

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 33/10 (2006.01)

A61P 1/02 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510072735.6

[45] 授权公告日 2007 年 3 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1305530C

[22] 申请日 1997.3.4

[21] 申请号 200510072735.6

分案原申请号 97196996.5

[30] 优先权

[32] 1996.3.5 [33] US [31] 08/611,206

[73] 专利权人 纽约州立大学研究基金会

地址 美国纽约

[72] 发明人 I·克莱伯格 A·M·阿克威多

R·查特杰

[56] 参考文献

4259316A 1981.3.31

US4154813A 1979.3.15

US4064138A 1977.12.20

EP0569666A2 1993.11.18

US3932608A 1976.1.13

US4528181A 1985.7.9

CN1094309A 1994.11.2

US3943241A 1976.3.9

审查员 田丽丽

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 4 页 说明书 20 页 附图 3 页

[54] 发明名称

抗龋齿口腔用组合物

[57] 摘要

本发明涉及含有分布在口腔载体内的抗龋剂的口腔用组合物。特别是,本发明提供了含有分布于口腔用载体内的钙、精氨酸和止龋阴离子的口腔组合物。本发明还提供了一种制备含抗龋剂的口腔用组合物的方法。本发明还提供了一种包括将有效治疗量的含钙、精氨酸和止龋阴离子在内的口腔组合物释放到口腔内的减少龋齿的方法。

1.一种口腔组合物，其中包括分布在口腔用载体内并以足够减少龋齿的量存在的钙、精氨酸和止龋阴离子，其中精氨酸以盐或游离氨基酸形式提供。

2.权利要求1中的口腔组合物，其中止龋阴离子选自由碳酸氢盐、碳酸盐、甘油磷酸盐、肌醇六磷酸盐和肌醇磷酸盐衍生物组成的一系列物质。

3.权利要求1中的口腔组合物，其中钙以盐形式提供，并选自由碳酸钙、碳酸氢钙和有机磷酸钙组成的一系列物质。

4.权利要求1中的口腔组合物，其中精氨酸以盐形式提供，并选自由碳酸氢精氨酸、碳酸精氨酸和有机磷酸精氨酸组成的一系列物质。

5.权利要求1中的口腔组合物，其中该口腔组合物进一步含有有效治疗量的氟化物。

6.权利要求1中的口腔组合物，其中该组合物含有 $5\mu\text{g}/\text{mg}$ - $700\mu\text{g}/\text{mg}$ 量的精氨酸。

7.权利要求1中的口腔组合物，其中该口腔组合物含有 $5\mu\text{g}/\text{mg}$ - $200\mu\text{g}/\text{mg}$ 量的钙。

8.权利要求1中的口腔组合物，其中该口腔组合物含有一种或多种的 $5\mu\text{g}/\text{mg}$ - $200\mu\text{g}/\text{mg}$ 量的止龋阴离子。

9.权利要求1中的口腔组合物，其中该口腔组合物为护齿产品。

10.权利要求 1 中的口腔组合物，其中该口腔组合物为食品。

11.权利要求 1 中的口腔组合物，其中该口腔组合物为口香糖。

12.一种制备权利要求 1 所述口腔组合物的方法，该方法包括下列连续步骤：

a)用充足量的气态二氧化碳或干冰滴定氢氧化精氨酸溶液以形成碳酸氢精氨酸溶液；和

b)用充足量的碳酸钙滴定所述碳酸氢精氨酸溶液以形成碳酸氢/碳酸精氨酸钙复合物。

13.一种制备权利要求 1 所述口腔组合物的方法，该方法包括下列连续步骤：

a)用氢氧化精氨酸溶液滴定有机正磷酸盐溶液以生成有机正磷酸精氨酸复合物；和

b)用足够量的饱和氢氧化钙滴定所述有机正磷酸精氨酸复合物以形成正磷酸精氨酸钙复合物。

14.一种制备权利要求 1 所述口腔组合物的方法，该方法包括下列连续步骤：

a)用足够量的氢氧化精氨酸在适宜条件下滴定肌醇六磷酸溶液以生成肌醇六磷酸精氨酸复合物；和

b)用足够量的碳酸钙滴定所述肌醇六磷酸精氨酸复合物以形成碳酸肌醇六磷酸精氨酸钙复合物。

15.一种制备权利要求 1 所述口腔组合物的方法，该方法包括下列连续步骤：

a)用足够量的氢氧化精氨酸在适宜条件下滴定肌醇六磷酸溶

液以形成肌醇六磷酸精氨酸复合物；和

b)用饱和氢氧化钙滴定所述肌醇六磷酸精氨酸复合物以形成肌醇六磷酸精氨酸钙复合物。

16.权利要求 1 中的口腔组合物，其中的 pH 介于 5 和 9 之间。

17.权利要求 1 中的口腔组合物，其中精氨酸以抗龋复合物形式提供。

18.权利要求 17 中的口腔组合物，其中抗龋复合物为肌醇六磷酸精氨酸钙复合物。

19.权利要求 17 中的口腔组合物，其中抗龋复合物为碳酸氢/碳酸精氨酸钙复合物。

20.权利要求 1 中的口腔组合物，其中的 pH 范围为 6 至 9。

21.权利要求 20 中的口腔组合物，其中的 pH 范围为 7 至 8。

22.权利要求 1 中的口腔组合物，其中的 pH 被维持在 5 至 9 的范围。

23.权利要求 22 中的口腔组合物，其中的 pH 被维持在 6 至 9 的范围。

24.权利要求 23 中的口腔组合物，其中的 pH 被维持在 7 至 8 的范围。

25.权利要求 1、5、6、7、8、9、10、11、16、19、20、21、22 和 23 任一项的口腔组合物，其中所述口腔组合物含有碳酸钙、精氨酸和

肌醇六磷酸盐。

26.权利要求 1、5、6、7、8、9、10、11、16、19、20、21、22 和 23 任一项的口腔组合物，其中所述口腔组合物含有碳酸钙、精氨酸和碳酸氢盐。

27.权利要求 1 的口腔组合物在制备预防龋齿的药物中的用途。

28.含有权利要求 1 中所述分布在口腔用载体内的组合物的制品。

抗龋齿口腔用组合物

本发明是1997年3月4日递交的申请号为97196996.5、发明名称为“抗龋齿口腔用组合物”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

龋齿是一种当口腔生龋细菌将单糖和复合糖代谢为导致牙釉质溶解的酸而造成龋斑或空腔时发生的多因性疾病。本发明提供一种包含介于口腔用载体内的抗龋剂的口腔组合物。具体地说，本发明公开了在口腔用载体内含有钙、精氨酸和止龋阴离子的组合物。本发明还描述了制备含抗龋剂的口腔组合物的方法。同时也公开了包括将有效治疗量的含钙、精氨酸和止龋阴离子释放到口腔内以减少龋齿的方法。

背景技术

自Miller于1890年首先揭示口腔细菌在碳水化合物发酵过程中所产酸是造成牙齿脱矿质和引起牙齿龋化过程的主要诱因的事实后，已有大量针对延缓和预防牙齿脱矿质作用的研究。Miller.W.D (1890)的“人体口腔微生物”由Karger, Basel再版于1973年，Miller将龋齿的形成描述成一个两步进程。在第一步中，口腔细菌，主要为革兰氏阳性菌，将口腔内存在的发酵性碳水化合物代谢为酸。第二步，口腔细菌所产酸将牙釉质、牙质和/或牙骨质脱矿质，因而造成牙冠或牙根的龋斑或空腔。

Miller所述过程第一步中被口腔细菌代谢的可发酵碳水化合物主要来自食物。葡萄糖是从食物碳水化合物中获得的主要糖。它是蔗糖、麦芽糖、乳糖和淀粉的单糖组分。对口腔细菌纯培养物的研究揭示了发酵过程中革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌更易将葡萄糖发酵。该发酵作用可被人为地分成主产物为乳酸的同型发酵或除乳酸外生成大量包括甲酸、乙酸、丙酸和琥珀酸以及乙醇和二氧化碳在内的产物的异型发酵。Plarr和Foster(1958)，细菌杂志，75: 453 - 459。

研究人员已在减少齿斑微生物产酸的尝试中取得不同程度的成功。如 Jenkins G.N. (1978) *口腔生理学和生物化学*, 第4版, 牛津, 英国, Blackwell, 414 - 500 页。这些方法包括试图 (i) 减小对饮食来源的可发酵碳水化合物的利用率; (ii) 减少齿斑量以及齿斑内产酸菌数目; (iii) 用特定细菌进行干扰; (iv) 利用细菌糖酵解来干扰齿斑菌从碳水化合物产酸的代谢过程; (V) 中和糖酵解过程中形成的酸; 以及 (Vi) 利用齿斑菌来刺激碱的形成, 主要来源于脲和精氨酸, 以拮抗龋化过程中的特征性产酸作用。Kleinberg 等人 (1979) 的“口腔混合菌的氮代谢”, 刊于 *唾液和牙齿龋化* (由 Kleinberg 等编辑), 第 357 - 377 页, Information Retrieval, Washington D.C. 然而上述方法在减少龋齿中却有着局限性。

科研人员在通过对抗 Miller 龋齿形成过程的第二步以减少或预防龋齿中取得很显著的进展, 换言之, 利用氟化物降低牙釉质溶解性从而减少牙釉质矿物质的溶解。许多研究都提出了已被验证能够抑制齿斑菌所产酸导致的牙釉质溶解的治疗剂, 并证明氟化物为最有效的治疗剂。Newburn (1986) *氟化物和龋齿*, 第3版, Springfield, Illinois, Charles Thomas. 氟化物被认为能够通过降低溶解速率、增强再矿化以及改变作为牙釉质、牙骨质和牙质最主要组分 - 磷酸钙的溶解性产物来抑制齿斑酸所致的牙釉质溶解。退一步而言, 氟化物也能够作用于细菌的糖转运和糖酵解过程。Hamilton (1969) *加拿大微生物杂志*, 15: 1021 - 1027。

虽然许多治疗剂的防龋齿功效已被确认, 但龋齿发生率仍保持在无法接受的高水平, 尤其是在第三世界国家以及患有唾液缺失症的个体特别是成年唾液抑制症患者。常规治疗剂无法充分延缓牙齿龋化的失败原因之一在于: 这些牙齿治疗剂基本集中作用于 Miller 牙齿龋化过程的第二步, 而无法提供能够满足牙齿龋化为多因性疾病并需要综合方式治疗这种客观事实要求的治疗剂。所以, 使用氟化物来降低牙釉质溶解性仅能对牙齿龋化产生约 20 - 40% 的有限抑制率并不令人感到奇怪。迄今还未尝试开发可以同时影响酸生成和牙釉质脱矿质过程的药剂。

本发明缓解了现有防龋齿治疗剂所存在的许多问题。特别是,

本发明提供的口腔用组合物竞争 Miller 所述两个阶段的牙齿龋化过程。具体而言，本文所述止龋口腔组合物含有治疗量的钙、精氨酸和止龋阴离子。这些化合物可以相互作用并成为抗龋复合物。

精氨酸能促进齿斑菌生成碱以及在齿斑内生成碱的微生物系统的繁殖。Kanapka 和 Kleinberg (1983) *Archs.oral Biol.*28,1007-1015。产自精氨酸的碱性化合物中和了多种齿斑菌所生成的酸，而不论氨基酸是游离的还是来自肽或蛋白，尤其是唾液。Kleinberg 等 (1979) 的“口腔混合菌的氮代谢”，刊于唾液和牙齿龋化 (由 Kleinberg 等编辑)，第 357-377 页，Information Retrieval, Washington D.C。因此，本发明口腔用组合物中的精氨酸组分拮抗 Miller 氏过程的第一阶段。

钙是本发明口腔用组合物的另一组分。它通过浓度作用来抑制牙釉质的溶解并减少因被酸侵袭而从牙釉质释放出的钙量。在酸溶解过程中，钙先于磷酸根从牙釉质、牙质和其它含磷酸钙组织内释放出来。因此，本发明组合物的钙组分拮抗 Miller 氏龋化过程的第二阶段。

本发明口腔用组合物的止龋阴离子可影响龋化过程的两个阶段。止龋阴离子可以(i)提供能促进精氨酸的酸中和活性以及中和酸本身的缓冲性能，(ii)提供一种有机磷酸根源作为表面覆被或“抑制剂”或用于通过齿斑菌水解而释放有机正磷酸根（其抑制牙齿溶解并促进牙齿再矿质化），或者(iii)以上两种作用。与常规口腔用组合物不同的是，本发明的口腔用组合物含有通过在 Miller 龋齿形成过程的两个阶段影响龋斑形成从而明显降低牙齿龋化的组分。

发明内容

本发明涉及含有分布于口腔用载体内的治疗量的钙、精氨酸和止龋阴离子的口腔组合物。在一个优选实施方案中，该口腔组合物附加有氟化物。

本发明进一步涉及制备含有抗龋化剂的口腔组合物的方法。

本发明的另一方面涉及抑制牙齿龋化的方法，该方法包括将有效治疗量的含钙、精氨酸和止龋阴离子的口腔用组合物传递至口腔内。在一个优选实施方案中，上述方法所用的口腔组合物中还含有

氟化物。

附图说明

附图 1.表示用含有一系列肌醇六磷酸精氨酸钙 (CAP) 复合物的 5.6mM 葡萄糖培养的唾液沉淀物的 pH 响应值。止龋阴离子为肌醇六磷酸根并且钙和精氨酸是相对应变化的。肌醇六磷酸精氨酸被认为是钙浓度为零的 CAP 复合物。空白对照包括单独使用肌醇六磷酸和单独使用精氨酸的培养混合物。在此糖浓度下,观测到体内齿斑 pH 响应值的一种情况。

附图 2.表示用含有一系列 CAP 复合物的 28.0mM 葡萄糖培养的唾液沉淀物的 pH 响应值。止龋阴离子为肌醇六磷酸根并且钙和精氨酸相对应地改变。肌醇六磷酸精氨酸被认为是零钙浓度的 CAP 复合物。空白对照包括分别单独使用肌醇六磷酸和精氨酸的培养混合物。在此糖浓度下,观测到体内齿斑 pH 响应值的第二种情况。

附图 3.表示在钙、精氨酸和止龋阴离子加入培养混合物之前 3 小时和之后 3 小时时用 11.2mM 葡萄糖培养的唾液沉淀物的 pH 响应值。所加止龋阴离子是碳酸盐/碳酸氢盐。空白对照包括碳酸钙、碳酸氢精氨酸和两者皆无。

本发明涉及包含分布在口腔用载体内的抗龋剂的口腔组合物。特别是,本发明公开了含有分布于口腔用载体内并达到治疗量的钙、精氨酸和止龋阴离子的口腔组合物。术语“止龋”是指能够延缓或预防包括龋斑脱矿质作用在内的牙齿龋化的试剂。正如本文所述,止龋阴离子是能够增强钙和精氨酸抗龋活性的生物适用性阴离子。能够提高抗龋活性的阴离子实例包括:例如,那些加至含钙和精氨酸组合物中、能够产生比不含有止龋阴离子在内的相同口腔组合物更良好的龋化延缓功效和预防作用的阴离子。生物适用性阴离子为口服给予哺乳动物并不产生副作用的阴离子。止龋阴离子的具体实例包括:例如,碳酸氢盐、碳酸盐、甘油磷酸盐、肌醇六磷酸盐及其肌醇磷酸盐衍生物,等等。

可接受的口腔用载体包括,例如,任何常规口腔用释放体系,如护齿产品、食品和口香糖。护齿产品的例子包括:诸如牙粉、洁

齿液或牙膏，液体、粉末、凝胶或片剂形式的漱口剂，以及牙线。含有本发明口腔组合物的食品的实例包括，如锭剂和糖果。

本发明所定义的钙、精氨酸和止龋阴离子的治疗量是指这些抗龋剂足以中和齿斑代谢碳水化合物所产酸并同时减少牙釉质脱矿质或增强再矿化的用量。例如，洁齿剂中可含有 0.5 - 4% (V/V) 并优选 1 - 3% (V/V) 的抗龋剂量；漱口剂可含有 0.5 - 3.5% (V/V) 并优选 1 - 3% 的抗龋剂。

在一个优选实施方案中，口腔组合物含有 5 μ g/mg - 200 μ g/mg 的钙、5 μ g/mg - 700 μ g/mg 的精氨酸和 5 μ g/mg - 600 μ g/mg 的肌醇六磷酸或 5 μ g/mg - 200 μ g/mg 的碳酸氢盐或 5 μ g/mg - 200 μ g/mg 的碳酸盐。在一个更优选的实施方案中，口腔组合物进一步含有 200 - 1500ppm 的氟化物。

本发明进一步描述了含抗龋剂的口腔组合物的制备方法。具体地说，本发明描述了制备在口腔用载体内含有治疗量的钙、精氨酸和止龋阴离子的口腔组合物的方法。口腔组合物的制备方法取决于所用口腔用载体和对抗龋剂溶解性的要求。在一个实施方案中，可首先用精氨酸游离碱（例如氢氧化精氨酸）滴定止龋阴离子的酸形式并随后再用氢氧化钙滴定。在另一实施方案中用氢氧化精氨酸以及一种或多种含钙化合物（例如碳酸钙）将止龋阴离子的酸形式滴定至口腔组合物所需 pH 值。也可通过将抗龋阴离子滴定至口腔组合物所需 pH 来制备抗龋剂。将所得组合物干燥并加入粉末形式的钙并与组合物充分混合。当抗龋阴离子与钙形成可溶性盐，则继加入钙之后可再加入精氨酸。当抗龋阴离子为碳酸氢根或碳酸根时，抗龋组合物的制备需首先使用精氨酸而非钙来滴定碳酸氢根或碳酸根而这是由于碳酸钙的溶解度低而碳酸氢精氨酸盐的溶解度高。

可首先从氢氧化精氨酸并通过二氧化碳气泡的通入或通过向精氨酸游离碱溶液加入过量干冰来制备碳酸氢精氨酸。可加入钙作为口腔组合物的钙组分。用于形成本发明口腔组合物的含钙化合物的优选实例包括，例如，可溶性有机磷酸钙、低溶解性的有机磷酸钙或碳酸钙。碳酸钙是口腔用载体为牙粉时的优选方案。而碳酸钙是

已知的磨光剂。

本发明口腔组合物中的抗龋剂可相互作用从而生成复合化合物。例如，当止龋阴离子为肌醇六磷酸根时，钙和精氨酸可与肌醇六磷酸根结合并生成肌醇六磷酸精氨酸钙复合物（CAP复合物）。

除抗龋剂之外，本发明所述口腔组合物可含有特定口腔用载体的任何常规组分。例如，液体漱口剂可包含：溶剂，如蒸馏水或去离子水、醇等；甜味剂，例如糖精、天冬甜精等；矫味剂，例如薄荷油、留兰香油等。牙膏或牙用凝胶可含有：例如，水、甘油或山梨糖醇；标准含量为 20 - 60 %（重量）的常规磨料，如焦磷酸钙、氢氧化铝、树脂、不溶性偏磷酸碱金属盐以及类似物；标准含量为 0.5 - 5.0 %（重量）的粘合剂，例如羟乙基纤维素、黄原胶、羧甲基纤维素钠；标准含量为 0.5 - 3.0 %（重量）的发泡剂，例如十二烷基硫酸钠、椰油基单甘油酯磺酸钠、N - 甲基 - N - 棕榈酰基牛磺酸（tauride）钠等；矫味剂；甜味剂；防腐剂和特定制剂所需的任何其它组分。除抗龋剂外，牙粉可含有常规磨料和矫味剂。片剂和粉末可含有，例如，载体，如乳糖、麦芽糖等；粘合剂，如玉米淀粉、羧甲基纤维素等；以及崩解剂。

本发明所述口腔组合物可用于口腔而不造成脱钙，否则会损伤牙釉质。口腔组合物的 pH 通常介于约 6.0 - 约 9.0。在一个实施方案中，口腔组合物的 pH 介于约 7.0 - 约 8.0。此处所述口腔组合物的 pH 可用例如盐酸的酸和例如氢氧化钠的碱来调控。

本发明还公开了包括将本发明的有效治疗量口腔组合物释放到口腔内的减少龋齿的方法。本发明所定义的口腔组合物有效治疗量是指：能够通过减少或中和齿斑因代谢碳水化合物而产生的酸并同时通过提供钙离子浓度作用来抑制牙齿溶解或增加再矿质作用以使牙釉质、牙骨质和牙质脱矿化作用减少从而达到延缓和预防牙齿龋化的口腔组合物用量。例如，按照本发明方法释放的洁齿剂可含有 0.5 - 4 % 并优选 1 - 3 % 的抗龋剂。漱口剂可含有 0.5 - 3.5 % 并优选 1.0 - 3.0 % 的抗龋剂。

在不受任何理论约束下，据信在止龋阴离子为有机磷酸根时，止龋阴离子可通过在牙釉质上提供表面抑制剂并水解生成以浓度作用方式

抑制牙釉质溶解的正磷酸根来减轻牙齿脱矿质作用。在止龋阴离子为碳酸氢根或碳酸根的情况中，碳酸氢根或碳酸根阴离子被确认为能够以三种方式减轻脱矿质作用。第一种是通过提供缓冲作用来减少齿斑和牙齿表面中造成牙矿物质溶解的酸量。第二种是通过将 pH 保持在接近齿斑菌的最佳精氨酸降解 pH 值（在 7.0 和 8.0 之间）来增强精氨酸的酸中和能力。第三种是通过降低中和酸时的二氧化碳浓度并生成氢氧化钙来使牙釉质再矿化。

本发明还提供了包括包装材料和置于所述包装材料中的本发明口腔组合物的产品，其中该口腔组合物能有效延缓或预防牙齿龋化并且其中包装材料带有说明该口腔组合物可有效延缓或预防牙齿龋化的标签。口腔组合物所用的包装材料可以包括玻璃、塑料、金属或其它适当的惰性材料。例如，含本发明口腔组合物的洁齿剂可被包装在牙膏管内，典型的有铝，内衬铅，或塑料或挤压泵或加压分配器，可将内容物定量给出，或在可撕开小袋内。

为进一步说明本发明，我们完成了下列实施例中的试验。应当理解的是本发明不受到具体实施例或本文所说细节的限制。实施例中的试验结果在附图和附表中列出。

具体实施方式

实施例 1

本实施例描述一种制备适宜本发明的含肌醇六磷酸精氨酸和肌醇六磷酸精氨酸钙的抗龋剂的方法。这些抗龋剂还是指肌醇六磷酸精氨酸钙 (CAP) 盐。在第一步中，从肌醇六磷酸钠、利用经 Kaufman 和 Kleinberg (1971) 在 Archs Oral Biol.16:445-460 中改进的 Harrison 和 Mellanby 方法 (1939) 来制备肌醇六磷酸。这些文献中的方法在此引入作为参考。

将约 100g 的肌醇六磷酸钠或钙（购自 Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio）溶解于 200ml 蒸馏水中并用浓盐酸将 pH 调至 1.0。随后加入氯化铁 (0.26M)，生成了肌醇六磷酸铁的白色沉淀。通过离心分离出液相中的沉淀并随后弃去上清液。用约 1.5L/次的蒸馏水洗涤沉淀物 3 次。将沉淀悬浮在蒸馏水中并用 NaOH 将溶

液 pH 调至 11.0 和 12.0 的范围内。生成氢氧化铁的絮凝沉淀物。在 1600g 下离心 20 分钟以沉积出沉淀物。倾出上清液并用 0.1N NaOH 洗涤沉淀物 1 次。将洗涤液和上清液合并，再重复两次上述沉淀过程。

随后使肌醇六磷酸钠溶液通过 Dowex 阳离子交换树脂（BioRad 50W-x8, 100-200 目， H^+ 型，购自 Calbiochem, Los Angeles, California），使肌醇六磷酸盐转化为肌醇六磷酸。从对无机磷和总磷的分析得出：肌醇六磷酸浓度为 0.011M，同时无机正磷酸（P1）浓度为 0.002M 并且该浓度约占总磷浓度的 3 %。

利用下述方法可将 P1 所示的以总磷计的百分率从总量的百分之 3 降低至百分之 0.1。使一等份，通常为 20ml 的 0.011M 肌醇六磷酸储备液，流经装有 Dowex 阴离子交换树脂（BioRad AG 1- $\times$ 8, 200-400 目， Cl^- 型，购自 Calbiochem, Los Angeles）的玻璃柱（1.0 $\times$ 30cm）。首先是用 50ml 的 0.25M LiCl 将 P1 洗脱下来；随后用 40ml 的 1.0M LiCl 洗脱出肌醇六磷酸根。

冻干肌醇六磷酸级分并用 5ml 无水甲醇洗涤残余物 6 次以除去级分中的 LiCl。在通气蒸发下除去剩余甲醇。残余肌醇六磷酸根以肌醇六磷酸锂盐存在，随后将该盐溶解在蒸馏水中。

使肌醇六磷酸锂经过内含 Dowex 阳离子交换树脂（50 - x8, H^+ 型）的玻璃柱（1.0 $\times$ 30cm）并用 20ml 蒸馏水洗脱，使肌醇六磷酸锂转化为肌醇六磷酸。冻干洗脱物以得到浓缩肌醇六磷酸并除去残余 HCl。将残余物溶解并冻干 6 次以确保 HCl 的完全除去。

对所得肌醇六磷酸水溶液中无机磷和有机磷的分析表明：肌醇六磷酸的摩尔浓度为 59.3mM。无机磷的摩尔浓度为 3.8mM。在此浓度时，以无机磷形式存在的仅为总磷的 1.05 %。

进一步将 10ml 肌醇六磷酸用氢氧化精氨酸（0.5M）滴定至 pH 为 7.0。逐步加入氢氧化精氨酸以反复进行滴定，从而分离出等摩尔分步量的肌醇六磷酸等份。这是由于精氨酸在准备试验中表现出令人惊奇的类似于一价的特性。

为制备肌醇六磷酸精氨酸钙盐，首先利用上述分步量的精氨酸来制

备肌醇六磷酸精氨酸盐。然后用浓度为 0.02M 的新制饱和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 滴定肌醇六磷酸至 pH 为 7.0。被滴定液的 pH 在各滴定试验中都用玻璃-甘汞混合电极进行测定。

制备肌醇六磷酸精氨酸和肌醇六磷酸精氨酸钙后,将化合物冷冻干燥 36 小时至干燥 (Virtis 冻干器, Virtis, Gardiner, 纽约)。分析所有化合物的无机磷及有机磷和总氮量并分析肌醇六磷酸精氨酸钙的钙。

各化合物中的精氨酸含量是在经硫酸-过氧化物消化 (如 Singer 和 Kleinberg (1983), Archs. oral Biol. 28:873-878 所述) 后根据 Nessler 氏方法测得的氮浓度来确定的。该文献在此引入作为参考。

肌醇六磷酸精氨酸钙化合物中的含钙量是用 Perkin-Elmer 330 原子吸收分光光度计和用于原子吸收分光光度计分析方法的 Perkin-Elmer 手册进行分析测定的。

无机磷和有机磷的含量按照 Chen 等人 (1956) 在分析化学, 28: 1756 - 1758 (在此引入作为参考) 中所述方法进行测定, 简单而言, 各化合物中的无机磷是通过向化合物水溶液中加入钼酸铵水溶液再加入硫酸后用分光光度计在 600nm 下测定显色来确定的。有机磷的含量是在将化合物用高氯酸和硫酸水解后以相同的方式进行测定。

为分析钙、磷和氮, 将 0.2mg 的每种化合物溶解在蒸馏水中。当溶解完全后, 在分析前, 在 Beckman 152 Mirofuge 中于 9,000g 下离心 5 分钟以沉淀悬浮液。将沉淀溶于 pH 为 4.0 的乙酸中并进行同样的分析。虽然所有组合物皆易溶于酸, 但仍需对各组合物中性制剂的溶解组分/不溶组分进行两步分析。

由于肌醇六磷酸为多价化合物, 所以能以多种比例携带作为阳离子的精氨酸和钙。复合物中结合的钙越多, 复合物将更不易溶, 而复合物结合的精氨酸越多, 复合物将更易溶 (参见表 1 - 4)。

表 1.不同摩尔比例钙/精氨酸/肌醇六磷酸
的 CAP 盐沉淀出现时的 pH 值和高于此值的 pH

化合物	沉淀 pH
CAP ₀	***
CAP ₁	***
CAP ₂	6.80
CAP ₃	6.09
CAP ₄	5.62
CAP ₅	5.00

*** 至少在高达 pH 7.0 时无沉淀。该类滴定试验中导致沉淀的 pH 越低，盐的溶解度越小。

表 2. 制得的肌醇六磷酸精氨酸和 5 种不同 CAP 盐的钙含量。
结果是 3 个分析值 $\pm$ SEM 的平均值

化合物	钙 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ CAP 组合物的干重)		
	上清液	沉淀物	总和 + ppte
CAP ₀	0.0	***	0.0
CAP ₁	11.1 $\pm$ 0.3	***	11.1
CAP ₂	13.2 $\pm$ 1.3	11.6 $\pm$ 1.9	24.8
CAP ₃	17.4 $\pm$ 1.3	29.5 $\pm$ 2.2	47.0
CAP ₄	14.9 $\pm$ 1.3	38.6 $\pm$ 2.2	53.5
CAP ₅	10.3 $\pm$ 0.7	144.7 $\pm$ 0.0	155.0

*** 无沉淀

表 3. 制得的肌醇六磷酸精氨酸和 5 种不同 CAP 盐的精氨酸含量。
结果是 3 个分析值 $\pm$ SEM 的平均值

化合物	精氨酸 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ CAP 组合物的干重)		
	上清液	沉淀物	总和 + ppte
CAP ₀	681.8	***	681.8
CAP ₁	681.8 $\pm$ 12.4	***	681.8
CAP ₂	524.8 $\pm$ 3.4	0.0	524.8
CAP ₃	472.4 $\pm$ 4.9	5.2 $\pm$ 1.7	477.7
CAP ₄	372.8 $\pm$ 4.6	8.8 $\pm$ 1.3	381.5
CAP ₅	192.3 $\pm$ 4.8	41.4 $\pm$ 0.5	233.7

*** 无沉淀

表 4. 制得的肌醇六磷酸精氨酸和 5 种不同 CAP 盐的肌醇六磷酸含量。结果是 3 个分析值 $\pm$ SEM 的平均值

化合物	肌醇六磷酸 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ CAP 组合物的干重)		
	上清液	沉淀物	总和 + ppte
CAP ₀	307.6	***	307.6
CAP ₁	307.6	***	307.6
CAP ₂	292.9	0.0	292.9
CAP ₃	290.7	59.6	350.3
CAP ₄	231.9	96.8	328.7
CAP ₅	180.1	315.2	495.3

*** 无沉淀

实施例 II

本实施例描述一种制备适宜本发明的碳酸氢精氨酸钙/碳酸钙口腔用组合物。在第一步中，碳酸氢精氨酸的制备是通过将 15g 精氨酸游离碱(氢氧化精氨酸)溶解在 100ml 蒸馏水中并且所得溶液的 pH 为 10.5，然后加入气体形式或固体形式(干冰)的二氧化碳直至 pH 降至 8.5。

在此 pH 值下, 氢氧化精氨酸全部转化为碳酸氢精氨酸。当加入干冰时, 应使其以连续片体形式插入氢氧化精氨酸溶液中直至使氢氧化精氨酸转化为碳酸氢精氨酸。然后通过常规技术干燥碳酸氢精氨酸溶液。最后, 将碳酸钙粉末按照具体制剂所需要的配比与碳酸氢精氨酸粉末混合从而制成碳酸氢/碳酸精氨酸钙组合物, 例如, 一份碳酸钙粉末和一份碳酸氢精氨酸粉末混合。

实施例 III

本实施例证实了本发明所述肌醇六磷酸精氨酸钙对体内牙釉质脱矿化的延缓能力。具体而言, 本实施例表明肌醇六磷酸精氨酸钙对用口腔细菌和糖源培养的分离的白齿的脱矿化具有延缓作用。

将白齿在 Kleinberg 等人(1973), *Archs. oral Biol.*, 18:787-798 中研制的刺激口腔内混合微生物代谢模型中进行培养。该模型使用在唾液沉积物内的口腔混合细菌。所用唾液沉积物模型被该领域技术人员看作是口腔常见 pH 变化类型的有效替代物并在龋齿形成中十分重要。

为收集唾液沉积物, 将咀嚼石蜡刺激的唾液吐至用碎冰猝冷的试管中。在收集唾液前, 唾液提供者至少禁食 12 小时并在 24 小时内不刷牙。提供者被指示在至少 12 小时内禁食为的是提供含有最低水平外源碳水化合物的刺激的全唾液。Kleinberg 和 Jenkins (1964), *Archs. oral Biol.*, 9:493-516。在收集后, 将唾液在 1740g 下离心 15 分钟并进一步将上清液吸除。然后, 用冰冷的蒸馏水将沉积物洗涤 3 次以除掉任何残余唾液上清液。经洗涤的唾液沉淀用碎冰速冻直至进行分析试验。

试验还需制备人白齿的一些部分。首先将恒白齿储存在蒸馏水中而不使其产生显微裂纹, 将颌、颊或舌表面的腐蚀仔细地用旋转橡皮套浮石磨净。擦净后, 沿中末端方向、用带有被 1% 气溶胶 TO 溶液 (Fisher Scientific, Springfield, NJ) 冷却的圆形金刚石锯条的低速锯 (Buehler Isomet, Buehler LTD., Evanston, IL) 将各牙齿竖直剖开。得到介于 300 - 500 μ m 的切片。将根部切除, 用漆将牙质和任何脱矿区域覆盖, 仅暴露出完好的牙釉质。

在制得唾液沉积物和牙釉质部分后可进行脱矿化试验。在样品培养和试验前,将经洗涤的唾液沉积物再悬浮于蒸馏水中直至最终浓度达到 50 % (v/v)。为进行验证 pH 应答的初步试验,在含有 16.7% (v/v) 沉积物、 5.6 或 28.0mM 葡萄糖和终浓度为 3.0mM 的肌醇六磷酸精氨酸或肌醇六磷酸精氨酸钙的 10 × 75mm 试管内培养混合物 (600 μ l)。空白对照包括含有 (1) 沉积物和葡萄糖, (2) 沉积物、葡萄糖和肌醇六磷酸钠 (3.0mM) 以及 (3) 某些试验中,沉积物、葡萄糖和精氨酸的培养混合物。当齿斑受到发酵性碳水化合物侵蚀时,葡萄糖浓度的所选范围可在体外产生两种类型的 pH 曲线。Kleinberg 等人 (1973) Archs.oral Biol.,18:787-798 和 Kleinberg 等 (1977) Caries Res.,11 (Suppl.) :292-320。将混合物在 37 $^{\circ}$ C 的水浴中培养 6 小时。使用 5.6mM 或其它低浓度的葡萄糖时, pH 迅速降低并达到最低值,随后缓慢向基线递增地回升 (参见附图 1)。使用 28mM 或其它高浓度的葡萄糖时, pH 也会迅速降低,然而降至更低并在余下的试验阶段内出现极小的或没有出现相继地回升 (见图 2), 而这是由于葡萄糖仍存在并继续形成酸并维持酸性 pH。所有培养混合物制剂都用碎冰中猝冷的试管进行实验直至它们被转移到 37 $^{\circ}$ C 的水浴中进行培养。

在各试验中,采用不含牙齿切片的空白样品。带有牙齿切片的混合物用于评估肌醇六磷酸精氨酸和肌醇六磷酸精氨酸钙 (CAP) 化合物对牙釉质脱矿的作用功效。不含有切片的混合物用于评价从非牙釉质源释放出的钙和磷酸盐。这些来源可包括沉积物中的钙离子和磷酸根离子,少量从肌醇六磷酸精氨酸或 CAP 复合物释放的残留磷酸根和从 CAP 复合物释放的钙。

在培养前,各混合物的 pH 用 1.0M 的 HCl 或 NaOH 调至 pH 为 7.0。在一半的混合物中加入牙釉质切片。加入牙釉质切片后,立刻将所有混合物在 37 $^{\circ}$ C 的水浴中培养 6 小时并应时振摇。在培养开始和此后的 1、2、4 和 6 小时用与 Radiometer pH 计相连的玻璃-甘汞混合电极记录 pH 值。在相同的时间间隔从各混合物取样 (60 μ l) 并在微量离心机 (152Microfuge, Beckman) 中于 7700g 下离心 3 分钟。

仔细地吸除各样品的上清液并储藏在 4℃ 下以备随后进行的如上所述的钙和无机磷分析试验使用。在含有牙釉质的培养混合物中,培养结束时在双目显微镜下观测牙釉质的脱矿化(光泽暗淡度增加)。脱矿化按 0 - 4 的标准进行评分,其中 0 是指无脱矿化,4 是指严重脱矿化。

为培养试验制备的肌醇六磷酸精氨酸(指定为 CAP₀)和五种 CAP 复合物(定义为 CAP₁ - CAP₅)中钙、磷和肌醇六磷酸的含量列在表 2 - 4 中。CAP₀ - CAP₅ 复合物含有增量的钙和减量的精氨酸。肌醇六磷酸含量近似于除复合物 CAP₃ 以外的所有复合物。钙在 0 - 155.0μg/mg 复合物之间变化。精氨酸浓度在 233.7 - 691.8μg/mg 复合物之间变化。

肌醇六磷酸精氨酸(CAP₀)和肌醇六磷酸精氨酸钙(CAP₁ - CAP₅)对分别用低浓度和高浓度(5.6 和 28.0mM)葡萄糖培养的培养混合物的 pH 的作用功效如附图 1 和 2 所示。使用 5.6mM 葡萄糖(附图 1),培养进行 30 分钟至 1 小时后,pH 迅速降低并达到一个最低值。仅含沉积物和葡萄糖的混合物(空白对照)的 pH 降低最显著。含有精氨酸最多的 CAP 混合物的 pH 升高得最显著。肌醇六磷酸精氨酸组合物 pH 的较大提高归因于肌醇六磷酸缓冲作用能保证精氨酸在更适宜的口腔 pH 下形成碱。含有 CAP₅ 的培养混合物,该混合物在五种 CAP 组合物中含有的精氨酸量最少,几乎没有显示出 pH - 升高(附图 1)。这些结果证实了本发明所述肌醇六磷酸精氨酸和肌醇六磷酸精氨酸钙拮抗口腔细菌降解葡萄糖时所生成的酸。

表 5 和 6 列出牙釉质在用于不同培养试验的唾液和葡萄糖中进行培养时的脱矿化。表 5 和 6 给出从在唾液沉积物 - 葡萄糖混合物(5.6mM)中培养的牙釉质中释放出的钙和磷酸盐,其中上述混合物含有或不含有精氨酸、肌醇六磷酸盐、肌醇六磷酸精氨酸和多种 CAP 复合物。

与不含有上述组分和仅加入肌醇六磷酸盐以及仅含精氨酸的空白对照相比,含有 5.6mM 葡萄糖、肌醇六磷酸精氨酸和不同 CAP 复合物的混合物在培养进行 6 小时后显示出对牙釉质释放钙量和磷酸盐量的

降低作用（表 5 和 6）。与沉积物 - 葡萄糖空白对照相比，使用不同 CAP 化合物对钙和磷溶解作用的降低程度分别为 91.2 - 100 %（表 5）和 60.1-97.0%（表 6）。肌醇六磷酸精氨酸则更低。单独含有精氨酸的组合物也表现出一定的牙釉质脱矿化抑制作用，但该作用比肌醇六磷酸精氨酸和 CAP 复合物要弱。仅含肌醇六磷酸的空白对照则无效。

表 5. 在不同 CAP 盐存在下经 5.6mM 葡萄糖混合物培养的牙釉质释放的钙

试验化合物	钙 ($\mu\text{g/ml}$)	
	平均值 $\pm$ SEM	% 抑制
CAP ₀	23.2	85.8
CAP ₁	6.3	96.1
CAP ₂	2.4	98.5
CAP ₃	0.0	100.0
CAP ₄	14.3	91.2
CAP ₅	13.4	91.8
精氨酸	67.1	58.8
肌醇六磷酸盐	112.6	30.9
空白对照	163.0	0.0

表 6. 在不同 CAP 盐存在下经 5.6mM 葡萄糖混合物培养的牙釉质释放的磷

试验化合物	磷 ($\mu\text{g/ml}$)	
	平均值 $\pm$ SEM	% 抑制
CAP ₀	25.2	35.8
CAP ₁	15.6	60.1
CAP ₂	10.1	74.3
CAP ₃	9.7	75.2
CAP ₄	1.3	97.0
CAP ₅	3.6	91.0
精氨酸	24.1	38.5
肌醇六磷酸盐	39.7	0.0
空白对照	39.2	0.0

牙切片的直接检测表明了空白对照和 CAP 盐之间的差异。

上述结果明确地证实了肌醇六磷酸精氨酸和肌醇六磷酸精氨酸钙复合物在碳水化合物代谢过程中延缓了牙釉质脱矿化作用。

表 7 和 8 列出了严重和长期的酸性 pH 值对肌醇六磷酸精氨酸和 CAP 复合物延缓牙釉质脱矿化作用的影响。当齿斑菌处于高浓度的可发酵碳水化合物之中并长时间如此时, 口腔中接近牙列的位置会出现上述酸性条件(附图 2)。在各培养混合物的试验期间用乙酸盐缓冲液维持 pH 为 5.0。如这些表所示, 肌醇六磷酸精氨酸和 CAP 组合物可显著抑制此酸性 pH 下钙和磷酸盐的明显溶解。在如此低的 pH 条件下肌醇六磷酸钠几乎与上述化合物同样有效, 由此可认为它对溶解具有降低作用。单独使用精氨酸没有效果, 这是由于不存在能够由其生产碱性终产物的细菌。

在 pH 为 4.0、5.0 和 6.0 条件下, 用双目解剖显微镜进行的肉眼观测结果一般性地证实了上述作用(表 9)。

上述研究清楚地证明了肌醇六磷酸精氨酸和 CAP 复合物有效抑制了牙釉质切片的脱矿化。在如采用 5.6mM 葡萄糖时出现的高水平 pH 下和将切片暴露于含中等浓度精氨酸和钙的 CAP 复合物中时尤其可观察到这种作用。

表 7. 在肌醇六磷酸精氨酸和不同 CAP 盐存在下经 pH 为 5.0 的 1M 乙酸缓冲液培养的牙釉质切片释放的钙

试验化合物	钙 ($\mu\text{g/ml}$)	
	平均值 $\pm$ SEM	% 抑制
CAP ₀	23.2 $\pm$ 3.8	61.9
CAP ₁	313.3 $\pm$ 14.2	48.6
CAP ₂	250.6 $\pm$ 13.8	58.9
CAP ₃	235.2 $\pm$ 2.8	61.4
CAP ₄	170.1 $\pm$ 23.7	72.1
CAP ₅	115.9 $\pm$ 15.5	81.0
肌醇六磷酸盐	318.9 $\pm$ 30.3	47.7
空白对照	609.3 $\pm$ 49.5	0.0

表 8. 在肌醇六磷酸精氨酸和不同 CAP 盐的存在下经 pH 为 5.0 的 1M 乙酸缓冲液培养的牙釉质切片释放的磷

试验化合物	磷 ($\mu\text{g/ml}$)	
	平均值 $\pm$ SEM	% 抑制
CAP ₀	70.0 $\pm$ 17.4	60.8
CAP ₁	89.3 $\pm$ 21.7	50.0
CAP ₂	69.7 $\pm$ 14.6	60.9
CAP ₃	77.9 $\pm$ 14.5	56.4
CAP ₄	55.2 $\pm$ 9.9	69.1
CAP ₅	44.5 $\pm$ 2.5	75.1
肌醇六磷酸盐	109.1 $\pm$ 35.9	43.9
空白对照	178.6 $\pm$ 57.6	0.0

表 9.在肌醇六磷酸精氨酸和不同 CAP 盐的存在下经 pH 分别为 4.0、5.0 和 6.0 的 1M 乙酸缓冲液培养 8 小时后的牙釉质脱矿化评分值

	评分值				
化合物	乙酸 pH 4.0	乙酸 pH 5.0	乙酸 pH 6.0	总平均分	抑制 %
CAP ₀	2.0	1.0	0.0	1.0	62.5%
CAP ₁	2.0	0.0	1.0	1.0	62.5%
CAP ₂	2.0	0.0	0.0	0.67	75.0%
CAP ₃	2.0	1.0	0.0	1.0	62.5%
CAP ₄	1.0	0.0	0.0	0.33	89.5%
CAP ₅	1.0	1.0	0.0	0.67	75.0%
肌醇六磷 酸盐	2.0	1.0	1.0	1.33	50.0%
空白对照	3.0	3.0	2.0	2.67	0

实施例 IV

本实施例证明了含有钙、精氨酸和碳酸氢盐/碳酸盐（CABC）的口腔组合物对体外牙釉质脱矿化的延缓作用。具体而言，该实施例描述了钙、精氨酸和碳酸氢盐/碳酸盐组合物将极酸性的 pH 条件（由于体内的口腔细菌在大量并长存的可发酵糖降解时生产的）升至使精氨酸形成碱的最佳 pH。同时还证明了对用口腔细菌和糖源培养的粉状牙釉质和牙质脱矿化的延缓作用。除使用从人齿牙冠得到的粉状牙釉质代替牙切片之外，本试验中采用实施例 III 中的唾液沉积物模型。

按照 Manly 和 Hodge（1939）在 J.dent.Res.18,133-141,中描述的浮选法制备粉状牙釉质，该文献在此引入作为参考。首先，仔细地将恒齿洗净并随后在球磨中粉碎成细粉并经 60 目筛筛分以除去大颗粒。然后将筛分的牙粉用含有 91 % 溴仿和 9 % 丙酮（v/v）的溴仿/丙酮混合液（密度为 2.70）通过比重分离法进行分离。牙釉质部分略重（密

度为 2.9-3.0)。离心转移出牙釉质部分,用溴仿/丙酮混合液洗涤并蒸发至干。

制备分别含有 16.7% (v/v) 唾液沉积物和 11.2mM 葡萄糖并且总体积为 2.4ml 的五种培养混合物。将各混合物在 37℃ 培养 3 小时并在 0、0.5、1、2 和 3 小时检测它们的 pH。3 小时结束时,将各培养混合物等分成四组培养混合物(每份 600 μ l)。向四组中第一组的每份混合物内类似地加入作为混合粉末的 1mg 碳酸氢精氨酸和 1mg 碳酸钙。在第二组中,向每份混合物中类似地加入 0.5mg 碳酸氢精氨酸和 0.5mg 碳酸钙。在第 3 组中,加入 1mg 碳酸氢精氨酸;在第 4 组中,加入 1mg 碳酸钙。第 5 组中不加入任何物质。所有混合物都在冰浴中制备并迅速转移到 37℃ 的水浴中以将它们分别培养 0、0.5、1.5 和 3 小时并时而振摇。

记录各时间间隔时从各组取出的一个试管中的 pH 值,然后将取出的各管分成两份。其中的一半储存在 4℃ 下以进行随后的钙、磷分析。为达到此目的需转移出双份样品(60 μ l)。另外一半加至 1mg 牙粉中并在 37℃ 下培养 2 小时以评估其溶解作用。2 小时后,不溶的牙粉以沉淀相通过在微量离心机中(152Microfuge, Beckman)于 7700g 下离心 3 分钟从水相中分离出来。仔细地将各样品的上清液吸去并储存在 4℃ 下以备随后进行上述钙、磷分析。将牙粉沉淀溶解在盐酸中并且取出双份样品(60 μ l)进行同样的钙磷分析。

培养整 6 小时内的 pH 变化如附图 3 所示。在第一个 3 小时内, pH 快速降低并达到 4.65 的最小值。在第二个 3 小时内,没有附加成分的空白对照的 pH 进一步降低至 4.51。对于加入了碳酸氢精氨酸和/或碳酸钙的, pH 立刻回升。pH 升高最显著的是同时含有碳酸氢精氨酸和碳酸钙(CABC)的混合物。碳酸氢精氨酸在开始时也同样出现快速的 pH 升高,但却没有使 pH 充分升高至足以拮抗存在的重度和长时间的酸度,这种酸度是高度龋化牙列位置的特征。碳酸钙亦使 pH 迅速升高但与其它组合物相比仅能达到较低的程度并且不出现后继升高。

牙粉分析试验表明:在培养的第一个 3 小时期间内当 pH 从 7.0 降

低至 4.65 时溶解作用达到 20 %，在培养的第二个 3 小时期间内当 pH 降低至 4.51 时进一步溶解作用达到 12 %（共溶解 32 %）。加入碳酸钙时，在第二阶段时的进一步溶解达到 9 %。当加入碳酸氢精氨酸时，进一步溶解为 16 %。与此相反，碳酸氢钙/碳酸氢精氨酸（1:1）的结合使用不仅没有出现再溶解，并且在培养的第三个 3 小时内观察到 20 % 的损失被替代回收（共溶解 0 %）。其它碳酸钙/碳酸氢精氨酸（0.5:0.5）的结合使用表现出较弱的作用并在第二阶段出现 2 % 的进一步溶解。

pH 结果证明：CABC 组合物对口腔内由葡萄糖降解生成的酸导致的 pH 降低具有拮抗作用，并且该组合物能够使 pH 升至足够高以保证 CBAC 组合物中的精氨酸产生碱并使 pH 连续上升。本实施例进一步证实了本发明所述组合物能够提供一种延缓或预防牙齿溶解并且减少或预防龋齿的方法。

图 1

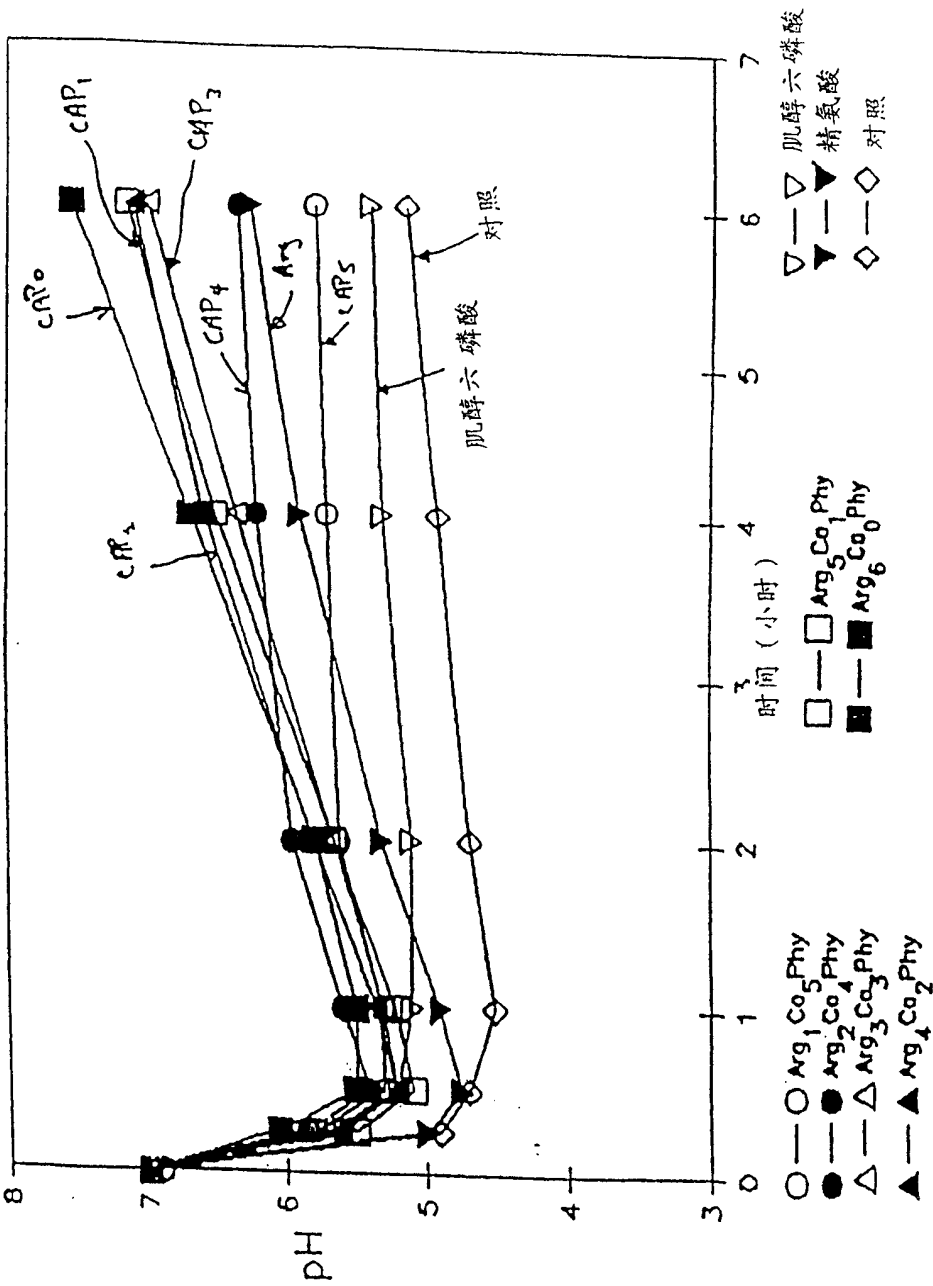


图 2

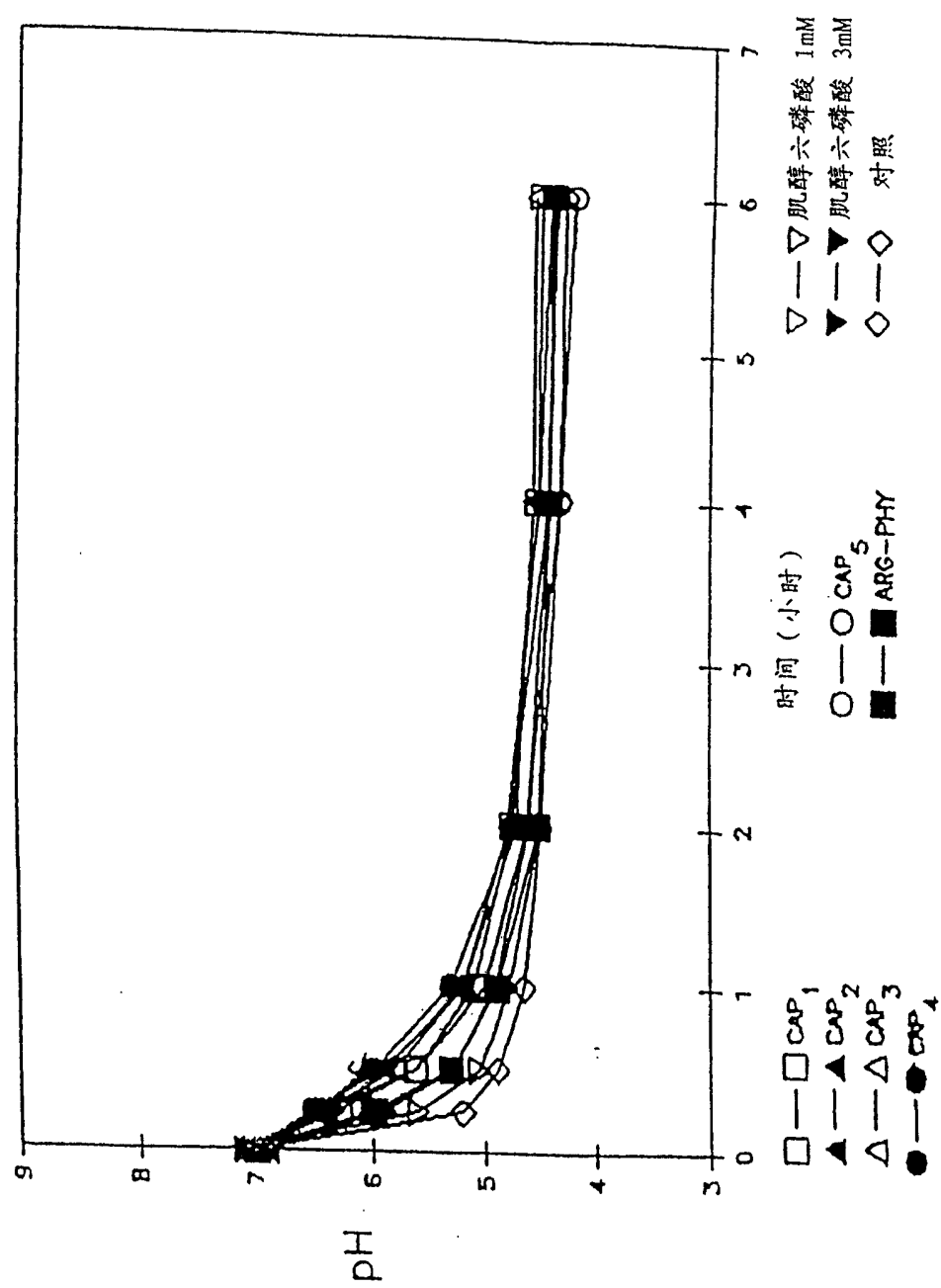


图 3

