1078-1082, 2007). Полезные бактерии *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* и *Streptococcus salivarius* дополнительно продемонстрировали подавление индуцированной *A. actinomycetemcomitans* выработки воспалительного цитокина интерлейкина-8 (IL-8) клеточной линией кератиноцитов полости рта человека НОК-18А, притом, что данная воспалительная реакция вовлечена в связанное с пародонтитом разрушение ткани (I. Sliepen et al., J Dent Res 88(11), 1026-1030, 2009).

[3] Считается, что избирательная стимуляция полезных бактерий полости рта может предложить действенный превентивный подход для поддержания здоровья полости рта, например, с точки зрения предотвращения пародонтита.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[4] В первом аспекте настоящего изобретения предлагается композиция для ухода за полостью рта, содержащая карбоновую кислоту формулы:



где:

R_1 представляет собой H или замещенную или незамещенную алкильную группу; и

R_2 представляет собой H, OH или NH_2 ;

для применения в:

(а) избирательном содействии в полости рта: росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта;

(б) избирательном содействии в полости рта образованию биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта; или

(с) поддержании и/или восстановлении здоровой микробиоты полости рта.

[5] Необязательно, карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 0,01% масс. до 10% масс. в пересчете на массу композиции для ухода за полостью рта.

[6] Необязательно, карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 5 мкмоль/мл до 30 мкмоль/мл в пересчете на объем композиции для ухода за полостью рта.

[7] Необязательно, R_2 представляет собой H.

[8] Необязательно, R_2 представляет собой OH.

[9] Необязательно, R_2 представляет собой NH_2 .

[10] Необязательно, карбоновая кислота является кислой аминокислотой. Кроме того, кислая аминокислота необязательно является L-аминокислотой. Дополнительно, кислая аминокислота необязательно является аспарагиновой кислотой или глутаминовой кислотой.

[11] Необязательно, R_1 представляет собой H.

[12] Необязательно, R_1 представляет собой незамещенную алкильную группу. Кроме того, R_1 необязательно является незамещенной C_1 - C_4 алкильной группой.

Дополнительно, карбоновая кислота необязательно является L-молочной кислотой.

[13] Необязательно, R_1 содержит остаток сахара. Кроме того, остаток сахара необязательно представляет собой остаток галактопиранозы. Дополнительно, остаток галактопиранозы необязательно является остатком α -D-галактопиранозы. Еще дополнительно, карбоновая кислота необязательно является мелибионовой кислотой.

[14] Необязательно, содержит по меньшей мере одну группу $COOR_3$, где R_3 представляет собой H или C_{1-4} алкил.

[15] Необязательно, R_1 содержит по меньшей мере одну группу $C(O)COOH$.

[16] Необязательно, R_1 представляет собой $(CH_2)_nCOOR_3$, где n равно от 1 до 5. Кроме того, n необязательно равно 1. Дополнительно, карбоновая кислота необязательно является янтарной кислотой или L-яблочной кислотой.

[17] Необязательно, карбоновая кислота является монометилсукцинатом.

[18] Необязательно, R_1 представляет собой $(CH_2)_mC(O)COOH$, где m равно от 1 до 4. Дополнительно, карбоновая кислота необязательно является α -кетоглутаровой кислотой.

[19] Необязательно, R_1 содержит две группы $COOH$. Дополнительно, карбоновая кислота необязательно является лимонной кислотой.

[20] Необязательно, композиция представляет собой средство для ухода за зубами, зубную пасту, гель, зубной порошок, ополаскиватель для полости рта, средство для полоскания рта, леденец, таблетку, спрей, жевательную резинку или пленку.

[21] Необязательно, композиция дополнительно содержит по меньшей мере один вид бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта. Дополнительно, вид бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, необязательно выбран из *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и их комбинаций.

[22] Необязательно, композиция для ухода за полостью рта предназначена для применения при предупреждении одного или более из гингивита, пародонтита, периимплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита,

некротизирующего пародонтита и кариеса.

[23] Во втором аспекте настоящего изобретения предлагается способ избирательного содействия в полости рта субъекта:

(a) росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта; или

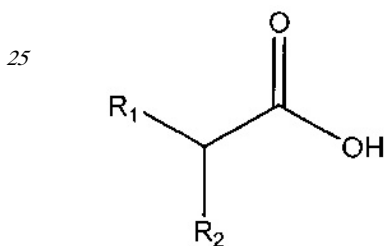
(b) образование биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта;

причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по настоящему изобретению.

[24] В третьем аспекте настоящего изобретения предлагается способ поддержания и/или восстановления здоровой микробиоты полости рта у субъекта, причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по настоящему изобретению.

[25] В четвертом аспекте настоящего изобретения предлагается способ предупреждения одного или более из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта, причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по настоящему изобретению.

[26] В пятом аспекте настоящего изобретения предлагается применение в композиции для ухода за полостью рта карбоновой кислоты формулы:



где:

R_1 представляет собой H или замещенную или незамещенную алкильную группу; и

R_2 представляет собой H, OH или NH_2 ;

для:

(a) избирательного содействия росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта;

(b) избирательного содействия образованию биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта;

(c) поддержания и/или восстановления здоровой микробиоты полости рта у субъекта; или

(d) предупреждения одного или более из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта.

[27] Необязательно, карбоновая кислота избирательно содействует росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают

благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта, после инкубации на протяжении 24 часов с бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, и патогенными бактериями полости рта.

[28] Необязательно, карбоновая кислота избирательно содействует росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта, после инкубации 48 часов с бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, и патогенными бактериями полости рта.

[29] Другие области применения настоящего изобретения станут очевидными из подробного описания, приведено ниже. Необходимо понимать, что подробное описание и конкретные примеры, при указании предпочтительного варианта реализации изобретения, предназначены только для целей иллюстрации и не ограничивают объема изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[30] Следующее описание предпочтительного(ых) варианта(ов) реализации изобретения по своей природе является только примером, и никоим образом не ограничивает изобретение, заявку на изобретение или применение.

[31] В настоящем описании применяются диапазоны в качестве краткого обозначения для описания всех и каждого значений, которые находятся в пределах диапазона. Любое значение в пределах диапазона может быть выбрано в качестве конечной точки диапазона. Кроме того, все ссылки, цитируемые в данном описании, таким образом включены посредством ссылки в полном объеме. В случае конфликта определений из данного описания и цитируемой ссылки, преобладает данное описание.

[32] Если не определено иное, все проценты и количества, выраженные здесь и в любом другом месте данного документа в описании, необходимо понимать, как обозначающие проценты по массе. Приведены количества в пересчете на активную массу материала.

[33] В данном описании выражение «полость рта» включает не только непосредственно полость, но и слюну, зубы, десну, карманы пародонта, щеки, язык, слизистую оболочку, миндалины, любые имплантаты и любое устройство или конструкцию, размещенные в полости рта. Миндалины обеспечивают резервуар (гнойные пробки) для роста анаэробных бактерий, которые могут вызывать неприятный запах изо рта.

[34] В данном описании выражение «здоровая микробиота полости рта» обозначает микробную популяцию полости рта, когда отсутствуют патологические процессы в полости (например, когда отсутствует заболевание пародонта, такое как гингивит, пародонтит, кариес, пери-имплантит, пери-имплантный мукозит, некротизирующий гингивит и/или некротизирующий пародонтит), т.е. ассоциирующую со здоровьем макробиоту полости рта.

[35] Термин «полезные бактерии» включает такие бактерии, которые присутствуют в полости рта в большем количестве или пропорции в здоровой полости рта, но которые присутствуют в меньшем количестве или пропорции при патологическом состоянии полости рта (например, таком как гингивит, пародонтит, кариес, пери-имплантит, пери-имплантный мукозит, некротизирующий гингивит и некротизирующий пародонтит). Данный термин дополнительно включает бактерии орального или неорального

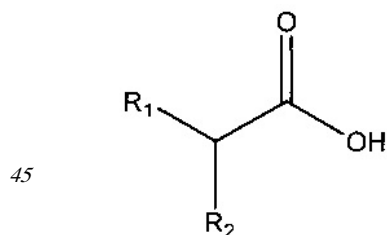
происхождения, которые доказали свое благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта путем предупреждения или лечения заболеваний полости рта, причем такие бактерии могут уже присутствовать в полости рта или могут быть намеренно внесены в полость рта (например, как пробиотики). Полезные бактерии могут, своим присутствием или метаболической активностью, приводить к: уменьшению количества или пропорции патогенных бактерий полости рта; уменьшению воспаления и воспалительных процессов; снижению метаболической активности патогенных видов; уменьшению выработки или ингибированию факторов вирулентности, вырабатываемых патогенными бактериями; уменьшению или предупреждению образования биопленки; занятию ниши, которая в других обстоятельствах может быть колонизирована патогенами; ограничению способности патогена прикрепляться к поверхностям полости рта; нарушению жизнеспособности, метаболической активности или роста патогена; снижению способности патогена к выработке факторов вирулентности; разложению факторов вирулентности, продуцированных патогеном или макробиотой полости рта; и/или смягчению реакции хозяина на патогенные виды. Как обсуждалось выше, считается, что такие полезные бактерии полости рта могут мешать колонизации эпителия полости рта патогенными бактериями полости рта. Считается, что избирательная стимуляция полезных бактерий полости рта может предлагать действительный превентивный подход с точки зрения здоровья полости рта, например, предупреждения пародонтита.

[36] Бактерии требуют определенных субстратов, которые создают возможность для их роста, размножения, метаболической активности и колонизации. Некоторые субстраты могут избирательно определенными микроорганизмами (например, бактериями), как способствующие их росту, метаболической активности, размножению и колонизации, и, таким образом, прямо или косвенно подавлять рост других микроорганизмов. Авторами настоящего изобретения изучена возможность модификации макробиоты полости рта субъекта путем избирательного увеличения популяцию полезных облигатных бактерий в полости рта субъекта, обеспечивая полезных бактерий полости рта подходящими субстратами для роста/размножения.

[37] Примеры полезных бактерий включают *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus gordonii*, *Carnocytophaga sputigena* и *Actinomyces naeslundii*. Примеры патогенных бактерий включают *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Streptococcus sobrinus*.

[38] Авторами настоящего изобретения обнаружено, что некоторые карбоновые кислоты могут вызвать усиление роста, метаболической активности и образования биопленки полезных бактерий, не вызывая усиления роста, метаболической активности и образования биопленки патогенных бактерий полости рта.

[39] В настоящем изобретении, таким образом, предлагается композиция для ухода за полостью рта, содержащая карбоновую кислоту формулы:



где:

R_1 представляет собой H или замещенную или незамещенную алкильную группу; и R_2 представляет собой H, OH или NH_2 ;

для применения в:

(a) избирательном содействии в полости рта: росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта;

(b) избирательном содействии в полости рта образованию биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта; или

(c) поддержании и/или восстановлении здоровой микробиоты полости рта.

[40] В некоторых вариантах реализации изобретения R_2 представляет собой H. В других вариантах реализации изобретения R_2 представляет собой OH. В других вариантах реализации изобретения R_2 представляет собой NH_2 .

[41] В некоторых вариантах реализации изобретения, в которых R_2 представляет собой NH_2 , карбоновая кислота является кислой аминокислотой. Кислая аминокислота может быть L-аминокислотой. В некоторых вариантах реализации изобретения кислая аминокислота является аспарагиновой кислотой или глутаминовой кислотой. В некоторых вариантах реализации изобретения кислая аминокислота представляет собой L-аспарагиновую кислоту. В других вариантах реализации изобретения кислая аминокислота представляет собой L-глутаминовую кислоту.

[42] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой H. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является уксусной кислотой.

[43] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой замещенную или незамещенную C_1 - C_{10} алкильную группу, В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 является линейной или разветвленной алкильной группой. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 является циклоалкильной группой.

[44] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой незамещенную алкильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой незамещенную C_1 - C_{10} ; C_1 - C_6 или C_1 - C_4 алкильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой незамещенную метильную (Me), этильную (Et), n-пропильную (n-Pr), изопропильную (i-Pr), n-бутильную (n-Bu), изобутильную (i-Bu) или трет-бутильную (t-Bu) группу. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является молочной кислотой. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является L-молочной кислотой.

[45] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой замещенную C_1 - C_{10} ; C_1 - C_6 ; или C_1 - C_4 алкильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой замещенную метильную (Me), этильную (Et), n-пропильную (n-Pr) или n-бутильную (n-Bu) группу. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой замещенную изопропильную (i-Pr), изобутильную (i-Bu) или трет-бутильную (t-Bu) группу. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 замещен по меньшей мере одной гидроксильной группой. Дальнейшие примеры групп, которыми может быть замещен R_1 , включают (но не

ограничиваясь этим) кетогруппы, карбоксильные группы, сахаридные остатки и эфирные группы.

[46] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 содержит сахаридный остаток. В некоторых вариантах реализации изобретения сахаридный остаток является остатком галактопиранозы. В некоторых вариантах реализации изобретения остаток галактопиранозы является остатком α -D-галактопиранозы. В некоторых вариантах реализации изобретения, в которых R_1 представляет собой замещенную группу алкильную (в том числе, но не ограничиваясь этим, замещенную метильную, этильную, н-пропильную или н-бутильную группу; или замещенную изопропильную, изобутильную или трет-бутильную группу), R_1 замещен сахаридным остатком из любого из упомянутых выше вариантов реализации изобретения. В некоторых таких вариантах реализации изобретения R_1 может быть дополнительно замещен по меньшей мере одной гидроксильной группой. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой сахаридный остаток, соединенный гликозидной связью с цепью, содержащей по меньшей мере три атома углерода (т.е. карбоновая кислота содержит структуру (сахаридный остаток)-(цепь длиной по меньшей мере три атома углерода)-CHR₂-COOH). Цепь длиной по меньшей мере три атома углерода может быть замещена гидроксильными группами. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является мелибионовой кислотой.

[47] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 содержит по меньшей мере одну группу COOR₃, где R₃ представляет собой H или C₁₋₄ алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения R₃ выбран из метила (Me), этила (Et), н-пропила (n-Pr), изопрпила (i-Pr), н-бутила (n-Bu), изобутила (i-Bu) или трет-бутила (t-Bu).

[48] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой (CH₂)_nCOOR₃, где n равно от 1 до 5. В некоторых вариантах реализации изобретения n равно от 1 до 4; от 1 до 3; или от 1 до 2. В некоторых вариантах реализации изобретения n равно 1. В любом из этих вариантов реализации изобретения R₃ может быть метилом (Me), этилом (Et), н-пропилом (n-Pr), изопрпилом (i-Pr), н-бутилом (n-Bu), изобутилом (i-Bu) или трет-бутилом (t-Bu). В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является янтарной кислотой или L-яблочной кислотой. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является монометилсукцинатом.

[49] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 содержит по меньшей мере одну группу C(O)COOH. В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 представляет собой (CH)_mC(O)COOH, где m равно от 1 до 4. В некоторых вариантах реализации изобретения m может быть равно от 1 до 3; от 1 до 2; или m может быть равно 1. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является α -кетоглутаровой кислотой.

[50] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 содержит две группы COOH. В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота является лимонной кислотой.

[51] В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 содержит группу COOH и группу COOR₃, где R₃ представляет собой H или C₁₋₄ алкил. В некоторых вариантах реализации изобретения R₃ выбран из метила (Me), этила (Et), н-пропила (n-Pr), изопрпила (i-Pr), н-бутила (n-Bu), изобутила (i-Bu), или трет-бутила (t-Bu).

[52] В некоторых вариантах реализации изобретения карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 0,01% масс. до 10% масс., от 0,05% масс. до 7,5% масс., от 0,1% масс. до 5% масс. или от 1 до % масс. до 2,5% масс. в пересчете на массу композиции для ухода за полостью рта.

5 [53] В любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения карбоновая кислота может присутствовать в композиции в количестве от 1 до мкмоль/мл до 50 мкмоль/мл, от 2 мкмоль/мл до 40 мкмоль/мл, от 5 мкмоль/мл до 30 мкмоль/мл, от 10 мкмоль/мл до 25 мкмоль/мл, от 20 мкмоль/мл до 25 мкмоль/мл; или около 25 мкмоль/мл, около 20 мкмоль/мл, около 10 мкмоль/мл или около 5 мкмоль/мл. В некоторых
10 вариантах карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 22 мкмоль/мл до 30 мкмоль/мл.

[54] Композиция для ухода за полостью рта, описанная в любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения, может представлять собой средство для ухода за зубами, зубную пасту, гель, зубной порошок, ополаскиватель для полости рта,
15 средство для полоскания рта, леденец (который может быть растворимым или жевательным), таблетку, спрей, жевательную резинку или пленку (которая может быть полностью или частично растворимой, или же нерастворимой).

[55] Композиции для ухода за полостью рта, описанные в любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения, могут дополнительно содержать по меньшей
20 мере один вид бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта. В таких вариантах реализации изобретения композиция может носить название симбиотической композиции, поскольку она содержит как пробиотик (бактерии, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта), так и пребиотик (карбоновая кислота, которая стимулирует рост, метаболическую
25 активность и/или колонизацию пробиотическими бактериями). В некоторых вариантах реализации изобретения вид бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, выбран из *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus gordonii*, *Carnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и их комбинаций.

30 [56] Композиция для ухода за полостью рта, описанная в любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения, дополнительно может быть предназначена для применения в предупреждении одного или более из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса.

35 [57] Кроме того, в настоящем изобретении также предлагается способ избирательного содействия, в полости рта субъекта:

(a) росту, метаболической активности или колонизация бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно
40 роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта; или

(b) образование биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта;

45 причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по любому из описанных выше вариантов реализации изобретения.

[58] В настоящем изобретении дополнительно предлагается способ поддержания и/или восстановления здоровой микробиоты полости рта у субъекта, причем способ

включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по любому из описанных выше вариантов реализации изобретения.

5 [59] В настоящем изобретении дополнительно предлагается способ предупреждения одного или более из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта, причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта по любому из описанных выше вариантов реализации изобретения.

10 [60] В упомянутых выше способах субъект может быть млекопитающим. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект является человеком. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект является животным, например, домашним животным (например, кошкой или собакой).

15 [61] В некоторых вариантах реализации изобретения контакт полости рта с композицией для ухода за полостью рта включает применение композиции для ухода за полостью рта в полости рта с помощью щетки, ополаскивание полости рта композицией для ухода за полостью рта в форме ополаскивателя для полости рта или распыление композиции для ухода за полостью рта в полости рта, например, с помощью пульверизатора.

20 [62] В настоящем изобретении дополнительно предлагается применение в композиции для ухода за полостью рта карбоновой кислоты, как описано в любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения для:

(a) избирательного содействия росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта;

(b) избирательного содействия образованию биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта;

(c) поддержания и/или восстановления здоровой микробиоты полости рта у субъекта;

30 или
(d) предупреждения одного или более из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта.

35 [63] В любом из упомянутых выше вариантов композиций, способов и применения карбоновая кислота может избирательно содействовать росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта, после инкубации в течение 24 часов с бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, и патогенными бактериями полости рта.

40 [64] В любом из упомянутых выше вариантов композиций, способов и применения карбоновая кислота может избирательно способствовать росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта, после инкубации в течение 48 часов с бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, и патогенными бактериями полости рта.

[65] В любом из упомянутых выше вариантов композиций, способов и применения

бактерии, которые оказывают благоприятное влияние здоровья полости рта, могут быть выбраны из *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и их комбинаций. Дополнительно или в качестве альтернативы, патогенные бактерии могут быть выбраны из *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus sobrinus* и их комбинаций.

[66] В любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения, в котором композиции, способы и применение касаются избирательного содействия (в полости рта субъекта) росту, метаболической активности или колонизации бактериями, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно роста, метаболической активности или колонизации патогенными бактериями полости рта, бактерии, которые оказывают благоприятное влияние на здоровье полости рта, могут быть выбраны из *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Actinomyces naeslundii* и их комбинаций, и в некоторых вариантах реализации изобретения могут быть выбраны из *Streptococcus mitis* и *Veillonella parvula*. Дополнительно или в качестве альтернативы, патогенные бактерии могут быть выбраны из *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Streptococcus sobrinus* и их комбинаций.

[67] В любом из упомянутых выше вариантов реализации изобретения, в котором композиции, способы и применение касаются избирательного содействия образованию биопленки бактерий, которые оказывают благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, относительно образования биопленки патогенных бактерий полости рта, патогенные бактерии могут быть выбраны из *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и их комбинаций; и в некоторых вариантах реализации изобретения могут быть выбраны из *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Дополнительно или в качестве альтернативы, бактерии, которые оказывают благоприятное влияние здоровья полости рта, могут быть выбраны из *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga sputigena* и их комбинаций.

[68] Композиции для ухода за полостью рта по настоящему изобретению дополнительно могут содержать дополнительные ингредиенты. Такие дополнительные ингредиенты могут включать, но не ограничиваясь этим, абразивы, разбавители, бикарбонатные соли, агенты для модификации pH, поверхностно-активные вещества, модификаторы пены, загустители, увлажняющие агенты, подсластители, ароматизаторы, пигменты, антибактериальные агенты, агенты против кариеса, антикалькулезные или предупреждающие появление зубного камня агенты и их смеси.

[69] В некоторых вариантах реализации изобретения, конкретно (но не ограничиваясь этим) в тех вариантах реализации изобретения, где композиция для ухода за полостью рта представляет собой зубную пасту, композиции по настоящему изобретению могут дополнительно содержать абразив. Абразивы, которые можно применять, включают абразивы на основе диоксида кремния, такие как осажденный или гидратированный диоксид кремния со средним размером частиц до около 20 мкм, например, Zeodent 105 и Zeodent 114, представленные на рынке J.M. Huber Chemicals Division, Havre de Grace, Md. 21078, или Sylodent 783, представленный на рынке Davison Chemical Division W.R. Grace & Company. Кроме того, могут быть включены абразивы, такие как Sorbosis AC 43 от PQ Corporation. Другие пригодные абразивы для средств для ухода за зубами

включают оксид алюминия, силикат алюминия, кальцинированный диоксид кремния, бентонит или другие кремниевые материалы, нерастворимые фосфаты и их смеси. Абразив может присутствовать в количестве от 5 до 30% масс. в пересчете на массу композиции, необязательно от 10 до 20% масс. в пересчете на массу композиции. В некоторых вариантах реализации изобретения, конкретно (но не ограничиваясь этим) в таких вариантах реализации изобретения, в которых композиция для ухода за полостью рта представляет собой ополаскиватель для полости рта или средство для полоскания рта, композиции могут не содержать абразивов.

[70] В некоторых вариантах реализации изобретения композиции для ухода за полостью рта по настоящему изобретению содержат по меньшей мере одну бикарбонатную соль, пригодную, например, чтобы придавать «ощущение чистоты» зубам и деснам за счет «вскипания» и высвобождения диоксида углерода. Можно применять любой подходящий для приема внутрь бикарбонат, в том числе, но не ограничиваясь этим, бикарбонаты щелочных металлов, такие как бикарбонаты натрия и калия, бикарбонат аммония и т.п. Одна или более дополнительных бикарбонатных солей необязательно присутствуют с общим содержанием около 0,1% масс. до около 50% масс., например, от около 1% масс. до 20% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[71] В некоторых вариантах реализации изобретения композиции для ухода за полостью рта по настоящему изобретению содержат по меньшей мере один агент для модификации pH. Такие агенты включают подкисляющие агенты для снижения pH, подщелачивающие агенты для повышения pH и буферизующие агенты для контроля pH в пределах желаемого диапазона. Например, одно или более соединений, выбранных из подкисляющих, подщелачивающих и буферизующих, агентов можно включать, чтобы обеспечить pH 2-10, или в различных иллюстративных вариантах реализации изобретения 2-8, 3-9, 4-8, 5-7, 6-10, 7-9 и т.п. Можно применять любой подходящий для приема внутрь агент для модификации pH, в том числе, но не ограничиваясь этим, фосфорную и сульфоновую кислоты и их соли, гидроксиды щелочных металлов, такие как натрия гидроксид, карбонаты, такие как натрия карбонат, бикарбонаты, сесквикарбонаты, бораты, силикаты, фосфаты (например, моносодия фосфат, тринатрия фосфат), имидазол и т.п. Один или более агентов для модификации pH необязательно присутствуют с общим содержанием, эффективным для поддержания приемлемого для приема внутрь диапазона pH в композиции.

[72] Композиции для ухода за полостью рта по изобретению дополнительно могут содержать по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество. Можно применять любое подходящее для приема внутрь поверхностно-активное вещество, большинство из которых являются анионными, неионными или амфотерными. Подходящие анионные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваясь этим, растворимые в воде соли C₈₋₂₀ алкилсульфатов, сульфонируемые моноглицериды C₈₋₂₀ жирных кислот, саркозинаты, лаураты и т.п. Иллюстративные примеры этих и других классов включают натрий лаурилсульфат, натрий моноглицеридсульфонат кокосового масла, натрий лаурилсаркозинат, натрий лаурилизетионат, натрий лаурилкарбоксилат и натрий додецилбензолсульфонат. Подходящие неионные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваясь этим, полочкамеры, эфиры полиоксиэтиленсорбитана, этоксиляты жирных спиртов, этоксиляты алкилфенолов, третичные оксиды аминов, третичные оксиды фосфинов, диалкилсульфоксиды и т.п. Подходящие амфотерные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваясь этим, производные алифатических вторичных и третичных C₈₋₂₀ аминов, содержащих анионную группу,

такие как карбоксилат, сульфат, сульфонат, фосфат или фосфонат. Кроме того, можно применять бетаины, подходящим примером которых является кокоамидопропилбетаин. Одно или более поверхностно-активных веществ необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,01% масс. до около 10% масс., например, от около 0,05% масс. до около 5% масс. или от около 0,1% масс. до около 2% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[73] Композиции для ухода за полостью рта по изобретению могут содержать по меньшей мере один модификатор пены, пригодный, например, для увеличения количества, толщины или стабильность пены, образуемой композицией при взбалтывании. Можно применять любой подходящий для приема внутрь модификатор пены, в том числе, но не ограничиваясь этим, полиэтиленгликоли (ПЭГ), также известные как полиоксиэтилены. Высокомолекулярные ПЭГ являются подходящими, включая соединения со средней молекулярной массой от 200000 до 7000000, например, от 500000 до 5000000 или от 1000000 до 2500000. Один или более ПЭГ необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,1% масс. до около 10% масс., например от около 0,2% масс. до около 5% масс., или от около 0,25% масс. до около 2% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[74] Композиции для ухода за полостью рта по настоящему изобретению могут содержать по меньшей мере один загуститель, подходящий, например, для придания композиции желательной консистенции и/или ощущения во рту. Можно применять любой подходящий для приема внутрь загуститель, в том числе, но не ограничиваясь этим, карбомеры, также известные как карбоксивиниловые полимеры, каррагенаны, также известные как ирландский мох, и, более конкретно, λ -каррагенан (γ -каррагенан), целлюлозные полимеры, такие как гидроксипропилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) и их соли, например, натрий КМЦ, природные камеди, такие как карайя, ксантановая, аравийская и трагакантовая, коллоидный магния алюминия силикат, коллоидный кремния диоксид и т.п. Предпочтительный класс загустителей или желирующих агентов включает класс гомополимеров акриловой кислоты, попеременно сшитой с алкиловым эфиром пентаэритрита или алкиловым эфиром сахарозы, или карбомеров. Карбомеры коммерчески доступны от В.Ф. Goodrich как серия Carbopol®. Особенно предпочтительные продукты Carbopol включают Carbopol 934, 940, 941, 956, 974Р и их смеси. Кроме того, можно применять загустители на основе кремния диоксида, такие как DT 267 (от PPG Industries). Один или более загустителей необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,01% масс. до 15% масс., например, от около 0,1% масс. до около 10% масс. или от около 0,2% масс. до около 5% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[75] Композиции по изобретению могут содержать по меньшей мере один модификатор вязкости, подходящий, например, чтобы воспрепятствовать осаждению или разделению ингредиентов или способствовать редиспергируемости жидкой композиции при взбалтывании. Можно применять любой подходящий для приема внутрь модификатор вязкости, в том числе, но не ограничиваясь этим, минеральное масло, вазелина, глины и органомодифицированная глина, кремния диоксид и т.п. Один или более модификаторов вязкости необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,01% масс. до около 10% масс., например, от около 0,1% масс. до около 5% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[76] Композиции по изобретению дополнительно могут содержать по меньшей мере один увлажняющий агент. Можно применять любой подходящий для приема внутрь увлажняющий агент, в том числе, но не ограничиваясь этим, полиолы, такие как

глицерин, сорбит (необязательно в виде 70% масс. раствора в воде), ксилит или низкомолекулярные полиэтиленгликоли (ПЭГ). Большинство увлажняющих агентов также выполняют роль подсластителей. Один или более увлажняющих агентов
5
необязательно присутствуют с общим содержанием от около 1% масс. до около 70% масс., например, от около 1% масс. до около 50% масс., от около 2% масс. до около 25% масс. или от около 5% масс. до около 15% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[77] Композиции для ухода за полостью рта по настоящему изобретению могут содержать по меньшей мере один подсластитель, например, подходящий для улучшения
10
вкуса композиции. Один или более подсластителей необязательно присутствуют с общим содержанием, в существенной мере зависящим от конкретного(ых) выбранного(ых) подсластителя(ей), но обычно от 0,005% масс. до 5% масс. в пересчете на общую массу композиции, необязательно от 0,005% масс. до 0,2% масс., дополнительно необязательно от 0,05% масс. до 0,1% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[78] Композиции по настоящему изобретению дополнительно могут содержать по
15
меньшей мере один ароматизатор, например, подходящий для улучшения вкуса композиции. Может применяться любой подходящий для приема внутрь природный или синтетический ароматизатор, в том числе, но не ограничиваясь этим, ароматизаторы с ароматом чая, ванилина, шалфея, майорана, масло петрушки, масло мяты, масло
20
корицы, масло винтергрина (метилсалицилат), масло мяты перечной, масло гвоздики, масло лавра, масло аниса, масло эвкалипта, масла цитрусовых, фруктовые масла и эссенции, включая полученные из лимона, апельсина, лайма, грейпфрута, абрикоса, банана, винограда, яблока, земляники, вишни, ананаса и т.п., ароматизаторы, полученные из бобовых и орехов, таких как кофе, какао, кола, арахис, миндаль и т.п.,
25
адсорбированные и инкапсулированные ароматизаторы и т.п. Кроме того, в число перечисленных в данном описании ароматизаторов входят ингредиенты, которые обеспечивают ароматизацию и/или другое сенсорное воздействие в полости рта, в том числе, охлаждающее или согревающее воздействие. В качестве иллюстрации, такие ингредиенты включают ментол, ментилацетат, метиллактат, камфору, масло эвкалипта,
30
эвкалиптол, анетол, эвгенол, кассию, оксанон, α -иризон, пропенилгвайетол, тимол, линалоол, бензальдегид, коричный альдегид, N-этил-п-ментан-3-карбоксамин, N,2,3-триметил-2-изопропилбутанамид, 3-(1-ментокси)-пропан-1,2-диол, глицеролацеталь коричневого альдегида (ГКА), глицеролацеталь ментона (ГАМ) и т.п. Один или более ароматизаторов необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,01% масс. до около 5% масс., например, от около 0,03% масс. до около 2,5% масс.,
35
необязательно от около 0,05% масс. до около 1,5% масс., дополнительно необязательно от около 0,1% масс. до около 0,3% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[79] Композиции по изобретению могут содержать по меньшей мере один краситель. Красители в данном описании включают пигменты, красители, лаки и агенты,
40
придающие особенный глянец или зеркальность, такие как перламутровые агенты. Можно применять любой подходящий для приема внутрь краситель, в том числе, но не ограничиваясь этим, тальк, слюда, карбоната магния, карбоната кальция, силикат магния, силикат алюминия магния, кремния диоксид, титана диоксид, цинка оксид, красный, желтый, коричневый и черный оксиды железа, железа аммония ферроцианид,
45
марганцевый фиолетовый, ультрамарин, титанированная слюда, висмута оксихлорид и т.п. Один или более красителей необязательно присутствуют с общим содержанием от около 0,001% масс. до около 20% масс., например, от около 0,01% масс. до около 10% масс. или от около 0,1% масс. до около 5% масс. в пересчете на общую массу

композиции.

[80] Композиции по настоящему изобретению дополнительно могут содержать антибактериальный агент или консервант, такой как хлоргексидин, триклозан, четвертичные соединения аммония (например, бензалкония хлорид) или парабены, такие как метилпарабен или пропилпарабен. Один или более антибактериальных агентов или консервантов необязательно присутствуют в композиции с общим содержанием от около 0,01% масс. до около 0,5% масс., необязательно от около 0,05% масс. до около 0,1% масс. в пересчете на общую массу композиции.

[81] Композиции для ухода за полостью рта дополнительно могут содержать источник фторид-ионов. Источники фторид-ионов включают, но не ограничиваясь этим: олова фторид, натрия фторид, калия фторид, калия монофторфосфат, натрия монофторфосфат, аммония монофторфосфат, натрия фторсиликат, аммония фторсиликат, фторид амина, такой как олафлур (N'-октадецилтриметилендиамин-N,N,N'-трис(2-этанол)-дигидрофторид), аммония фторид и их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения источник фторид-ионов включает олова фторид, натрия фторид, фториды аминов, натрия монофторфосфат, а также их смеси. В некоторых вариантах реализации изобретения композиция для ухода за полостью рта по изобретению дополнительно может содержать источник фторид-ионов или обеспечивающий фтор ингредиент в количествах, достаточных, чтобы доставлять от около 50 до около 5000 пропромилле фторид-иона, например, от около 100 до около 1000, от около 200 до около 500 или около 250 пропромилле фторид-иона. Источники фторид-иона можно добавлять к композициям по изобретению на уровне от около 0,001% масс. до около 10% масс., например, от около 0,003% масс. до около 5% масс., от 0,01% масс. до около 1 масс. или около 0,05% масс.. Однако, необходимо понимать, что масса солей фторида, необходимая для обеспечения подходящего уровня фторид-ионов очевидно будет варьировать на основании массы противоиона в соли, и специалист в данной области сможет легко определить такие количества. Предпочтительной фторидной солью может быть натрия фторид.

[82] Композиции по настоящему изобретению могут содержать агенты для стимуляции слюноотделения, подходящие, например, для облегчения сухости рта. Можно применять любой подходящий для приема внутрь агент для стимуляции слюноотделения. Один или более агентов для стимуляции слюноотделения необязательно присутствуют в общем количестве, эффективном для стимуляции слюноотделения.

[83] Композиции по настоящему изобретению дополнительно могут содержать снижающие чувствительность агенты, например, калиевые соли, такие как калия нитрат, калия бикарбонат, калия хлорид, калия цитрат и калия оксалат; капсаицин; эвгенол; соли стронция; хлоридные соли и их комбинации. Такие агенты можно добавлять в эффективных количествах, например, от около 1% масс. до около 20% масс. в пересчете на общую массу композиции, в зависимости от выбранного агента.

[84] Композиция по изобретению может дополнительно содержать антиоксидант. Можно применять любой подходящий для приема внутрь антиоксидант, в том числе, бутилированный гидроксианизол (БГА), бутилированный гидрокситолуол (БГТ), витамин А, каротиноиды, витамин Е, флавоноиды, полифенолы, травяные антиоксиданты, хлорофилл, мелатонин и их смеси.

[85] Композиции по настоящему изобретению дополнительно могут необязательно содержать предупреждающий появление зубного камня агент (антикалькулезный), как предложено ниже. Предупреждающие появление зубного камня агенты, среди подходящих согласно данному описанию, включают соли указанных агентов, в том

числе соли щелочных металлов и аммония. Агенты включают: фосфаты и полифосфаты, полиаминопропансульфоновую кислоту (ПАПС), полиолефинсульфонаты, полиолефинфосфаты, дифосфонаты, такие как азацicloалкан-2,2-дифосфонаты (например, азацicloпента-2,2-дифосфоновая кислота), N-метилазацicloпентан-2,3-дифосфоновая кислота, этан-1-гидрокси-1,1-дифосфоновая кислота (ЭГДФ) и этан-1-амино-1,1-дифосфонат. Подходящие неорганические фосфатные и полифосфатные соли включают одноосновные, двухосновные и трехосновные фосфаты натрия, натрия триполифосфат, тетраполифосфат, натрия триметафосфат, натрия гексаметафосфат и их смеси. Другие пригодные агенты, предупреждающие появление зубного камня, включают поликарбоксилатные полимеры и сополимеры поливинилметилового эфира/малеинового ангидрида (ПВМ/МА), такие как GANTREZ®.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

[86] Метаболическая активность различных полезных бактерий полости рта и патогенных бактерий полости рта была изучена в присутствии карбоновых кислот янтарной кислоты, L-молочной кислоты, монометилсукцината, L-яблочной кислоты, лимонной кислоты, мелибионовой кислоты, альфа-кетоглутаровой кислоты, уксусной кислоты и L-аспарагиновой кислоты.

[87] Протестированные полезные бактерии полости рта представляли собой *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и *Veillonella parvula*. Протестированные патогенные бактерии полости рта представляли собой *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Streptococcus sobrinus*.

[88] Субстраты, которые были способны увеличивать метаболическую активность по меньшей мере одной из вышеупомянутых полезных бактерий, при отсутствии или минимальном усилении роста патогенных бактерий, рассматриваются как пребиотические субстраты.

[89] Степень метаболической активности протестированных бактерий в присутствии вышеперечисленных кислот через 24 часа и 48 часов была изучена с помощью высокопроизводительной системы фенотипирования на микрочипах (ФМ) для микробных клеток (Biolog Inc.). Каждая ФМ может содержать до 95 различных биохимических соединений (например, органических кислот), которые могут действовать, как субстраты для бактерий, а также один отрицательный контроль, не содержащий субстратов. Использовали планшеты с микрочипами, в которых различные лунки каждого планшета были предварительно нагружены (производителем, Biolog Inc.) различными органическими кислотами, подлежащими тестированию. Каждый вид бактерий тестировали с использованием отдельного планшета с микрочипами. Таким образом, один вид бактерий тестировали с различными органическими кислотами на каждом конкретном планшете. Микрочипы основаны на редокс-технологии, с использованием клеточного дыхания в качестве универсального репортера. Активное дыхание клетки приводит к восстановлению тетразолиевого красителя с образованием интенсивного окрашивания, например, при применении тетразолиевого красителя «Biolog Redox Dye Mix D», когда цвет меняется от прозрачного/бесцветного до пурпурного при восстановлении красителя. Наблюдение данного изменения цвета указывает на то, какие из субстратов улучшают метаболическую активность и состояние здоровья клеток.

[90] Каждый вид бактерий собирали с планшетов с кровавым агаром (где

инкубировали в течение 48 часов в анаэробных условиях при 37°C) и переносили в базовую инокуляционную жидкость IF-0 (Biolog Inc.), которая представляет собой бедную питательными веществами среду. Пропускание полученной суспензии клеток доводили до 42% (относительно пропускания базовой инокуляционной жидкости без бактерий) на длине волны 492 нм с помощью фотометра BioRad SmartSpec 3000 (корректировку производили, добавляя дополнительное количество инокуляционной жидкости или дополнительное количество бактерий до пропускания 42%). Готовили разведения данной суспензии 1:5, смешивая 3 мл суспензии клеток с пропусканием 42% и 15 мл инокуляционной жидкости (инокуляционную жидкость получали смешиванием 11,6 мл стерильной воды, 62,5 мл базовой инокуляционной жидкости IF-0 и 0,9 мл тетразолиевого красителя «Biolog Redox Dye mix D»), с получением конечной плотности клеток, которая соответствовала пропусканию 85%, с использованием фотометра BioRad SmartSpec 3000. Для каждой из протестированных кислот планшет с микрочипами (полученный от поставщика (Biolog Inc.), уже содержащий в соответствующих лунках кислоту в форме порошка) непосредственно инокулировали 100 мкл/лунку указанной суспензии клеток с пропусканием 85%.

[91] Все планшеты инкубировали в анаэробной атмосфере при 37°C. Изменения цвета измеряли спектрофотометрически на длине волны 492 нм (Thermo Scientific Multiskan Ascent) через 24 часа и 48 часов, используя один и тот же планшет в обеих точках времени. Кроме того, для каждой протестированной бактерии использовали соответствующий контроль, причем контролем служила лунка планшета, которая содержала конкретную бактерию (суспензию клеток), но не содержала карбоновой кислоты. Через 24 часа и 48 часов в условиях непрерывного встряхивания на устройстве для считывания микропланшетов Multiscan, оптическую плотность (OD) синтетической среды через 24 часа и 48 часов измеряли (с помощью устройства для считывания микропланшетов) на длине волны 492 нм для каждой комбинации бактерии/органической кислоты, и для каждой из соответствующих контрольных сред (т.е., содержащих конкретную бактерию, но не содержащих карбоновой кислоты). Для каждой бактерии, значение OD, полученное через 24 часа и 48 часов, делили на значение OD, полученное для соответствующего контроля через 24 часа и 48 часов (соответственно), принимая контрольное значение за 1. Таким образом, значение для конкретной комбинации бактерии с карбоновой кислотой выше 1 указывает на более выраженное увеличение метаболической активности бактерий через 24 часа или 48 часов, чем увеличение, наблюдаемое в контрольном опыте.

[92] Эксперимент проводили трижды для каждой комбинации бактерии с карбоновой кислотой, проводя каждый повторный эксперимент в другой день (обеспечивая таким образом три точные биологические копии). Контрольный опыт также проводили трижды, как описано выше. Приведенные значения представляют собой среднее значение (среднее) трех отдельных значений, полученных (как подробно описано выше) для каждой комбинации бактерии с карбоновой кислотой через 24 часа и 48 часов. Результаты приведены в Табл. 1-4 ниже:

Таблица 1: Патогенные бактерии через 24 часа

	<i>A actino**</i>	<i>F nucleatum</i>	<i>P gingivalis</i>	<i>P intermedia</i>	<i>T forsythia</i>	<i>S mutans</i>	<i>S sobrinus</i>
Янтарная кислота	1,1066	0,8508	0,8726	1,0677	0,9307	0,8991	0,8265
L-молочная кислота	1,7850	0,8008	0,7480	0,9628	0,8509	0,8885	0,8282
Монометилсукцинат	0,9321	0,8349	0,7502	1,0197	0,8922	0,9482	0,9731
L-яблочная кислота	1,6257	0,8813	0,8367	0,9958	0,9252	0,9627	1,0506
Лимонная кислота	1,3098	0,7626	0,8443	0,9626	0,9320	1,1156	0,9828
Мелибионовая кислота	0,9361	0,9131	0,8689	1,0625	1,0848	1,1010	1,1366
Альфа-кетоглутаровая кислота	1,0311	0,8164	0,8494	1,0787	0,9714	1,0330	0,9463
Уксусная кислота	0,7842	0,8870	0,7975	0,9950	0,9086	0,8859	1,0489
L-аспарагиновая кислота	1,4358	0,9201	0,8910	0,9390	0,9565	0,9715	1,0053

**A actinomycetemcomitans

Таблица 2: Полезные бактерии через 24 часа

	<i>A naeslundii</i>	<i>C sputigena</i>	<i>S gordonii</i>	<i>A viscosus</i>	<i>S salivarius</i>	<i>S sanguinis</i>	<i>V parvula</i>	<i>S mitis</i>
Янтарная кислота	0,9767	1,0400	0,7960	0,9752	0,9019	0,9046	2,8247	0,9268
L-молочная кислота	1,6747	1,4435	0,7156	1,5404	0,9183	0,9076	3,4930	1,0230
Монометилсукцинат	0,8880	0,8328	0,8102	0,9911	0,9553	0,8806	2,0008	1,0231
L-яблочная кислота	0,9796	0,8764	0,9161	0,9803	0,9740	0,8788	2,0256	0,9743
Лимонная кислота	0,8551	0,5992	0,9010	0,9333	0,9935	0,8938	1,2832	1,0814
Мелибионовая кислота	1,2539	0,6213	1,0326	1,6342	0,9984	1,0430	0,8685	1,0443
Альфа-кетоглутаровая кислота	0,9093	0,6312	0,9127	0,9915	1,1057	0,9629	1,4942	1,0211
Уксусная кислота	0,9735	1,0659	0,8805	1,1538	0,9882	0,9557	1,2465	1,0033
L-аспарагиновая кислота	0,8814	0,7060	0,8729	0,9434	0,9496	0,9451	1,8448	1,0323

Таблица 3: Патогенные бактерии через 48 часов

	<i>A actino**</i>	<i>F nucleatum</i>	<i>P gingivalis</i>	<i>P intermedia</i>	<i>T forsythia</i>	<i>S mutans</i>	<i>S sobrinus</i>
Янтарная кислота	1,2815	0,8574	0,9109	1,1361	0,9641	0,8576	0,8068
L-молочная кислота	2,2055	0,7884	0,7325	0,9344	0,8314	0,8138	0,7747
Монометилсукцинат	1,0787	0,7615	0,6747	1,0603	0,8775	0,8864	0,9118
L-яблочная кислота	1,9196	0,8215	0,8279	1,0146	0,9462	0,8760	0,9898
Лимонная кислота	1,4736	0,6603	0,8692	0,8872	0,8510	1,0700	0,8769
Мелибионовая кислота	0,8912	0,8299	0,9301	1,0988	1,1865	1,0362	1,1222
Альфа-кетоглутаровая кислота	1,2745	1,4088	0,8493	1,1353	1,0338	1,0484	0,9784
Уксусная кислота	0,7276	0,8414	0,7217	1,0000	0,8946	0,8439	0,9725
L-аспарагиновая кислота	1,6253	0,9448	0,9017	0,9154	0,9575	0,8709	0,9338

***A actinomycetemcomitans*

Таблица 4: Полезные бактерии через 48 часов

	<i>A naeslundii</i>	<i>C sputigena</i>	<i>S gordonii</i>	<i>A viscosus</i>	<i>S salivarius</i>	<i>S sanguinis</i>	<i>V parvula</i>	<i>S mitis</i>
Янтарная кислота	0,9858	1,0105	0,8167	1,0089	0,8347	0,8763	2,2852	0,8537
L-молочная кислота	1,8440	1,1474	0,6821	1,7915	0,8317	0,8849	3,0003	0,9098
Монометилсукцинат	0,8882	0,9842	0,7556	1,0314	0,8641	0,8453	2,0023	0,9293
L-яблочная кислота	0,9086	0,8870	0,8652	1,0090	0,9426	0,9018	1,5012	0,8207
Лимонная кислота	0,7965	0,8818	0,7481	0,9052	0,9148	0,8704	2,0488	0,8953
Мелибионовая кислота	1,3926	0,9143	0,9389	2,0904	0,9237	1,0832	0,6981	0,9983
Альфа-кетоглутаровая кислота	0,9031	0,8910	0,9193	1,0515	1,1207	1,0284	2,1872	1,0001
Уксусная кислота	0,9691	1,0478	0,8494	1,2299	0,9639	0,9831	2,0922	0,8934
L-аспарагиновая кислота	0,8283	0,7655	0,8488	0,9275	0,8503	0,9195	2,2760	0,9065

[93] В приведенных выше данных, значение 2 было принято в качестве порога, выше которого органическая кислота вызывала существенное увеличение метаболической активности бактерий. Данное значение было выбрано, чтобы исключить метаболиты с низким уровнем стимуляции и избежать ложно позитивных результатов.

[94] Как можно видеть из приведенных выше данных, янтарная кислота, L-молочная кислота, монометилсукцинат и L-яблочная кислота продемонстрировали пребиотический эффект в точке 24 часа, а также янтарная кислота, монометилсукцинат, лимонная кислота, мелибионовая кислота, альфа-кетоглутаровая кислота, уксусная кислота и L-аспарагиновая кислота продемонстрировали пребиотический эффект в точке 48 часов. Без связи с какой-либо теорией, считается, что субстраты, которые продемонстрировали пребиотический эффект в точке 48 часов, могут оказывать благоприятное влияние на полость рта при длительном применении.

[95] Поскольку L-молочная кислота быстрее метаболизируется полезными бактериями, чем патогенными бактериями (на это указывает значение 2 в приведенных выше наборах данных, достигаемое через 24 часа для полезных бактерий, но не для

патогенных бактерий), ожидается, что присутствие L-молочной кислоты способствует подавлению роста патогенных бактерий полезными бактериями в пределах короткого промежутка времени, таким образом поддерживая здоровую микробиоту полости рта. Поскольку L-молочная кислота быстрее метаболизируется полезными бактериями, чем патогенными бактериями, данная органическая кислота расходуется/метаболизируется (и, таким образом, исчезает из среды) полезными бактериями до того, как патогенные бактерии смогут начать ее использовать. Без связи с какой-либо теорией, считается, что стимулирующий эффект L-молочной кислоты на патогенные бактерии, наблюдаемое через 48 часа, можно устранить в присутствии смеси полезных и патогенных бактерий (как это происходит в полости рта), поскольку данный субстрат органической кислоты уже метаболизирован полезными бактериями и, таким образом, недоступен для использования патогенными бактериями. Таким образом, если рост/метаболическая активность/колонизация полезными бактериями стимулируются раньше такой же активности патогенных бактерий, то полезные бактерии смогут размножиться и оказывать подавляющее воздействие на патогенные бактерии до того, как последние получат шанс расти/размножиться.

Пример 2

[96] Изучена степень роста различных полезных и патогенных бактерий полости рта в присутствии карбоновых кислот L-аспарагиновой кислоты и янтарной кислоты, в качестве примера.

[97] Протестированные полезные бактерии полости рта представляли собой *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus gordonii*, *Carnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и *Veillonella parvula*. Протестированные патогенные бактерии полости рта представляли собой *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Streptococcus sobrinus*.

[98] Субстраты, которые были способны усилить рост (или увеличить максимальную плотность роста или степень роста) по меньшей мере одной из упомянутых выше полезных бактерий, при отсутствии или минимальном увеличении роста (или максимальной плотности роста) патогенных бактерий, рассматриваются как пребиотические соединения.

[99] Степень роста протестированных бактерий в ответ на выбранные карбоновые кислоты (L-аспарагиновая кислота, янтарная кислота) изучали, получая кривые роста в богатой питательными веществами среде (бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (БСМ), Oxoid) за 48 часов. Жидкие культуры в поздней экспоненциальной фазе роста получали, перенося соответствующую бактерию с планшетов с кровавым агаром в БСМ и инкубируя на протяжении ночи при 37°C в анаэробной атмосфере для *A. viscosus*, *V. parvula*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *A. naeslundii* и *C. sputigena*, и в среде с 5% CO₂ для *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. mutans*, *S. sobrinus* и *S. gordonii*. Ночные культуры переносили в БСМ и довели концентрацию до 1×10⁷ КОЕ/мл (колониеобразующие единицы на мл), измеряя оптическую плотность на длине волны 600 нм (OD₆₀₀) (BioRad SmartSpec 3000). Для каждого штамма, 200 мкл бактериальной суспензии помещали на 96-луночный планшет, содержащий 20 мкл соответствующих карбоновых кислот. Конечные концентрации карбоновых кислот были установлены на уровне 5, 10, 20 и 25 мкмоль/мл. Для каждой протестированной бактерии использовали также соответствующий контроль, не содержащий карбоновой кислоты. Планшеты инкубировали, как описано выше.

[100] Для каждой комбинации бактерии/карбонической кислоты, и для каждой из соответствующих контрольных сред (т.е., конкретная бактерия в богатой питательными веществами среде без карбонической кислоты), измеряли оптическую плотность на длине волны 630 нм (OD_{630}) в точках 0 часов, 24 часа и 48 часов (Thermo Scientific Multiskan

Ascent). Дополнительно, OD_{630} для комбинаций бактерии/карбонической кислоты, выращенных в среде с 5% CO_2 , измеряли каждый час между 0 часов и 9 часов. Для каждой комбинации бактерии/карбонической кислоты максимальное значение OD , полученное за период времени 48 часов, делили на максимальное значение OD , полученное для соответствующего контроля за период 48 часов, таким образом, что контрольное значение было принято за 1. Таким образом, значение выше 1 для конкретной комбинации бактерии с карбонической кислотой указывает на то, что степень роста бактерий на протяжении 48 часов была большей, чем степень роста бактерий в течение 48 часов для контроля.

[101] Эксперимент проводили в три различных дня (таким образом обеспечивая 3 биологически точные копии), причем в каждый день эксперимент проводили в четырех экземплярах (таким образом обеспечивая 4 технически точные копии) для каждой комбинации бактерии с карбонической кислотой и для каждого контроля. На протяжении каждого дня и для каждой комбинации вычисляли среднее значение (среднее), полученное (как подробно описано выше) для четырех технически точных копий, чтобы обеспечить единое значение для каждой комбинации в каждый день. Значения, приведенные в Табл. 5, 6 ниже, представляют собой среднее значение (среднее) трех одинарных значений, полученных для каждой комбинации бактерии с карбонической кислотой. Результаты приведены в Табл. 5, 6 ниже:

Таблица 5: Патогенные бактерии через 48 часов

	L-аспарагиновая кислота 25 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 20 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 10 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 5 мкмоль/мл	Янтарная кислота 25 мкмоль/мл	Янтарная кислота 20 мкмоль/мл	Янтарная кислота 10 мкмоль/мл	Янтарная кислота 5 мкмоль/мл
A actino*	0,6885	0,6806	0,7493	0,7612	0,1968	0,1940	0,4197	0,6497
F nucleatum	0,8720	0,8395	0,7973	0,7922	0,1511	0,2006	1,0196	0,9913
P gingivalis	1,0084	1,0578	1,0376	1,0608	0,4061	0,4103	0,8129	1,0091
P intermedia	1,1396	1,1438	1,1717	1,0755	0,0921	0,0944	0,4471	0,8288
S mutans	0,9149	0,9036	0,9230	0,9466	0,8448	0,8734	0,8599	0,8643
S sobrinus	0,9644	0,9458	0,9741	0,9714	0,2284	0,4744	0,8269	0,9460
T forsythia	0,9935	1,0111	0,9717	0,9947	0,8103	0,7975	0,7937	0,9040

*A actinomycetemcomitans

Таблица 6: Полезные бактерии через 48 часов

	L-аспарагиновая кислота 25 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 20 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 10 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 5 мкмоль/мл	Янтарная кислота 25 мкмоль/мл	Янтарная кислота 20 мкмоль/мл	Янтарная кислота 10 мкмоль/мл	Янтарная кислота 5 мкмоль/мл
A naeslundii	0,8435	0,9021	0,8774	0,8893	0,1840	0,2228	0,5885	0,9975
C sputigena	0,9489	0,9776	0,9529	0,9521	0,4571	0,6198	0,7668	0,9743
S gordonii	0,9466	0,9583	0,9400	0,9448	0,1860	0,2928	0,7021	0,8555
A viscosus	0,5023	0,5787	0,6163	0,6862	0,1586	0,1827	0,3693	0,5671
S salivarius	0,9943	1,0719	0,9975	0,9808	0,2197	0,2795	0,8904	1,0823
S sanguinis	0,8613	0,8622	0,8606	0,8662	0,2132	0,2724	0,6726	0,7980
V parvula	1,1498	1,1378	1,1168	1,0851	1,3566	1,4603	1,1922	1,1624
S mitis	1,1257	1,2536	1,2959	1,2333	0,1591	0,4339	0,7615	0,7273

[102] В приведенных выше данных значение 1,25 было принято в качестве порога, выше которого карбоновая кислота вызывала существенное увеличение степени роста бактерий относительно контроля. Данное значение было выбрано, чтобы исключить метаболиты с низким уровнем стимуляции и избежать ложно позитивных результатов.

[103] Как можно видеть из приведенных выше данных, L-аспарагиновая кислота продемонстрировала пребиотический эффект в концентрациях 10 и 20 мкмоль/мл, и янтарная кислота продемонстрировала пребиотический эффект в концентрациях 20 и 25 мкмоль/мл.

Пример 3

[104] Дополнительно было изучено влияние карбоновых кислот L-аспарагиновой кислоты и янтарной кислоты, в качестве примера, на рост биопленки различных полезных бактерий полости рта и патогенных бактерий полости рта.

[105] Субстраты, которые были способны увеличить массу биопленки по меньшей мере одной из упомянутых выше полезных бактерий, при отсутствии или минимальном увеличении массы биопленки патогенных бактерий, рассматриваются, как пребиотические соединения.

[106] Усиление образования биопленки протестированными бактериями в ответ на выбранные карбоновые кислоты (L-аспарагиновая кислота и янтарная кислота) было изучено с помощью анализов роста биопленки в богатой питательными веществами среде (бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (БСМ), Oxoid) за 48 часов. Жидкие культуры в поздней экспоненциальной фазе роста получали, перенося соответствующую бактерию с планшетов с кровавым агаром в БСМ и инкубируя на протяжении ночи при 37°C в анаэробной атмосфере для *A. viscosus*, *V. parvula*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *A. naeslundii* и *C. sputigena*, и в среде с 5% CO₂ для *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. mutans*, *S. sobrinus* и *S. gordonii*: Ночные культуры переносили в БСМ и доводили концентрацию до 1×10^7 КОЕ/мл (колониеобразующие единицы на мл), измеряя оптическую плотность на длине волны 600 нм (OD₆₀₀) (BioRad SmartSpec 3000). Для каждого штамма, 200 мкл бактериальной суспензии помещали на 96-луночный планшет, содержащий 20 мкл соответствующих карбоновых кислот. Конечные концентрации карбоновых кислот были установлены на уровне 5, 10, 20 и 25 мкмоль/мл. Для каждой протестированной бактерии

использовали также соответствующий контроль, не содержащий карбоновой кислоты. Дополнительно, для каждой протестированной бактерии добавляли контроль фона для коррекции с учетом фонового окрашивания. Такой контроль фона содержал тестируемую бактерию и 0,03% масс. хлоргексидина в качестве антисептика. Планшеты инкубировали, как описано выше. Через 48 часов супернатант удаляли из лунок планшета. Лунки дважды промывали 1×100 мкл ФСБ (фосфатно-солевой буфер), фиксировали в течение 20 минут с помощью 96 об. % этанола (96 об. % раствор в воде), и биопленки, оставшиеся на дне лунок, окрашивали 1% масс. кристаллическим фиолетовым (1% масс. раствор в воде). Связанный краситель растворяли 5 об. % уксусной кислотой (5 об. % раствор в воде). Количественное определение окрашенной биопленки выполняли, измеряя оптическую плотность на длине волны 630 нм с помощью устройства для считывания микропланшетов Multiskan Ascent (Thermo Scientific).

[107] Для каждой комбинации бактерии/карбоновой кислоты значение OD, полученное в точке 48 часов, делили на значение OD, полученное для соответствующего контроля после вычитания значения OD контроля фона, таким образом, что значение контроля было принято за 1. Таким образом, значение выше 1 для конкретной комбинации бактерии с карбоновой кислотой указывает на то, что рост биопленки в течение 48 часов превышал рост биопленки в течение 48 часов в контрольном эксперименте.

[108] Эксперимент проводили в три различных дня (таким образом обеспечивая 3 биологически точные копии), причем в каждый день эксперимент проводили в четырех экземплярах (таким образом обеспечивая 4 технически точные копии) для каждой комбинации бактерии с карбоновой кислотой и для каждого контроля. На протяжении каждого дня и для каждой комбинации вычисляли среднее значение (среднее), полученное (как подробно описано выше) для четырех технически точных копий, чтобы обеспечить единое значение для каждой комбинации в каждый день. Значения, приведенные в Табл. 7, 8 ниже, представляют собой среднее значение (среднее) трех одинарных значений, полученных для каждой комбинации бактерии с карбоновой кислотой. Результаты приведены в Табл. 7, 8 ниже:

Таблица 7: Патогенные бактерии через 48 часов

	L-аспарагиновая кислота 25 мкмоль/ мл	L-аспарагиновая кислота 20 мкмоль/ мл	L-аспарагиновая кислота 10 мкмоль/ мл	L-аспарагиновая кислота 5 мкмоль/ мл	Янтарная кислота 25 мкмоль/ мл	Янтарная кислота 20 мкмоль/ мл	Янтарная кислота 10 мкмоль/ мл	Янтарная кислота 5 мкмоль/ мл
A actino*	0,5553	0,4857	0,5044	0,6182	0,0581	0,0593	0,5093	0,6941
F nucleatum	0,8549	0,9621	0,9710	1,2145	0,1087	0,5404	5,3887	2,7146
P gingivalis	0,9307	1,0779	0,9936	0,9713	0,1691	0,1065	1,0031	1,0520
P intermedia	1,5442	1,6295	1,6018	1,4322	0,1442	0,0589	0,7023	0,8344
S mutans	0,0000	0,1923	0,0000	0,0000	0,9686	1,9127	0,2498	0,0053
T forsythia	0,9659	1,0055	0,9131	1,0369	0,0000	0,0000	0,0000	0,3223

*A actinomycetemcomitans

Таблица 8: Полезные бактерии через 48 часов

	L-аспарагиновая кислота 25 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 20 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 10 мкмоль/мл	L-аспарагиновая кислота 5 мкмоль/мл	Янтарная кислота 25 мкмоль/мл	Янтарная кислота 20 мкмоль/мл	Янтарная кислота 10 мкмоль/мл	Янтарная кислота 5 мкмоль/мл
A naeslundii	1,1175	1,2309	1,2585	1,1735	0,0182	0,0240	0,2490	0,7746
C sputigena	0,9785	0,9747	0,9546	0,9508	0,3202	0,2256	2,1577	2,0880
S gordonii	2,2320	2,1065	1,6702	1,3455	0,5512	1,6591	4,4978	2,3866
A viscosus	0,5289	0,5834	0,5650	0,5576	0,0622	0,0498	0,3190	0,3969
S salivarius	3,0682	2,4799	1,9207	1,4152	1,7869	0,6125	1,2358	3,7553
S sanguinis	2,0560	2,0414	1,7477	1,5035	1,9952	1,7748	2,9778	3,3955
V parvula	1,6960	1,5344	1,2799	1,1641	1,4334	1,1681	1,0118	0,9059
S mitis	1,7351	1,5402	1,6156	1,5188	0,1085	0,0851	0,1188	0,1603

[109] В приведенных выше данных, значение 1,6 было принято в качестве порога, выше которого органическая кислота вызывала существенное усиление роста био пленки бактерий относительно контроля. Данное значение было выбрано, чтобы исключить метаболиты с низким уровнем стимуляции и избежать ложно позитивных результатов.

[110] Как можно видеть из приведенных выше данных, как L-аспарагиновая кислота, так и янтарная кислота продемонстрировали пребиотический эффект в концентрации 25 мкмоль/мл.

(57) Формула изобретения

1. Применение композиции для ухода за полостью рта, содержащей карбоновую кислоту:

где кислота представляет собой монометилсукцинат для предупреждения одного или нескольких заболеваний пародонта, выбранных из группы, состоящей из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса.

2. Применение по п. 1, где карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 0,01% масс. до 10% масс. в пересчете на массу композиции для ухода за полостью рта.

3. Применение по п. 1, в котором карбоновая кислота присутствует в композиции в количестве от 5 мкмоль/мл до 30 мкмоль/мл.

4. Применение по п. 1, в котором композиция представляет собой средство для ухода за зубами, зубную пасту, гель, зубной порошок, ополаскиватель для полости рта, средство для полоскания рта, леденец, таблетку, спрей, жевательную резинку или пленку.

5. Применение по п. 1, в котором композиция дополнительно содержит по меньшей мере один вид бактерий, который оказывает благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта.

6. Применение по п. 5, в котором вид бактерий, который оказывает благоприятное влияние на состояние здоровья полости рта, выбран из *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula*, *Streptococcus gordonii*, *Carnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii* и их комбинаций.

7. Способ предупреждения одного или более заболеваний пародонта, выбранных из группы, состоящей из гингивита, пародонтита, пери-имплантита, пери-имплантного

мукозита, некротизирующего гингивита, некротизирующего пародонтита и кариеса у субъекта, причем способ включает приведение полости рта субъекта в контакт с композицией для ухода за полостью рта, содержащей эффективное количество карбоновой кислоты, где карбоновая кислота представляет собой метилсукцинат.

5

10

15

20

25

30

35

40

45