



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 288 019**

51 Int. Cl.:
A61K 38/02 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)
A23J 3/08 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **99917168 .9**
86 Fecha de presentación : **27.04.1999**
87 Número de publicación de la solicitud: **1010430**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **21.06.2000**

54 Título: **Agentes paliativos y de prevención para la periodontosis.**

30 Prioridad: **30.04.1998 JP 10-134243**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2007

73 Titular/es:
SNOW BRAND MILK PRODUCTS, Co., Ltd.
1-1 Naebocho 6-chome
Higashi-ku, Sapporo-shi
Hokkaido 065-0043, JP

72 Inventor/es: **Takada, Yukihiro;**
Aoe, Seiichirou;
Serizawa, Atsusi;
Suguri, Toshiaki y
Dousako, Shunichi

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 288 019 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agentes paliativos y de prevención para la periodontosis.

5 Campo técnico

Esta invención se refiere a un agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal con una fracción proteica básica derivada de la leche como un ingrediente eficaz. Esta invención también se refiere a la utilización del agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal con una fracción proteica básica derivada de la leche como un ingrediente eficaz para un alimento/bebida y medicamento.

Técnica anterior

En los últimos años, la enfermedad periodontal se ha convertido en un objeto de preocupación pública. A diferencia de la caries dental, la enfermedad periodontal es una enfermedad en la que la base de los dientes se debilita y se pierde finalmente el uso de los dientes distintos a un diente con caries. Además, se dice que existe un gran número de personas que muestran síntomas de enfermedad periodontal. En este sentido, la enfermedad periodontal es una enfermedad más grave que la caries dental.

De manera convencional, la prevención de la enfermedad periodontal se realiza desde el punto de vista de evitar que se propaguen las bacterias, la causa de la enfermedad, eliminando la placa dental, o haciendo gárgaras con un enjuague bucal que contiene un agente antibacteriano. Pero se considera que la eficacia de estos métodos es baja para los casos avanzados de enfermedad periodontal. En otras palabras, en el estadio terminal de la enfermedad periodontal, se observa una disminución en el hueso alveolar y una vez que se pierde hueso alveolar, es difícil hacer que se reproduzca. Por tanto, si se pierde un diente debido a la enfermedad periodontal, interfiere con la vida diaria de la gente, porque, de más está decirlo, es difícil comer y provoca dolor, etc. Por tanto, se requiere un medio paliativo/de prevención inmediato y eficaz. Sin embargo, en este momento, no está disponible ningún agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal, que sea eficaz para frenar la disminución en el hueso alveolar.

El documento FR2651433 se refiere a composiciones para el tratamiento de la enfermedad periodontal obtenidas mezclando lactoperoxidasa, lactoferrina y algunas otras enzimas.

El documento US5149647 proporciona un método para obtener lactoperoxidasa y lactoferrina a partir de la leche mediante cromatografía de intercambio catiónico, pero solo proporciona fracciones purificadas que contienen cada uno de los polipéptidos en su forma aislada y no describe el uso de ninguna de estas fracciones para el tratamiento o prevención de la enfermedad periodontal.

Descripción de la invención

Un problema que esta invención pretende solucionar es proporcionar un agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal con una fracción proteica básica derivada de la leche como un ingrediente eficaz. Otro problema que pretende solucionar esta invención es proporcionar un medicamento y comida/bebida en las que está contenido este agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal con una fracción proteica básica derivada de la leche como un ingrediente eficaz.

Los inventores de esta invención descubrieron que la fracción proteica básica que está contenida en la leche en una cantidad muy pequeña, tiene un efecto notable sobre la prevención y mejora de la enfermedad periodontal y llegaron a completar esta invención.

Como ingredientes, puede usarse leche tal como leche de vaca, leche de cabra y leche de oveja. Los diferentes tipos de leches mencionados anteriormente pueden usarse tal como están, en forma de leche fresca, o en forma de productos preparados tales como leche en polvo, leche desnatada, leche reducida, suero de leche, etc.

La fracción proteica básica usada en esta invención se obtiene por contacto de la leche mencionada anteriormente con una resina de intercambio catiónico, y eluyendo después una fracción adsorbida por la resina usando una disolución de elución con una concentración de sal de 0,1 M ~ 1,0 M. Además, la proteína básica obtenida puede usarse tras desalarla o condensarla, si es necesario.

La fracción proteica básica obtenida de este modo es una fracción proteica básica derivada de la leche que tiene una distribución de peso molecular de 3.000~80.000 Daltons mediante electroforesis (SDS-PAGE) con dodecilsulfato de sodio en gel de poliacrilamida y tiene un punto isoeléctrico de 7,5~11. Sus componentes principales son lactoferrina y lactoperoxidasa y, como su constituyente de aminoácidos en la proteína, contiene aminoácidos básicos en más del 15 por ciento en peso.

Además, el agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal de esta invención tiene la fracción proteica básica mencionada anteriormente como su ingrediente principal, y puede mezclarse en un alimento/bebida y medicamento, por ejemplo, en forma de pasta de dientes, agentes de gargarismos, golosinas, chicles, pastillas para

chupar, etc. Como método de dosificación como medicamento, es deseable aplicar aproximadamente 1~50 mg/día para un adulto a la superficie de los dientes, dividido en varias aplicaciones.

Además, la fracción proteica básica de esta invención es esencialmente el ingrediente de la leche y se considera que es seguro. De hecho, como resultado de pruebas de toxicidad usando ratas, no se encontró toxicidad aguda.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

Ejemplo de fabricación

Preparación de la fracción proteica básica derivada de la leche

Tras aclarar completamente una columna en la que se colocaron 100 g de resina de intercambio catiónico (Chitopearl sulfonado fabricado por Fujibouseki) usando agua desionizada, se hicieron pasar 10l de leche desnatada sin esterilizar a través de la columna a un flujo de 10 ml/min. Tras aclarar completamente la columna con agua desionizada, se hicieron pasar a través 2l de tampón fosfato 0,05 M (pH 7) que contenía cloruro de sodio 0,1 M. Posteriormente, se realizó una elución en gradiente desde 0,5 M hasta 1,0 M usando tampón fosfato 0,05 M (pH 7) que contenía cloruro de sodio 0,1 M y tampón fosfato 0,05 M (pH 7) que contenía cloruro de sodio 1,0 M para eluir la proteína básica adsorbida por la resina y recuperarla. Se desaló este eluato usando una membrana de ósmosis inversa. Tras concentrarlo, se liofilizó, y se obtuvo una fracción proteica básica en polvo. Repitiendo esta operación ocho veces, se obtuvieron 821 g de la fracción proteica básica.

Ejemplo de prueba

Evaluación de la disminución de hueso alveolar

Se criaron 54 hámsteres golden de seis semanas de edad de manera preliminar durante una semana. Bajo tratamiento con éter, se colocó sutura de seda esterilizada número 4 para uso quirúrgico 5 veces alrededor de la parte del cuello del diente de M1 de los hámsteres golden. Se criaron suministrándoles alimento (D n° 2000: Keyes, P.H. y Jordan: Archs. Oral. Biol. 9: 377-400, 1964) para provocar que tuvieran una enfermedad periodontal. Se dividieron entonces los hámsteres en tres grupos iguales de 18 cada uno, el grupo control, el grupo de fracción proteica básica 0,5 mg/ml y el grupo de fracción proteica básica 5 mg/ml. Se realizó un tratamiento para empapar continuamente el interior de la cavidad oral de los hámsteres con proteína básica de la concentración respectiva durante aproximadamente 10 minutos dos veces al día. A los tres días, siete días y catorce días tras el inicio de este tratamiento, seleccionando seis hámsteres de cada grupo, tras realizar la perfusión fija usando una disolución de glutaraldehído al 2,5% (pH 7,4) durante aproximadamente 20 minutos, se extrajeron ambos lados del hueso de la mandíbula inferior y se evaluó la cantidad de disminución de hueso alveolar. Después de que se fijaran los huesos de la mandíbula extraídos con disolución de glutaraldehído al 2,5%, se tomó una fotografía de rayos x blandos. Se analizaron las fotografías usando un analizador de imágenes (PIAS LA-555). Midiendo un área entre un borde del cemento del esmalte y la parte superior del hueso alveolar cerca de M1, se evaluó la cantidad de disminución de hueso alveolar.

Los resultados se muestran en la tabla 1. La cantidad de disminución de hueso alveolar de los hámsteres en los grupos a los que se administró fracción proteica básica 0,5 mg/ml y 5 mg/ml es significativamente baja y este efecto era dependiente de la concentración. Estos resultados demuestran que la fracción proteica básica derivada de la leche inhibe la disminución de hueso alveolar y es eficaz para la prevención y la mejora de la enfermedad periodontal.

TABLA 1

La eficacia para controlar la disminución de hueso alveolar mediante la proteína básica derivada de la leche

	Control	Fracción proteica básica 0,5 mg/ml	Fracción proteica básica 5 mg/ml
Área disminuida (mm ²)			
Tras 3 días	0,25	0,22	0,14
7 días	1,21	0,83 **	0,36 **
14 días	1,64	1,01 **	0,45 **

** Nota: Tal como se contrasta con el grupo control, existen diferencias significativas (p<0,01)

ES 2 288 019 T3

Ejemplo 1

Fabricación de pasta de dientes para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal

5 Se fabricó pasta de dientes para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal mezclando cada ingrediente con el porcentaje mostrado en la tabla 2 a continuación y colocando el producto en un recipiente.

10 TABLA 2

10

15	Glicerina	70,0	(por ciento en peso)
	Dióxido de silicio	20,0	
	Goma xantana	1,0	
20	Aroma de menta	1,0	
	Óxido de titanio	0,7	
	Fluoruro de sodio	0,3	
25	Agua destilada	6,5	
	Fracción proteica básica de la leche	0,5	

30

Ejemplo 2

Fabricación de un gargarismo para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal

35 Se fabricó un gargarismo para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal mezclando cada ingrediente en el porcentaje mostrado en la tabla 3.

40

40 TABLA 3

45	Etanol	8,0	(por ciento en peso)
	Perfume	0,9	
	Sorbitol	5,0	
	Propilenglicol	5,0	
50	Fracción proteica básica de la leche	0,1	
	Agua destilada	81,0	

55

Ejemplo 3

Fabricación de chicle para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal

60 Según el porcentaje en peso mostrado en la tabla 4, tras que se disolviese la base de goma y se mezclase cada ingrediente en la misma, se dio forma al producto, dando como resultado un chicle para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal.

65

ES 2 288 019 T3

TABLA 4

5	Base de goma	20,0	(por ciento en
		peso)	
	Jarabe de maíz	9,0	
10	Dextrosa 1-hidrato	10,0	
	Lactosa	5,0	
	Glicerina	5,0	
15	Azúcar	50,0	
	Fracción proteica básica de la	1,0	
20	leche		

Ejemplo 4

25 *Fabricación de golosinas con fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal*

30 Se combinaron azúcar y jarabe de almidón glutinoso a los porcentajes en peso mostrados en la tabla 5. Se hirvió la mezcla a 150°C (302°F) hasta que se condensó. Después de que se enfriara hasta 115°C (239°F), se agitó en la misma la fracción proteica básica de la leche en la cantidad del 0,1 por ciento en peso. Después de que se enfriase en un disco de refrigeración, se le dio forma, dando como resultado golosinas para fines paliativos y de prevención de la enfermedad periodontal.

TABLA 5

35	Azúcar	69,9	(por ciento en
		peso)	
40	Jarabe de almidón glutinoso	30,0	
	Fracción proteica básica de la	0,1	
45	leche		

Aplicabilidad industrial

50 El agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal de esta invención con una fracción proteica básica derivada de la leche como su ingrediente eficaz puede inhibir la disminución de hueso alveolar que se produce en el estadio terminal de la enfermedad periodontal. Por tanto, contribuye en gran medida a la prevención y mejora de esta enfermedad.

55 También, dado que el agente paliativo y de prevención de la enfermedad periodontal de esta invención puede mezclarse en un alimento/bebida y medicamento, por ejemplo, en forma de pasta de dientes, agentes de gargarismos, golosinas, chicles, pastillas para chupar, etc., de modo que se aplican eficazmente a la superficie de los dientes, pueden obtenerse efectos paliativos y de prevención sustanciales.

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de una fracción proteica básica derivada de la leche para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir o mejorar la enfermedad periodontal, en el que

a) dicha fracción proteica tiene una distribución de peso molecular de 3.000-8.000 daltons y un punto isoeléctrico en el intervalo de 7,5-11,

10 b) dichos componentes principales de la fracción proteica son lactoferrina y lactoperoxidasa,

c) dicha fracción proteica contiene como su constituyente de aminoácidos en la proteína, aminoácidos básicos en más del 15 por ciento en peso, y

15 d) dicha fracción proteica es obtenible haciendo pasar un ingrediente de la leche o derivado de la leche a través de una resina de intercambio catiónico y realizando una elución en gradiente usando tampón fosfato de pH 7 que contiene cloruro de sodio 0,1 M y tampón fosfato de pH 7 que contiene cloruro de sodio 1,0 M.

20 2. Uso según la reivindicación 1, en el que la composición está en forma de un alimento o bebida.

3. Uso según la reivindicación 1, en el que la composición está en forma de una pasta de dientes o gargarismo.

25

30

35

40

45

50

55

60

65