

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07K 14/47

C07K 1/34 A61K 7/16

A23J 3/10 A23L 1/30



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96106183.9

[45] 授权公告日 2004 年 2 月 4 日

[11] 授权公告号 CN 1137138C

[22] 申请日 1996. 6. 14 [21] 申请号 96106183.9

[30] 优先权

[32] 1995. 6. 16 [33] EP [31] 95201618.6

[71] 专利权人 雀巢制品公司

地址 瑞士沃韦

[72] 发明人 R·贝罗卡尔 J·-R·尼泽

P·塔汉

审查员 丁海

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠 田舍人

权利要求书 1 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 氟化胶束酪蛋白

[57] 摘要

本发明涉及制备氟化酪蛋白胶束的方法，其中至少 100ppm 的可溶性氟化物盐被加入到含胶束酪蛋白的溶液中，所氟化的胶束酪蛋白被分离出来。本发明还涉及含有效量氟化胶束酪蛋白或其胶束亚单元的用于治疗龋齿或斑牙的食品或药用组合物。

ISSN 1008-4274

1. 一种酪蛋白，其特征在于：它是氟化胶束酪蛋白。
2. 由以下方法制备的氟化胶束酪蛋白，所述方法包括：
将至少 100ppm 的可溶性氟化物盐加到含胶束酪蛋白的溶液中从而形成氟化胶束酪蛋白；
并接着分离出所产生的氟化胶束酪蛋白。
3. 按照权利要求 1 所述的酪蛋白或权利要求 2 所述的氟化胶束酪蛋白，其中所述氟化物盐是氟化钠或氟磷酸钠。
4. 一种食品或药用组合物，其特征在于含有效量氟化胶束酪蛋白或其胶束亚单元。
5. 氟化胶束酪蛋白或其胶束亚单元在制备治疗龋齿或斑牙用的组合物中的用途。

氟化胶束酪蛋白

本发明的主题是牛奶酪蛋白的氟化以及氟化酪蛋白作为治疗牙病的药剂的用途。

在保健中已有人提出用含氟盐如含氟化钠的牛奶减少龋齿的发生 (Beddows G. 等人, *Analyst*, 106, 1341-1344, 1981)。

此外, 其它研究表明大多数氟化物以游离离子的形式平衡存在于牛奶中, 只一小部分被乳钙络合。因此氟化物没有象所需的那样和乳蛋白质相络合。特别是没有和胶束酪蛋白相络合 (Beddows G 等, *J. Fd Technology*, 17, 55-62, 1982)。

此外, 已知在胶束酪蛋白溶液中, 氟盐的过量能通过由氟化物提供的额外的离子强度的作用将胶束酪蛋白分成其胶束亚单元 (Carroll 等, *J. Dairy Science*, 54, 752, 1971)。

最后, EP 604802 表明胶束酪蛋白具有抗龋齿活性, 同时 EP 283675 表明出现在酪蛋白胶束表面的 κ -酪蛋白葡糖肽也具有抗龋齿和斑牙的活性。

本发明的目的是提供能用于人及动物口腔卫生的新的胶束酪蛋白衍生物。

为此, 在按照本发明的氟化酪蛋白胶束的制备过程中, 将至少 100ppm 的可溶氟化物盐加到含酪蛋白胶束的溶液中, 并将这种氟化胶束酪蛋白分离出来。

本发明也涉及包含有效量的氟化胶束酪蛋白或其胶束亚单元的用于治疗牙病的食品或药用组合物。

最后, 本发明也涉及氟化胶束酪蛋白或其氟化胶束亚单元用于制

备治疗牙病的组合物的用途。

本发明已出乎意料地首次使得保护胶束结构的氟化胶束酪蛋白的制备成为可能。

因此氟化物可无论如何在没有破坏胶束的结构情况下与胶束结合。因此本发明和已知的科学知识相矛盾，已知知识表明氟化物依其浓度不同会破坏胶束或实际上不和乳蛋白形成络合物，乳胶束酪蛋白的情况尤其如此(Beddows G. 等, J. Fd Technology, 17 55-56, 1982)。

按照本发明的氟化胶束酪蛋白进一步和大量的氟化物络合。观察到 20 % 以上，甚至 50 % 的最初游离的氟化物与酪蛋白络合已确实成为可能，从而允许考虑将它们作为抗斑牙剂、防龋齿剂、抗牙周病剂和抗牙过敏剂用在人或动物的口腔卫生中。

进行本发明的工作可将例如来自于动物如奶牛母羊的奶或所述奶液含胶束酪蛋白的组分用作含胶束酪蛋白的溶液。但是最好保证有足量和维持胶束结构的重要化合物如柠檬酸盐存在于所述组分中，但应该指出当动物乳被微滤、超滤或 diafiltered 时，这些化合物和含胶束酪蛋白的组分相分离，并分离出端留物。

然后将至少 100ppm 的水溶性氟化物盐加到该溶液中。可溶性氟化物盐可选自例如氟化钠和氟磷酸钠。所述氟化物盐最好在 5 至 70 °C 的温度下和所述溶液混合 1 分钟至 5 小时以促进氟化物和胶束酪蛋白的络合。要制备保持了胶束结构的氟化酪蛋白，可将 100 至 2000ppm 的可溶性氟化物盐加入到所述溶液中。另一方面，如果需要制备氟化酪蛋白的胶束亚单元，可将例如 2000ppm 以上的可溶性氟化物盐加入到所述溶液中。

最后，在氟化物盐混入到动物乳中后，可通过所述乳的微量过滤、滤和/或 diafiltered 来将胶束或亚胶束氟化酪蛋白分离。最好，这种乳液在孔径约为 0.1 - 0.2 μm 的矿物膜上微滤。另一方面，在动物乳组分

已混入了氟化物盐后,可能上必进一步纯化氧化酪蛋白,因为其浓度已达到足够高的水平。

然而,通过将分离出的氟化酪蛋白的组合干燥例如喷雾干燥来制取主要由氟化酪蛋白(其中的氟已与胶束或胶束亚单元络合)组成的粉剂是有利的。

按照本发明的氟化胶束酪蛋白具有和原乳胶束酪蛋白一样的胶束立体结构。胶束和氟化物间的相互反应表现为稳定的离子反应;但是也不排除其它类型的相互作用(如物理吸附、共价键)。

和氟络合的胶束酪蛋白亚单元也具有有利的结构。这些亚单元是由聚集的与氟分子络合的酪蛋白构成的。因为它们含有 κ -酪蛋白葡糖肽,而酪蛋白葡糖肽和氟化物均已知具有防龋齿和斑牙活性,所以这些氟化胶束亚单元也潜在地具有显著的抗龋齿和斑牙活性。

因此本发明也涉及氟化胶束酪蛋白或其胶束亚单元在制备用于治疗龋齿或斑牙的组合物的用途。因此氟化胶束酪蛋白和其亚单元可在预防和/或治疗龋齿、斑牙和牙周炎和牙过敏症中使用。

为此,制备出含有效量氟化胶束酪蛋白或其亚单元的可接受的食物或药品组合物,人或动物均口服给药。

制备时,这种组合物可通过将例如至少0.1%的按本发明的氟化酪蛋白加入到食物或药品组合物中来制取。也可考虑直接将至少0.1%的含胶束酪蛋白粉和至少100ppm的可溶性氟化物盐的混合物加入到具有液体或至少是浆体稠度的食物药物用组合物中。因此按照本发明的氟化酪蛋白也可以制造食物或药品时制备。

因此按照本发明的组合物是含有效量氟化胶束酪蛋白或其亚单元的食物或药用组合物,这里所说的足量,一般是指重量的0.1 - 90%,但最好是1 - 20%,可抑制龋齿和斑牙细菌如 *Actinomyces naeslundii* 属、*Actinomyces Viscosus* 属、*Streptococcus sanguis* 属、*Streptococcus*

mutans 属和/或 *Streptococcus sobrinus* 属的细菌的附着。

按照本发明的组合物另外可依最终产品的形式和用途的不同包括本领域技术人员所熟知的常规组分。对于主要为食物的用途，所述组合物可制成糖果品如甜饮料或能被发酵的乳液。对于主要为药物的用途，所述组合物可制成如牙膏，香口胶或漱口剂。

如果制成牙膏，所述组合物可另外包括湿润剂液体、粘合剂或稠化剂、研磨料，表面活性剂和调味剂。因此所述组合物可包括例如 10 - 85 % 的湿润剂液体如乙二醇，山梨醇，丙二醇或乳糖醇糖浆， 0.1 - 10 % 的粘合剂或稠化剂如羧甲基纤维素钠、黄著胶或硅胶， 0.5 - 5 % 的不与胶束或胶束亚单元结合的表面活性剂，和至少 3 % 的研磨剂如硅石、碳酸钙、无水磷酸二钙或羟基磷灰石。

按照本发明的组合物也可包括其它可选的组分；例如防斑剂和/或杀菌剂和洗必太， 2,4,4' - 三氯 - 2' - 羟基二苯醚，锌化合物、碱金属焦磷酸盐、氟化钠或氟磷酸钠；甜味剂如糖精；不透明剂如二氧化钛；着色剂；维持适当 pH 的缓冲剂如苯甲酸或其盐。最好选择 pH 大于 5 的缓冲液以避免胶束的离解。

下面提供多个实施例以说明按照本发明的组合物和用途及其制备方法。在这些实施例中，除非另有说明，份数和百分数均以重量计。

实施例 1

通过在孔径为约 0.2 μm 的矿物膜上微滤牛奶来制备胶束酪蛋白溶液，然后将其喷雾干燥。

要测定氟在酪蛋白浮液中的分布，先制备 20 % (重量) 酪蛋白的水溶液。此外应指出该悬浮液含 200ppm 的游离钙。

将 58.25mg 氟化钠加入到 100g 酪蛋白溶液中(即 600ppm)，将该溶液搅拌一小时后在 100000g 超速离心 90 分钟。然后将离心颗粒用蒸馏

水洗涤，分散在水中后进行冷冻干燥。在胶束中保留的氟的量用 Beddows G. 等的方法(Analyst, 106, 1341-1344, 1981)测定。

在实施例 2 的表中所示结果表明 59.13 % 以氟化钠形式加入的氟被发现在超过离心时和胶束一起存在。此外，离心颗粒的颜色和均一程度表明了胶束的存在。胶束结构可通过电子显微镜来证实。已知氟化钠一般在 100000g 下不沉淀，因此结果趋向于表明包括例如物理吸附、离子交换和/共价键合等机制结合到胶束的氟化物。

这些结果和常规技术知识是矛盾的，常规知识表明氟化乳超速离心后 80 % 以上，甚至 95 % 的氟化物留在溶液中，同时氟和乳蛋白的络合受高于 10ppm 的游离钙的抑制(Beddows G. et al., J. Fd. Technology, -17 55-56, 1982)。

实施例 2

将 30g 氟磷酸钙加入到 100g 实施例 1 的胶束溶液中(即 300ppm)，将溶液搅拌一小时后在 100000g 超速离心 90 分钟。然后将离心颗粒用蒸馏水清洗，分散在水中后进行冷冻干燥。保护在胶束中的氟的量通过实施例述及的方法测定。

下表说明实施例 1 和 2 的实验结果。

实施例	1)胶束+NaF	2)胶束+NaF6F
最初溶液的重量(g)	100	100
粉末状最初胶束的重量(g)	10.108	10.097
所加入的氟化物(mg/100g 液体)	26.47	20.36
超滤后的粉状胶束	6.66	7.12
氟化物含量分析值(mg/100g 粉状胶束)	235	112
氟化物含量计算值(mg/100g 液体)	15.65	7.97
计算出的氟化物/加入的氟化物(%)	59.13	39.17

结果表明当氟化后的溶液超速离心时, 39.13 %的氟磷酸钠形式的加入的氟化物被发现和胶束一起存在。此外, 离心颗粒的颜色和均一程度也呈现胶束存在的特性。其胶束结构由电子显微镜证实。已知氟磷酸钠在 100000g 下一般不沉淀, 因此结果趋于表明了靠可能包括例如物理吸附、离子交换和/或共价键合等机制结合到胶束上的氟化物。

实施例 3

除了加入到胶束溶液中的氟化钠是 1000ppm 外, 按实施例 1 和 2 描述的方法制备氟化胶束酪蛋白粉。

实施例 4

通过将 1000ppm 的氟磷酸钠加入到消毒后的牛奶中、将牛奶在室温均化 10 分钟后在孔径为 0.2 μm 膜上将所述牛奶超滤、然后将滤渣喷雾干燥来制备氟化胶束酪蛋白粉。

实施例 5

制备氟化胶束酪蛋白亚单元粉, 步骤为: 将消毒后的牛奶在孔径约 0.2 μm 的矿物膜上微滤, 然后将滤渣用水稀释而获得含胶束酪蛋白 20 % 的溶液。在该溶液中加入 300ppm 的氟化钠, 均化几分钟后喷雾干燥。这些得到的粉可有利地用于制备治疗牙病的食品和药品组合物。

要证实氟化胶束亚单元的存在, 先制备含氟化胶束亚单元粉 20 % 的溶液, 然后在 100000g 下离心。离心颗粒的颜色和稠度呈现出胶束解离成其亚单元的特征。这种微粒结构可通过电子显微镜证实。此外, 离心颗粒可用蒸馏水洗涤, 分散在水中, 冷冻干燥后分析其氟含量。

其结果表明这些获得的粉氟含量特别高。

实施例 6

制备去除牙垢和预防龋齿的牙膏。所述牙膏含 5 % 碳酸钙、10 % 硅石气溶胶(Gasil23)、40 % 山梨醇浆、1 % 羧甲基纤维素钠、6.5 % 在实施例 4 中获得的氟化酪蛋白粉、0.2 % 糖精钠、1 % 二氧化钛、0.04 % 福尔马林、1 % 调味剂，其余部分为水。

实施例 7

除了 5 % 的氟化酪蛋白胶束粉用 5 % 在实施例 5 中获得的酪蛋白胶束亚单元粉代替外，制备和实施例 5 所述的同样的牙膏。

实施例 8

制备用于预防龋齿和治疗牙周病和牙过敏症的漱口剂。这种漱口剂含 10 % 在实施例 4 中获得的氟化酪蛋白胶束粉，0.1 % 苯甲酸、0.2%糖精钠、0.1 % 喹啉黄、0.15 专利蓝、3 % 95 % 的乙醇。其余为水。