

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-528407

(P2020-528407A)

(43) 公表日 令和2年9月24日(2020.9.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 6/20 (2020.01)	A 6 1 K 6/20	4 C 0 8 3
A 6 1 K 6/60 (2020.01)	A 6 1 K 6/60	4 C 0 8 9
A 6 1 K 6/70 (2020.01)	A 6 1 K 6/70	
A 6 1 Q 11/00 (2006.01)	A 6 1 Q 11/00	
A 6 1 K 8/73 (2006.01)	A 6 1 K 8/73	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-502366 (P2020-502366)  
 (86) (22) 出願日 平成30年7月19日(2018.7.19)  
 (85) 翻訳文提出日 令和2年3月10日(2020.3.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/042916  
 (87) 国際公開番号 W02019/018664  
 (87) 国際公開日 平成31年1月24日(2019.1.24)  
 (31) 優先権主張番号 62/534,288  
 (32) 優先日 平成29年7月19日(2017.7.19)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/583,093  
 (32) 優先日 平成29年11月8日(2017.11.8)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 517264281  
 デンツプライ シロナ インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 17401-2991, ヨーク, スイート 60ダブリュー, 221 ウエスト フィラデルフィア ストリート  
 (74) 代理人 100114775  
 弁理士 高岡 亮一  
 (74) 代理人 100121511  
 弁理士 小田 直  
 (74) 代理人 100202751  
 弁理士 岩堀 明代  
 (74) 代理人 100191086  
 弁理士 高橋 香元

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物ならびにその調製および使用方法

(57) 【要約】

有効なフッ化物添加、in situでの生体模倣再石灰化およびエナメルへの向上した接着のために有用な歯科用組成物、より詳細には水溶性歯科用パーニッシュ組成物が本明細書に記載されている。本歯科用組成物は、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを含む。ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合された接着促進剤を含む。本実施形態は、ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法およびそのような歯科用組成物を調製するためのヒドロゲル形成性ポリマーの使用も提供する。

【選択図】 図 2 3

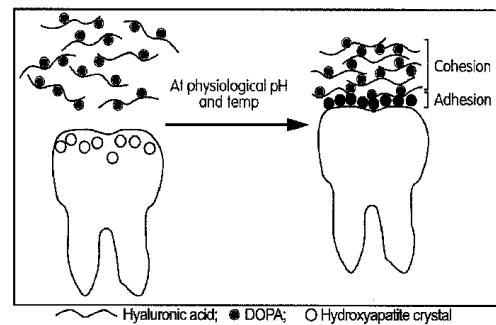


FIG. 23

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法であって、抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合させてそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有する前記ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程を含み、前記抗酸化剤は、前記結合の間にそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有する前記ヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止することを特徴とする方法。

**【請求項 2】**

前記水溶性ポリマーはカルボン酸、アミン、ヒドラジド、チオール、アクリル酸、メタクリル酸およびアクリルアミドからなる群から選択される少なくとも 1 つの官能基を含有する、請求項 1 に記載の方法。

10

**【請求項 3】**

前記接着促進剤はアミン、カルボン酸、チオール、アクリル酸、メタクリル酸およびアクリルアミド基からなる群から選択される少なくとも 1 つの官能基を含有する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記接着促進剤を前記水溶性ポリマーに結合させる工程は、反応溶液を形成するために共触媒の存在下でカルボジイミド触媒系を使用する水溶液中でのアミド化反応によって行う、請求項 1 に記載の方法。

20

**【請求項 5】**

前記カルボジイミド触媒系のカルボジイミドは 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド ( EDC ) である、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記共触媒はヒドロキシベンゾトリアゾール ( HOBt )、N - ヒドロキシスクシンイミド ( NHS ) およびスルホ - N - ヒドロキシスクシンイミド ( スルホ - NHS ) からなる群から選択される、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記接着促進剤は水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基の数に対して 1 : 100 ~ 50 : 100 のモル比で添加する、請求項 4 に記載の方法。

30

**【請求項 8】**

前記 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド ( EDC ) は水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 mol 当たり 1 ~ 10 mmol の範囲で添加する、請求項 5 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記共触媒は水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 mol 当たり 1 ~ 10 mmol の範囲で添加する、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記水溶性ポリマーは約 1 kDa ~ 約 4000 kDa の範囲の重量平均分子量を有する、請求項 2 に記載の方法。

40

**【請求項 11】**

前記水溶性ポリマーは前記反応溶液の総体積に対して約 0.01 重量% ~ 約 50 重量% の濃度で存在する、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記接着促進剤は前記水溶性ポリマー上の官能基の繰り返し単位に対して約 1 モル% ~ 約 80 モル% の濃度で存在する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記抗酸化剤は前記水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 mol 当たり 0.1 ~ 14 mmol の量で前記ヒドロゲル形成性ポリマー中に存在する、請求項 1 に記載の方法。

50

## 【請求項 14】

前記抗酸化剤はアスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム、ホウ酸、四ホウ酸ナトリウム、4,4'-ビフェニルジボロン酸、ベンゼン-1,4-ジボロン酸、2,5-チオフェンジルビスボロン酸、二酸化硫黄、尿酸、トコフェロールまたはそれらの混合物である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記接着促進剤の結合率は5～80%の範囲である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 16】

抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合させてそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有する前記ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程であって、前記抗酸化剤は前記結合の間に前記ヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止することを特徴とする工程を含むプロセスによって生成されるヒドロゲル形成性ポリマー。

10

## 【請求項 17】

前記接着促進剤の結合率は5～80%の範囲である、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【請求項 18】

前記接着促進剤は、前記ヒドロゲル形成性ポリマーにそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を与える、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【請求項 19】

前記接着促進剤はドーパミン、ドーパミン芳香族環上の6位に結合された結合電子求引性基を有するドーパミン、ドーパミンのヒドロキシル基において電子求引性基と複合体を形成したドーパミン、没食子酸、コーヒー酸、フェルラ酸、プロトカテク酸、クマル酸、エラグ酸、レスベラトロール、ロスマリン酸、ケルセチンおよびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

20

## 【請求項 20】

前記結合電子求引性基はニトロ基(-NO<sub>2</sub>)、クロロ基(-Cl)またはフルオロ基(-F)である、請求項19に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【請求項 21】

複合体化された前記電子求引性基はホウ酸またはホウ酸誘導体である、請求項19に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

30

## 【請求項 22】

前記接着促進剤はドーパミンである、請求項19に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【請求項 23】

前記水溶性ポリマーはヒアルロン酸(HA)、ポリアクリル酸(PAA)、キトサン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、水溶性ポリエチレングリコール(PEG)修飾ポリマー、水溶性のPEGで架橋されたポリマー、ビスチオールPEG、水溶性もしくは部分的に水溶性の変性ロジンおよびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

40

## 【請求項 24】

前記抗酸化剤は前記水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基1mol当たり0.1～14mmolの量で前記ヒドロゲル形成性ポリマー中に存在する、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【請求項 25】

前記抗酸化剤はアスコルビン酸である、請求項16に記載のヒドロゲル形成性ポリマー。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本実施形態は歯科用組成物に関し、より詳細には有効なフッ化物添加、*in situ*

50

での生体模倣再石灰化およびエナメルへの向上した接着のために有用な水溶性歯科用バーニッシュ組成物に関する。本歯科用組成物は、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを含む。ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合された接着促進剤を含む。本実施形態は、ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法およびそのような歯科用組成物を調製するためのヒドロゲル形成性ポリマーの使用も提供する。

#### 【背景技術】

##### 【0002】

フッ化物バーニッシュは、歯エナメルに持続的フッ化物イオン源を与えて歯エナメル上にフッ化カルシウム ( $\text{CaF}_2$ ) の保護層を形成し、かつヒドロキシアパタイトの一部をフッ素リン灰石に直接変換するために歯に塗布される。生理的 pH の下では、 $\text{CaF}_2$  層は不溶性であり歯の上に残るが、炭水化物の摂取および細菌の代謝後に生成される酸がフッ化物およびカルシウムイオンの放出を引き起こす。放出されたフッ化物イオンは、唾液の中に残ったり歯エナメルおよび虫歯上の自由空間に定着したりすることができる。特にフッ化物イオンは水酸化物イオンよりも電氣的に陰性であり、歯エナメルのヒドロキシアパタイト  $\{[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2\}$  と反応してそれをフッ素リン灰石  $\{[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3 \cdot \text{CaF}_2\}$  に変換する。従って、歯表面へのフッ素リン灰石の耐酸性層の形成は虫歯を予防することができる。

10

##### 【0003】

従来のバーニッシュは、粘着付与剤としての天然樹脂、膜形成のための合成ポリマー樹脂、フッ化物放出のためのフッ化物剤、当該樹脂を溶解するための有機溶媒、およびバーニッシュに味または色を与えるための添加剤を含んでいる場合がある。天然樹脂としては、限定されるものではないが、ロジン、ロジン誘導体、マスチックまたはセラックが挙げられる。合成ポリマー樹脂としては、限定されるものではないが、ポリ酢酸ビニル (PVA)、ポリウレタンメタクリレートまたはポリイソシアネートが挙げられる。そのようなロジン/樹脂コーティングはどちらかと言えば疎水性であり、十分なフッ化物を有効な方法で放出することができない。フッ化物剤としては、限定されるものではないが、フッ化ナトリウム、フッ化第一スズ、酸性フッ素リン酸またはフルオロシランが挙げられる。添加剤としては、限定されるものではないが、二酸化チタンまたは甘味料が挙げられる。

20

##### 【0004】

溶媒としては、限定されるものではないが、エチルアルコール、イソプロパノール、酢酸エチル、酢酸ブチル、プロピオン酸イソアミル、ヘキサンまたはヘプタンが挙げられる。樹脂/ロジンを溶解するのに有効であり得るヘキサンまたはヘプタンなどの溶媒は、あまり生体適合性ではない。いくつかの従来のフッ化物バーニッシュは、口腔組織に対して刺激が強く、かつ患者がどうにか耐えることができる酢酸エチルまたは酢酸ブチルなどの溶媒に溶解されたポリマーを含有する。

30

##### 【0005】

バーニッシュ組成物と歯表面との間の十分に急速な接着により、歯表面へのバーニッシュの効率的な送達および維持が保証される。

##### 【0006】

多くの従来のフッ化物バーニッシュは、破損した場合に歯から摘み取らなければならない長期持続性の硬い被膜を歯の上に残す。さらに、多くの従来のフッ化物バーニッシュは、それらを患者にとって審美的に喜ばしくないものにする黄色い色または他の特性を有している場合がある。

40

#### 【発明の概要】

##### 【0007】

既存のバーニッシュ組成物の問題を克服するバーニッシュ組成物がなお必要とされている。

##### 【0008】

本開示の目的は、歯表面へのバーニッシュの効率的な送達および維持のためのヒドロゲ

50

ル形成性ポリマーであって、結合の間および最終バーニッシュ組成物におけるヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止することができるヒドロゲル形成性ポリマーを含む組成物を提供することにある。

【0009】

本開示の第1の態様では、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法であって、抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合してそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程を含む方法が本明細書に開示されている。

【0010】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法の一実施形態では、抗酸化剤は、当該結合の間にそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止する。

10

【0011】

本開示の第2の態様では、抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合してそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程を含むプロセスによって生成されるヒドロゲル形成性ポリマーであって、抗酸化剤は当該結合の間にヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止することを特徴とするヒドロゲル形成性ポリマーが本明細書に開示されている。

【0012】

本開示の第3の態様では、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーおよび水を含む組成物が本明細書に開示されている。ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合された接着促進剤を含む。

20

【0013】

本組成物の一実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは少なくとも1種の抗酸化剤をさらに含む。

【0014】

本組成物の別の実施形態では、本組成物は金属イオン源をさらに含む。

【0015】

一実施形態では、組成物は、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマー、刺激部分および水を含む。

30

【0016】

本開示の第4の態様では、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマー、フッ化物剤および水を含む歯科用組成物が本明細書に開示されている。ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合されたドーパミンを含む。水溶性ポリマー上の結合ドーパミンは、エナメル表面上に存在するあらゆるカルシウムイオンに接着すると共に、周囲媒体からヒドロゲル形成性ポリマーへのカルシウムイオンを吸収する。

【0017】

本歯科用組成物の一実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは少なくとも1種の抗酸化剤をさらに含む。

40

【0018】

本歯科用組成物の別の実施形態では、本組成物は刺激部分をさらに含む。

【0019】

本歯科用組成物の一実施形態では、刺激部分は分岐鎖状カチオン性ポリマーである。

【0020】

本開示の第5の態様では、水溶性歯科用組成物を調製する方法が本明細書に開示されており、前記方法は、

(a) ヒドロゲル形成性ポリマーを水に溶解してヒドロゲル形成性ポリマー溶液を形成する工程と、

50

(b) 抗酸化剤および金属イオン源を水に溶解して第1の溶液を形成し、かつ第1の溶液に分岐鎖状カチオン性ポリマーを添加して分岐鎖状カチオン性ポリマー溶液を形成する工程と、

(c) 分岐鎖状カチオン性ポリマー溶液をヒドロゲル形成性ポリマー溶液に添加してヒドロゲル形成性ポリマー/分岐鎖状カチオン性ポリマー混合物を調製する工程と、

(d) 抗酸化剤を水に溶解して第2の溶液を形成し、かつ第2の溶液をヒドロゲル形成性ポリマー/分岐鎖状カチオン性ポリマー混合物に添加して抗酸化剤ポリマー混合物を形成する工程と、

(e) 抗酸化剤ポリマー混合物をフッ化物剤と混合して水溶性歯科用組成物を形成する工程と

を含む。

【0021】

水溶性歯科用組成物を調製する方法の一実施形態では、分岐鎖状カチオン性ポリマーは、本組成物と歯エナメルとの接着動態を高めるために選択される。

【0022】

本開示の他の特徴および利点は、例として本開示の原理を示す添付の図面を参照しながら解釈される以下のより詳細な説明から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】ヒアルロン酸(HA)-g-ドーパミンを生成するための合成スキームを概略的に示す。

【図2】図1の合成スキームのための反応機序を概略的に示す。

【図3】HA-g-ドーパミンのプロトンNMRスペクトルを示す。

【図4】図3のプロトンNMRスペクトルの6.0~8.0ppm領域の拡大図を示す。

【図5】ドーパミンのUVスペクトルを示す。

【図6】ドーパミンのための校正曲線を示す。

【図7】ヒドロキシアパタイトの添加前および添加後の水中でのHA-g-ドーパミンの粘度を示す。

【図8】約1500kDaの重量平均分子量を有するHA-g-ドーパミンの塗布後にアルシアンブルー色素によって染色されたウシの歯の写真を示す。

【図9】約700kDaの重量平均分子量を有するHA-g-ドーパミンの塗布後にアルシアンブルー色素によって染色されたウシの歯の写真を示す。

【図10】約350kDaの重量平均分子量を有するHA-g-ドーパミンの塗布後にアルシアンブルー色素によって染色されたウシの歯の写真を示す。

【図11】約100kDaの重量平均分子量を有するHA-g-ドーパミンの塗布後にアルシアンブルー色素によって染色されたウシの歯の写真を示す。

【図12】抗酸化剤の存在下で形成されたポリアクリル酸(PAA)-g-ドーパミン試料の写真を示す。

【図13】抗酸化剤の非存在下で形成されたPAA-g-ドーパミン試料の写真を示す。

【図14】PAA-g-ドーパミンのプロトンNMRスペクトルを示す。

【図15】PAA-g-ドーパミンの塗布後にニュートラルレッド色素で染色されたウシの歯の写真を示す。

【図16】ニュートラルレッド色素で染色された、バーニッシュが塗布されていないウシの歯の写真を示す。

【図17】脱イオン(DI)水中で30分間インキュベートしたガラススライド上のバーニッシュ組成物の写真を示す。

【図18】塩化カルシウム溶液中で1分間インキュベートしたガラススライド上のバーニッシュ組成物の写真を示す。

【図19】塩化カルシウム溶液中で30分間インキュベートしたガラススライド上のバーニッシュ組成物の写真を示す。

10

20

30

40

50

【図20】アルシアンブルーでの染色後のバーニッシュを含まない対照ヒドロキシアパタイトディスクを示す。

【図21】アルシアンブルーでの染色後の刺激部分を含まないバーニッシュ組成物を含むヒドロキシアパタイトディスクを示す。

【図22】アルシアンブルーでの染色後の刺激部分を有するバーニッシュ組成物を含むヒドロキシアパタイトディスクを示す。

【図23】歯に塗布されている水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュを概略的に示す。

【0024】

可能な限り、図面全体を通して同じ部分を表すために同じ符号を使用する。

【発明を実施するための形態】

【0025】

本明細書では、ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法、水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物を調製するためのヒドロゲル形成性ポリマーの使用、およびその調製および使用方法が提供される。

【0026】

本開示の実施形態は、例えば本明細書に開示されている特徴のうちの一つ以上を含めることができない概念と比較して、生体適合性ポリマーを含む、水に可溶である、非毒性有機溶媒と適合可能である、水性である、樹脂の結晶化を引き起こさない、不燃性である、混合を必要としない、歯エナメル表面に急速に接着する、歯エナメル表面に膜を形成する、フッ化塩のより良好な溶解を可能にする、フッ化物イオンのエナメルへのより急速な拡散を与える、エナメルへのフッ化物イオンのより高い取込みを与える、より低い粘度を有する、色は白色である、無色である、透明である、歯科用基板に対して急速接着動態を有する、カルシウムイオンを吸収する、乾燥させずに塗布することができる、あるいはそれらの組み合わせである。

【0027】

いくつかの実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合された接着促進剤を含む。

【0028】

本開示の第1の態様では、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法であって、抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合してそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程を含む方法が本明細書に開示されている。

【0029】

水溶性ポリマーは、接着性および凝集性を有する任意のヒドロゲル形成性ポリマーであるか、あるいはヒドロゲル形成性であると共に、接着促進剤に結合された場合に接着性および凝集性を有する任意のポリマーであってもよい。いくつかの実施形態では、水溶性ポリマーは天然ポリマーである。いくつかの実施形態では、水溶性ポリマーは合成ポリマーである。いくつかの実施形態では、水溶性ポリマーは生体適合性である。

【0030】

各種実施形態では、「水溶性ポリマーに結合された接着促進剤」という語句は、「接着促進剤に結合された水溶性ポリマー」と同義で使用することができる。

【0031】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、水溶性ポリマーはカルボン酸、アミン、ヒドラジド、チオール、アクリル酸、メタクリル酸およびアクリルアミドからなる群から選択される少なくとも一つの官能基を含有する。

【0032】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法の一実施形態では、水溶性ポリマーはカルボン酸を含有する。

【0033】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、水溶性ポリマー

10

20

30

40

50

は、約100kDa～約1500kDaなどの1kDa～約4000kDaの範囲の重量平均分子量を有する。

【0034】

好適な水溶性ポリマーとしては、限定されるものではないが、ヒアルロン酸(HA)、ポリアクリル酸(PAA)、キトサン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、水溶性ポリエチレングリコール(PEG)修飾ポリマー、水溶性PEGで架橋されたポリマー(例えば、ビスチオールPEGなど)、水溶性もしくは部分的に水溶性の変性ロジンまたはそれらの組み合わせが挙げられる。

【0035】

HAは結合組織、上皮組織および神経組織に存在する天然に生じる水溶性ポリマーである。より具体的には、HAは非硫酸化アニオン性グリコサミノグリカン(GAG)である。HAは高度に生体適合性、生分解性および非免疫原性であり、かつ歯周病治療後および創傷治癒の間に抗炎症性、抗水腫性(antioedematous)、抗酸化および抗菌作用を示したので、HAを接着促進剤の結合のための出発ポリマーとして使用した。除去が難しく、かつ歯肉に刺激性であるロジンおよび合成樹脂とは異なり、HAは歯磨きにより容易に除去することができ、かつ/または自己分解性であり、かつ歯肉に非刺激性であって有益である。

10

【0036】

いくつかの実施形態では、水溶性ポリマーはポリアクリル酸(PAA)である。

【0037】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤はヒドロゲル形成性ポリマーの接着および凝集を促進するどんな化合物であってもよい。一実施形態では、接着促進剤は天然の化合物である。いくつかの実施形態では、接着促進剤は合成の化合物である。いくつかの実施形態では、接着促進剤は生体適合性である。

20

【0038】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤は、アミン、カルボン酸、チオール、アクリル酸、メタクリル酸およびアクリルアミド基からなる群から選択される少なくとも1つの官能基を含有する。

【0039】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤はアミン基を含有する。

30

【0040】

好適な接着促進剤としては、限定されるものではないが、ドーパミン、ドーパミン芳香族環上の6位に結合された結合電子求引性基を有するドーパミン、ドーパミンのヒドロキシル基において電子求引性基と複合体を形成したドーパミン、没食子酸、コーヒー酸、フェルラ酸、プロトカテク酸、クマル酸、エラグ酸、レスベラトロール、ロスマリン酸、ケルセチンまたはそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態では、結合電子求引性基は、ニトロ基(-NO<sub>2</sub>)、クロロ基(-Cl)またはフルオロ基(-F)である。いくつかの実施形態では、複合体化電子求引性基はホウ酸またはホウ酸誘導体である。

【0041】

生体材料は本質的に正確に制御される接着性および凝集性を有する。例えば、特定の海洋生物イガイによって分泌されるイガイ接着足糸タンパク質(Mafp)は、そのタンパク質中に存在するドーパミンアミノ酸によって制御される二重の接着性および凝集性特徴を有する。接着性および凝集性膜形成特性の両方を有する接着促進剤グラフト化水溶性ポリマーは、例示的な実施形態に係る水溶性歯科用パーニッシュ系において有効性を与える。接着のための分子基盤は、金属酸化物の可逆的配位、各種合成ポリマーとの相互作用および任意の表面への不可逆的共有結合である。凝集機能のために、カテコールはドーパミンからキノンへの移行によるpH依存的酸化反応を起こす。このようにして、ドーパミンは接着および凝集の両方を促進することができる。

40

【0042】

50

いくつかの実施形態では、接着促進剤は天然に生じる化合物の修飾形態である。この修飾は好ましくは、水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュ中での接着促進剤の接着性および凝集性および/または安定性を向上させる。

【0043】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤を水溶性ポリマーに結合させる工程は、反応溶液を形成するための共触媒の存在下でカルボジイミド触媒系を使用する水溶液中でのアミド化反応によって行う。

【0044】

いくつかの実施形態では、カルボジイミド触媒系中のカルボジイミドは、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)である。

10

【0045】

いくつかの実施形態では、共触媒は、ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)およびスルホ-N-ヒドロキシスクシンイミド(スルホ-NHS)からなる群から選択される。

【0046】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、カルボジイミド触媒系は、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)/ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)/N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)、および1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)/スルホ-N-ヒドロキシスクシンイミド(スルホ-NHS)からなる群から選択される。

20

【0047】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、水溶性ポリマーは、反応溶液の総体積に対して約0.01重量%~約50重量%、例えば約0.1重量%~20重量%の範囲または約1重量%~約10重量%の範囲の濃度で存在する。

【0048】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤は、水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基の数に対して1:100~50:100のモル比、例えば水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基の数に対して30:100のモル比で添加してもよい。

30

【0049】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、接着促進剤は、水溶性ポリマー上の官能基の繰り返し単位に対して約1モル%~約80モル%の濃度で存在する。

【0050】

いくつかの実施形態では、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)は、水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基1mol当たり1~10mmolの範囲、代わりとして水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基1mol当たり2~5mmolの範囲、代わりとして約3mmol、あるいはそれらの間の任意の値、範囲または部分範囲で添加する。

40

【0051】

いくつかの実施形態では、共触媒は、水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基1mol当たり1~10mmolの範囲、代わりとして水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基1mol当たり2~5mmolの範囲、代わりとして約3mmol、あるいはそれらの間の任意の値、範囲または部分範囲で添加する。

【0052】

いくつかの実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーはHA-g-ドーパミンまたはPAA-g-ドーパミンである。

【0053】

いくつかの実施形態では、HA-g-ドーパミンまたはPAA-g-ドーパミンを上

50

記載したプロセスによって合成した。H A - g - ドーパミンを生成するための合成スキームは図 1 に示されており、E D C 化学反応の機序は図 2 に示されている。

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態では、H A - g - ドーパミンまたは P A A - g - ドーパミンを、結合、分子量および分布の割合によって特性評価した。

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態では、接着促進剤、例えば H A - g - ドーパミンまたは P A A - g - ドーパミン中のドーパミンの結合率は 5 ~ 8 0 % の範囲であってもよい。一実施形態では、H A - g - ドーパミンまたは P A A - g - ドーパミン中のドーパミンの結合率は 2 0 ~ 3 0 % の範囲である。

10

【 0 0 5 6 】

高い p H を含む特定の条件下または酸化剤の存在下で、ドーパミン中のカテコール基は酸化されてキノン基となり、これがドーパミングラフト化ポリマーの合成中に黒色の呈色を引き起こす。黒色の呈色を引き起こすキノンの形成は、合成中に抗酸化剤を添加することによって防止してもよい。

【 0 0 5 7 】

一実施形態では、抗酸化剤は当該結合の間に凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止する。

【 0 0 5 8 】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、抗酸化剤は、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム、ホウ酸、四ホウ酸ナトリウム、4 , 4 ' - ビフェニルジボロン酸、ベンゼン - 1 , 4 - ジボロン酸、2 , 5 - チオフェンジイルビスボロン酸、二酸化硫黄、尿酸、トコフェロールおよびそれらの混合物からなる群から選択される。

20

【 0 0 5 9 】

ドーパミングラフト化ポリアクリル酸をアスコルビン酸の存在下で合成し、合成中または合成後に変色すなわち黒色の色形成は観察されなかった。

【 0 0 6 0 】

ヒドロゲル形成性ポリマーを形成する方法のいくつかの実施形態では、抗酸化剤は、水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 m o l 当たり 0 . 1 ~ 1 4 m m o l の量で、代わりとして当該ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 m m o l 当たり 0 . 5 ~ 1 0 m m o l の範囲、代わりとして 0 . 5 ~ 5 m m o l の範囲、代わりとして 1 ~ 5 m m o l の範囲、あるいはそれらの間の任意の値、範囲または部分範囲でヒドロゲル形成性ポリマー中に存在する。

30

【 0 0 6 1 】

本開示の特定の態様では、抗酸化剤の存在下で接着促進剤を水溶性ポリマーに結合して凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程を含むプロセスによって生成されるヒドロゲル形成性ポリマーであって、抗酸化剤は当該結合の間にヒドロゲル形成性ポリマーの変色を防止することを特徴とするヒドロゲル形成性ポリマーが本明細書において提供される。

40

【 0 0 6 2 】

歯科用組成物

本開示の特定の態様では、組成物は、水中でそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを含む。

【 0 0 6 3 】

いくつかの実施形態では、本組成物は、エタノール、イソプロパノール、酢酸エチル、酢酸ブチル、プロピオン酸イソアミルまたはヘキサンをどれも含まない。

【 0 0 6 4 】

上に記載したように、ヒドロゲル形成性ポリマーは、水溶性ポリマーおよびこの水溶性ポリマーに化学的および/または物理的に結合された接着促進剤を含む。

50

## 【0065】

本組成物のいくつかの実施形態では、接着促進剤は、ヒドロゲル形成性ポリマーにそれ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を与える。

## 【0066】

本組成物のいくつかの実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは少なくとも1種の抗酸化剤をさらに含む。

## 【0067】

本組成物のいくつかの実施形態では、本組成物は金属イオン源を含む。当然のことながら、金属イオン源に対して特に限定は存在しない。

## 【0068】

本組成物のいくつかの実施形態では、金属イオン源は、二価金属イオン源、三価金属イオン源およびそれらの混合物からなる群から選択される。

## 【0069】

好適な二価金属イオン源の例としては、限定されるものではないが、カルシウムの塩、亜鉛の塩、マグネシウムの塩、スズの塩、ストロンチウムの塩、クロムの塩、マンガンの塩、ベリリウムの塩、バリウムの塩、コバルトの塩、ニッケルの塩、鉛の塩および銅の塩が挙げられる。

## 【0070】

好適な三価金属イオン源の例としては、限定されるものではないが、アルミニウムの塩、鉄の塩、クロムの塩、ビスマスの塩、マンガンの塩、コバルトの塩およびインジウムの塩が挙げられる。

## 【0071】

本組成物のいくつかの実施形態では、本組成物は、少なくとも1種の刺激部分をさらに含む。

## 【0072】

本明細書で使用される刺激部分とは、本歯科用組成物中に含めた際に歯科用組成物中での凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーの接着動態を高めるあらゆる分子または分子の一部を指す。刺激部分はカチオン性、直鎖状（非分岐鎖状）または分岐鎖状であり、かつ非重合性または重合性であってもよい。

## 【0073】

いくつかの実施形態では、少なくとも1種の刺激部分は分岐鎖状カチオン性ポリマーである。

## 【0074】

いくつかの実施形態では、分岐鎖状カチオン性ポリマーを本組成物に含めて凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーの接着動態を高める。

## 【0075】

刺激部分としては、限定されるものではないが、リジン、アルギニン、ポリリジン、ポリアルギニン、直鎖状ポリエチレンイミン、分岐鎖状ポリエチレンイミン、ポリ（ジアリルジメチルアンモニウムクロリド）（ポリDADMAC）またはそれらの組み合わせが挙げられる。

## 【0076】

いくつかの実施形態では、刺激部分のカチオン基：水素形成性ポリマー繰り返し単位の官能基の比は、1：2～約2：1の範囲、代わりとして1：2～1：1の範囲、代わりとして1：1～2：1の範囲、代わりとして約1：1、あるいはそれらの間の任意の値、範囲または部分範囲である。

## 【0077】

例えばmfp-3およびmfp-5などの特定のイガイ足タンパク質は、ドーパミンならびに多くの場合にタンパク質骨格に沿った隣接する位置にあるアミノ酸リジンに多く含まれる。これらのタンパク質は鉱物、酸化物および有機表面への印象的な湿接着性を有する。mfp-3およびmfp-5中のドーパミン単位は、鉱物および酸化物表面への二座

10

20

30

40

50

配位および水素結合ならびにポリマー表面への疎水性相互作用を形成するが、これは堆積中に低 pH 環境下および抗酸化剤の存在下で酸化から保護されている場合に限る。さらに、ドーパミンに隣接する位置に存在しているリジンは、極性表面に水によって形成された水和層を破壊することによってその接着をさらに高めるための刺激部分として機能する。

【0078】

例えば、アミノ酸リジンおよび 2, 4 - ジアミノ酪酸 (D a b)、カテコールポリマーもしくは化合物などにおけるアルキルアンモニウム官能基の存在は、酸化を制限し、アミンおよびカテコール部分は相乗的に相互作用して鉱物表面へのカテコールアルキルアミン化合物による表面プライミングを媒介し、かつ表面へのより高い接着を促進する。分子中のカチオン性アミン：カテコールの比を増加させることにより接着を減少させ、かつカテ

10

【0079】

いくつかの実施形態では、刺激部分を提供するためにポリエチレンイミン、すなわち分岐鎖状カチオン性ポリマーを選択し、かつ同じポリマーネットワーク上にアミンおよびカテコール官能基を一緒に有するためにドーパミングラフト化ポリマーと混合した。カチオン性ポリマーを使用するか使用せずに調製された製剤について相対的接着を試験し、これにより、分岐鎖状カチオン性ポリマーを含有するポリマーネットワークのより高く、かつ急速な接着が明らかに実証された。

【0080】

本開示の特定の態様では、それ自体への凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーを含む水溶性歯科用バーニッシュが提供される。いくつかの実施形態では、凝集性および接着性は、ヒドロゲル形成性ポリマーを得るために化学的および/または物理的に水溶性ポリマーに結合された接着促進剤によって与えられる。ヒドロゲル形成性ポリマーをフッ化物剤と共に水に溶解して水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュを形成する。

20

【0081】

いくつかの実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュ中の一次溶媒は水である。

【0082】

いくつかの実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュ中の唯一の溶媒は水である。

30

【0083】

いくつかの実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュは、エタノール、イソプロパノール、酢酸エチル、酢酸ブチル、プロピオン酸イソアミルまたはヘキサンをどれも含まない。

【0084】

いくつかの実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用バーニッシュはロジンを含まないか、あるいはロジンを実質的に含まない。

【0085】

いくつかの実施形態では、本水溶性歯科用バーニッシュは、上に記載したように金属イオン源をさらに含む。

40

【0086】

いくつかの実施形態では、本水溶性歯科用バーニッシュは、上に記載したように刺激部分をさらに含む。

【0087】

本明細書に開示されている水溶性歯科用バーニッシュ組成物の特定の実施形態では、フッ化物剤は、フッ化ナトリウム、フッ化第一スズ、酸性フッ素リン酸、アミンフッ化物、フルオロシランおよびそれらの混合物からなる群から選択される。

【0088】

50

いくつかの実施形態では、アミンフッ化物は、N', N' - トリ - (ポリオキシエチレン) - N - ヘキサデシルプロピレンジアミンジヒドロフルオリド、9 - オクタデシルアミンヒドロフルオリド、ヘキサデシルアミンヒドロフルオリド、およびビス - (ヒドロキシエチル) - アミノプロピル - N - ヒドロキシエチルオクタデシルアミンジヒドロフルオリドからなる群から選択される。

【0089】

本明細書に開示されている水溶性歯科用バーニッシュ組成物の特定の実施形態では、フッ化物源は、本組成物の総重量に対して約0.01重量% ~ 約10重量%、例えば約1重量% ~ 約8重量%の範囲または約2重量% ~ 約7重量%の範囲の濃度で存在する。

【0090】

本明細書に開示されている歯科用バーニッシュ組成物の特定の実施形態では、本歯科用バーニッシュは、1000 ppm ~ 22600 ppmの範囲の濃度でフッ化物イオンを放出する。

【0091】

フッ化物イオン源は、本組成物中に高レベルのフッ化物イオンを与えることができる量、すなわち少なくとも約1,000 ppm、場合によっては最大30,000 ppmと同程度、例えば、約7,000 ppm ~ 約27,000 ppm、約15,000 ppm ~ 約25,000 ppm、あるいは約22,000または23,000 ppmであってもよい。最適なppm範囲のそのような濃度を与えるために、本組成物中のフッ化物イオン源の正確な重量%は、異なるフッ化物イオン源の化学量論的特性によって異なってもよい。

【0092】

本明細書に開示されている水溶性歯科用バーニッシュ組成物の特定の実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは、本組成物の総体積に対して約0.01重量% ~ 約50重量%、例えば約0.1重量% ~ 20重量%の範囲または約1重量% ~ 約10重量%の範囲の濃度で存在する。

【0093】

いくつかの実施形態では、本水溶性歯科用バーニッシュは、増粘剤、粘着付与剤、着香料、甘味料および着色料のうちの一つ以上も含む。

【0094】

増粘剤の例としては、限定されるものではないが、フュームドシリカ、カルボキシビニルポリマー、カラゲニン、カラヤガム、アラビアガムおよびトラガント、ケイ酸アルミニウムマグネシウムが挙げられる。本歯科用バーニッシュ中に存在する増粘剤の量は、約0.1重量% ~ 約1.0重量%、例えば約0.5重量% ~ 約5.0重量%または約1重量% ~ 約10重量%の量である。

【0095】

本明細書で使用するのに適した粘着付与剤の例としては、限定されるものではないが、ロジン、マスチック、セラック、セルロースおよびセルロース誘導体、プルラン、キサンタンガム、ジェランガムが挙げられる。本明細書に記載されているそのような粘着付与剤は、約0.01重量% ~ 約0.1重量%、例えば約0.05重量% ~ 約1重量%または約1重量% ~ 約10重量%の量で本歯科用バーニッシュ中に存在してもよい。

【0096】

好適な着香料の例としては、限定されるものではないが、ペパーミント、スイカ、ウインターグリーン、スペアミント、サクランボ、クエン酸、オレンジ、イチゴ、バニラ、ココナツ、バブルガムフレーバーおよびそれらの混合物が挙げられる。そのような着香料は存在する場合、約0.001重量% ~ 約0.05重量%、例えば約0.005重量% ~ 約0.5重量%または約0.01重量% ~ 約5重量%の量で本歯科用バーニッシュ中に存在してもよい。

【0097】

好適な甘味料の例としては、限定されるものではないが、キシリトール、ソルビトール、スクラロース、アスパルテーム、ナトリウムサッカリンおよびそれらの混合物が挙げら

10

20

30

40

50

れる。そのような甘味料は、約 0.001 重量% ~ 約 0.02 重量%、例えば約 0.005 重量% ~ 約 0.2 重量% または約 0.01 重量% ~ 約 2.0 重量% の量で本歯科用バーニッシュ中に存在してもよい。

【0098】

好適な着色料の例は、カラメル、カロチン、アナーまたは二酸化チタンであってもよい。そのような着色料は、約 0 重量% ~ 約 2 重量%、例えば約 0.01 重量% ~ 約 1.0 重量% または約 0.08 重量% ~ 約 1.0 重量% の量で本歯科用バーニッシュ中に存在してもよい。

【0099】

いくつかの実施形態では、本歯科用バーニッシュ製剤は、安定性、凝集性および接着性、フッ化物添加および放出動態、生体適合性ならびにエナメルへのフッ化物の取込みおよび再石灰化のために最適化されている。ゲル化速度および機械的特性をさらに向上させるために、1つ以上の刺激応答性ポリマー（限定されるものではないが、キトサンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）が挙げられる）を最終バーニッシュ製剤に含めてもよい。いくつかの実施形態では、刺激応答性ポリマーは本製剤中のヒドロゲル形成性ポリマーの体積に対して 0.1 重量% ~ 50 重量% の範囲で存在する。

【0100】

また、水溶性歯科用組成物の調製方法が本明細書に開示されている。本開示の水溶性歯科用組成物は一般に、

(a) 水溶性ポリマーを 75 ~ 200 mL の水に溶解して水溶性ポリマー溶液を形成し、かつこの水溶性ポリマー溶液の pH を約 6.2 ~ 7.0 に調整する工程、

(b) 任意に、この水溶性ポリマー溶液に 0.1 ~ 1.4 mmol の抗酸化剤を添加する工程、

(c) 水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 モル当たり 1 ~ 10 mmol の 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドを添加し、かつ水溶性ポリマー溶液の pH を約 6.8 に再調整する工程、

(d) 水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基 1 モル当たり 1 ~ 10 mmol の共触媒を添加し、かつ水溶性ポリマー溶液の pH を約 6.8 に再調整する工程、

(e) 接着促進剤を水溶性ポリマーの繰り返し単位上の利用可能な官能基の数に対して 1:100 ~ 50:100 のモル比で添加してヒドロゲル形成性ポリマー反応混合物を形成する工程、

(f) ヒドロゲル形成性ポリマー反応混合物を透析および凍結乾燥してヒドロゲル形成性ポリマーを形成する工程、

(g) ヒドロゲル形成性ポリマーを水に溶解してヒドロゲル形成性ポリマー溶液を形成する工程、

(h) ヒドロゲル形成性ポリマー溶液をフッ化物剤と混合して歯科用組成物を形成する工程

によって調製してもよい。

【0101】

一実施形態では、水溶性歯科用組成物は、

(a) ヒドロゲル形成性ポリマーを水に溶解してヒドロゲル形成性ポリマー溶液を形成する工程、

(b) 抗酸化剤および金属イオン源を水に溶解して第 1 の溶液を形成する工程、

(c) 任意に、第 1 の溶液に分岐鎖状カチオン性ポリマーを添加して分岐鎖状カチオン性ポリマー溶液を形成する工程、

(d) 第 1 の溶液に前記分岐鎖状カチオン性ポリマーを添加する場合に工程 (d) を省略するという条件で、第 1 の溶液をヒドロゲル形成性ポリマー溶液に添加してヒドロゲル形成性ポリマー混合物を形成する工程、

(e) 任意に、分岐鎖状カチオン性ポリマー溶液をヒドロゲル形成性ポリマー溶液に添加してヒドロゲル形成性ポリマー/分岐鎖状カチオン性ポリマー混合物を調製する工程、

10

20

30

40

50

( f ) 抗酸化剤を水に溶解して第 2 の溶液を形成する工程、

( g ) 任意に、ヒドロゲル形成性ポリマー / 分岐鎖状カチオン性ポリマー混合物に第 2 の溶液を添加して抗酸化剤ポリマー混合物を形成する工程、

( h ) 第 2 の溶液をヒドロゲル形成性ポリマー / 分岐鎖状カチオン性ポリマー混合物に添加する場合に工程 ( h ) を省略するという条件で、ヒドロゲル形成性ポリマー混合物に第 2 の溶液を添加して抗酸化剤ヒドロゲル形成性ポリマー混合物を形成する工程、

( i ) 任意に、抗酸化剤ポリマー混合物をフッ化物剤と混合して水溶性歯科用組成物を形成する工程、

( j ) 抗酸化剤ポリマー混合物をフッ化物剤と混合する場合に工程 ( j ) を省略するという条件で、抗酸化剤ヒドロゲル形成性ポリマー混合物をフッ化物剤と混合して水溶性歯科用組成物を形成する工程  
によって調製してもよい。

10

#### 【 0 1 0 2 】

水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、分岐鎖状カチオン性ポリマーは、本組成物と歯エナメルとの接着動態を高めるために選択される。

#### 【 0 1 0 3 】

本明細書に記載されている水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは、組成物の総体積に対して約 0 . 0 1 重量 % ~ 約 5 0 重量 %、例えば約 0 . 1 重量 % ~ 約 2 0 重量 % または約 1 . 0 重量 % ~ 約 1 0 重量 % の量で存在してもよい。

20

#### 【 0 1 0 4 】

水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、抗酸化剤は、ヒドロゲル形成性ポリマーの総体積に対して約 0 . 0 0 5 ミリモル / m l ~ 約 2 0 ミリモル / m l、例えば約 0 . 0 2 5 ミリモル / m l ~ 約 1 0 ミリモル / m l または約 0 . 0 5 ミリモル / m l ~ 約 5 ミリモル / m l の量で本歯科用組成物中に存在してもよい。

#### 【 0 1 0 5 】

水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、金属イオン源は、ヒドロゲル形成性ポリマーの総体積に対して約 0 . 0 0 1 ミリモル / m l ~ 約 5 ミリモル / m l、例えば約 0 . 0 0 2 ミリモル / m l ~ 約 1 モル / m l または約 0 . 0 1 ミリモル / m l ~ 約 2 ミリモル / m l の量で本歯科用組成物中に存在してもよい。

30

#### 【 0 1 0 6 】

水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、約 6 0 0 D a、1 2 0 0 D a および 1 8 0 0 D a の平均分子量を有する分岐鎖状ポリエチレンイミンを抗酸化剤および金属イオン源溶液に添加して分岐鎖状カチオン性ポリマー溶液を形成する。

#### 【 0 1 0 7 】

水溶性組成物を調製する方法の特定の実施形態では、分岐鎖状カチオン性ポリマーは、組成物の総体積に対して約 0 . 1 重量 % ~ 約 5 0 重量 %、例えば約 0 . 5 重量 % ~ 約 2 0 重量 % または約 1 重量 % ~ 約 1 0 重量 % の量で本歯科用組成物中に存在してもよい。

#### 【 0 1 0 8 】

いくつかの実施形態では、方法は、組成物を歯表面に塗布する工程を含む。本組成物は、凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマー、フッ化物剤および水を含む。

40

#### 【 0 1 0 9 】

特性 / 使用

本明細書に開示されている歯科用パーニッシュ組成物の特定の実施形態では、ヒドロゲル形成性ポリマーは、本パーニッシュ組成物の歯表面への高い接着を促進した。

#### 【 0 1 1 0 】

ドーパミングラフト化ポリマー (例えば、ポリアクリル酸 - g - ドーパミン) のカテコール部分は、カルシウムなどの特定の金属イオンに強く結合する能力を有する。そのような特徴は、*i n s i t u*での唾液からのカルシウムおよびリン酸イオンの共沈殿による

50

ヒドロキシアパタイト形成によって歯の再石灰化を加速することができる。従って、ドーパミングラフト化ポリマーベースのパーニッシュ系は急速なフッ化物放出および取込みが可能だけでなく、周囲の唾液からカルシウムを吸収することによって *in situ* の生体模倣再石灰化を促進することもできる。従来のパーニッシュ系は、そのような *in situ* の生体模倣再石灰化特徴を有していない。

#### 【0111】

水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュにおける凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーについて本明細書に記載してきたが、凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマーは、歯科インプラントの骨結合のための組成物、亀裂の入った歯の修復のための組成物、歯科用接着剤組成物、薬物送達系、再石灰化組成物、またはホワイトニング剤を有するペイントオンストリップ (*paint-on-strip*) の中に含めることもできる。

10

#### 【0112】

本明細書に記載されている開示は、以下の実施例に記載されている組成物によってさらに例示されているが、これらの実施例は本開示の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

#### 【0113】

##### 実施例1：HA-g-ドーパミンの合成

約100kDaの重量平均分子量を有する300mgのHAを5~10時間の期間にわたって室温で100mLの脱イオン(DI)水に溶解した。この溶液のpHを0.1Nの塩酸(HCl)および0.1Nの水酸化ナトリウム(NaOH)水溶液で5.5に調整した。次いで、この溶液にアスコルビン酸を添加して1mg/mLの濃度を達成し、ドーパミンをHAの繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基の数に対して30:100のモル比で添加した。次いで、この得られた溶液混合物のpHを約6.8に調整した。次いで、ヒアルロン酸(HA)の繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基1mol当たり3mmolのEDCを添加し、そのpHを約6.8に再調整した。次に、HAの繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基1mol当たり3mmolのHOBtを添加し、反応溶液を約6.8のpHに約9時間維持した。その後、塩化ナトリウム(NaCl)を最終反応混合物に5mg/mLの濃度で溶解した。エタノール中での沈殿により未反応試薬を除去した。最終沈殿物をDI水に再溶解し、3~5kDaの分子量カットオフ(MWCO)を有する透析膜を用いて0.5g/mLのNaClを含有する水溶液に対して透析した。凍結乾燥によって水を除去してHA-g-ドーパミン最終生成物を得た。

20

30

#### 【0114】

同様のHA-g-ドーパミン結合体を、約350kDa、約700kDaおよび約1500kDaの重量平均分子量を有するHAから合成した。

#### 【0115】

一例では、得られたHA-g-ドーパミンをプロトン( $^1\text{H}$ )核磁気共鳴(NMR)分光法によって特性評価した。図3は、 $\text{D}_2\text{O}$ 中に約8~10mg/mLの濃度のHA-g-ドーパミンのために得られたプロトンNMRスペクトルを示す。図4を参照すると、7ppm未満のピークのピーク面積よりも著しく大きい7ppm超のピークのピーク面積は、試料中に存在するドーパミンの大部分がHAに結合されており、かつ未結合ドーパミンが最低の量しか存在しないことを示す。HA鎖上のドーパミン結合の割合はNMRスペクトルからおよそ25%であると推定されたが、HA-g-ドーパミンの凍結乾燥された試料中の若干の潜伏性溶媒の存在により、ドーパミンの正確な結合率を計算することは難しかった。新鮮な試料と2週間経過した試料との間のNMRスペクトルの変化から、その期間にわたってHA-g-ドーパミンの若干の分解が生じていることが分かった。

40

#### 【0116】

図5に示すようにドーパミンは約280nmで紫外線を吸収するので、紫外可視分光光度計および1cm石英セルを用いてHA-g-ドーパミンに対してUVスペクトル測定を行ってドーパミン結合率をより正確に決定した。較正曲線はその濃度の関数としてドーパ

50

ミン溶液の吸光度を測定することによって得、図6に示すように280nmにおけるドーパミンのUV吸光度は0~5mg/mLの範囲の濃度に対して実質的に線形である。その後、1mg/mLのHA-g-ドーパミンの吸光度を観察し、ドーパミンの校正曲線に基づいて結合ドーパミンの割合を計算した。一例では、HA-g-ドーパミンに対するドーパミン結合率は、ドーパミンの校正曲線を用いて計算した場合に22%であった。

#### 【0117】

一例では、5wt%のHA-g-ドーパミンのDI水溶液の粘度をコーンプレートジオメトリを用いるレオメーターを用いて37および10Paの剪断力応力で測定し、ここではHAは約700kDaの重量平均分子量を有していた。図7に示すように、この溶液の粘度は約150センチポアズ(cP)であった。人工唾液中2~3mg/mLの範囲の濃度のヒドロキシアパタイト粒子の懸濁液150μLを300μLのHA-g-ドーパミン溶液と混合し、かつその粘度を再測定した。いくつかの実施形態では、人工唾液中のヒドロキシアパタイト粒子の濃度は1~100mg/mLの範囲である。ヒドロキシアパタイト懸濁液の添加により、約1分以内に約300~400cPの粘度を有する粘性ゲルが形成された。図7に示すように、この粘度は最初の混合工程の後に約5分で約250cPまで経時的にゆっくりと減少した。

10

#### 【0118】

性能試験：濡れたウシの歯へのHA-g-ドーパミンの接着

一例では、濡れたウシの歯へのHA-g-ドーパミンの接着を従来のプロトコルを用いて行った。すなわち、塩化アルミニウム(AlCl<sub>3</sub>)を含有する1wt%のHA-g-ドーパミンのDI水溶液を調製した。ウシの歯を水中37で一晩インキュベートした。HA-g-ドーパミン溶液をウシの歯に塗布する30秒前にウシの歯を水から取り出し、次いでこの歯を2~3分間乾燥させた。次いでこの歯を水中37で2時間インキュベートした。HAなどの特定の多糖を特異的に染色するアルシアンブルー溶液(3~5の範囲のpHの酸性の酸の中に1wt%のアルシアンブルー色素)を使用して、ウシの歯を染色してHAのこの歯への接着レベルを確認した。この歯をアルシアンブルー溶液に37で30分間浸漬し、水で広範囲に洗浄し、次いでカラー写真を撮った。

20

#### 【0119】

図8~図11を参照すると、2時間の接着プロセスによりHA-g-ドーパミンのウシの歯エナメルへの結合および結合に対するHAの分子量の効果が明らかに実証された。図8は、ドーパミンに結合された最も高い分子量、すなわち1500kDaのHAの場合、非常に濃い青色の染色面積、中程度の染色面積、および薄い青色の染色面積が観察されたことを示す。HAの分子量が1500kDa(図8)から700kDa(図9)、350kDa(図10)、100kDa(図11)へと減少するにつれて、より非常に強く染色される面積のサイズおよびレベルが減少したので、その染色はより均一になった。図11は、HA-g-ドーパミンの低分子量の結合体の接着が非常に均一であったことを示す。理論によって縛られたくはないが、より高い分子量がこの歯の上の膨潤ポリマーの量を増加させ、これが低膨潤ポリマーよりも濃く染色したと考えられる。

30

#### 【0120】

HA-g-ドーパミン系は良好な接着を示したが、その系の温度感受性および分解レベルは歯科用バーニッシュに使用するのに理想的なものよりも大きかった。HA-g-ドーパミンの合成のために使用したプロトコルと同様のプロトコルを用いてドーパミンをHA-g-ドーパミン系の代わりにPAAに結合させた。EDC/HOBt触媒化学を用い、ドーパミンのアミン基とPAA上のカルボン酸基との間で形成されるアミン結合によってドーパミンをPAAに結合させた。一実施形態では、PAA-g-ドーパミン中のドーパミンの結合率は5~80%の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、PAA-g-ドーパミン中のドーパミンの結合率は20~30%の範囲である。

40

#### 【0121】

実施例2：抗酸化剤の存在下でのPAA-g-ドーパミンの合成

約450kDaの重量平均分子量を有する500mgのポリアクリル酸(PAA)を1

50

50 mLのDI水に室温で5～10時間溶解した。次いで、0.1 NのHClおよび0.1 NのNaOH水溶液を用いてこの溶液のpHを約6.8に調整した。次いで、この溶液に抗酸化剤としてアスコルビン酸を添加して1 mg/mLの濃度を達成した。ポリアクリル酸の繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基1 mol当たり約3 mmolのEDCを添加し、そのpHを約6.8に再調整した。次に、ポリアクリル酸の繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基1 mol当たり3 mmolのHOBTを反応混合物に添加し、約6.8のpHを再確立した。その後、この溶液にドーパミンをPAAの繰り返し単位上の利用可能なカルボン酸基の数に対して30:100のモル比で添加し、次いでこの溶液を約6.8のpHに約9時間維持した。最後に、反応混合物を3～5 kDaのMWC0を有する透析膜を用いて0.5 g/mLのNaClを含有する水溶液に対して2日間、次いでDI水に対して1日間透析した。水を凍結乾燥によって除去してPAA-g-ドーパミン最終生成物を得た。

10

## 【0122】

当該合成中にアスコルビン酸を添加する工程を含まない上記プロトコルを用いて対照PAA-g-ドーパミンの合成を繰り返した。

## 【0123】

図12を参照すると、当該合成中にアスコルビン酸の存在下で合成されたPAA-g-ドーパミンは透析後に無色であった。しかし図13を参照すると、アスコルビン酸の非存在下で合成されたPAA-g-ドーパミンでは黒色の呈色が観察された。ドーパミン/カテコールの酸化により生じたキノン形成により黒色の呈色が引き起こされた。この溶液中に例えばアスコルビン酸または二酸化硫黄などの抗酸化分子が存在することで黒色の呈色が防止される。理論によって縛られたくはないが、酸化の防止は恐らく、酸素を除去したこと、あるいはフェノール化合物の酸化から形成されたオルトキノン誘導体を減少させたことのいずれかによるものである。

20

## 【0124】

一例では、得られたPAA-g-ドーパミンをプロトン( $^1\text{H}$ )核磁気共鳴(NMR)分光法によって特性評価した。図14は、 $\text{D}_2\text{O}$ 中のPAA-g-ドーパミンのために得られたプロトンNMRスペクトルを示す。PAA-g-ドーパミンのNMRにおいて4.79 ppmにおいて認められるピークは、試料の溶解のために使用した重水に対応する。1.58～1.88 ppm(G)および2.3 ppm(F)における2つのピークは、PAAポリマー骨格の水素(それぞれ $-\text{CH}(\text{CH}_2-)-$ および $-\text{CH}(\text{CH}_2-)-$ )に対応する。2.7～2.8 ppm(E)および3.0～3.2 ppm(D)において認められるピークは、ドーパミンの $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ の水素に対応する。6.6 ppmおよび6.8 ppm(A、B、C)において認められるピークは、ドーパミンの $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2$ の芳香族水素に対応する。従って、PAAおよびドーパミンの両方が当該試料中に存在していた。さらに、PAA上のドーパミングラフト率を式 $f = A/A_0$ によって推定した。グラフト化ドーパミン分子の芳香族環中のHの量は6.6～6.8 ppmにおけるピークの積分面積を計算することによってAとして表した。A<sub>0</sub>はポリマー骨格中のHの量を表す1.4～2.5 ppmにおけるピークの積分面積であった。この方法論によって、結合率を計算するとおよそ13%であり、新鮮な試料と2週間経過した試料との間でこの率に変化はなく、これは、その期間にわたって分解が存在しないことを示している。

30

40

## 【0125】

PAA-g-ドーパミンの濡れたウシの歯への接着

一例では、PAA-g-ドーパミンの濡れたウシの歯への接着をHA-g-ドーパミンのために使用したものと同様の従来のプロトコルを用いて行った。DI水に溶解したPAA-g-ドーパミンの10 wt%溶液を濡れた歯の上に塗布した。2～3分後、この溶液を塗布した歯およびこの溶液を塗布していない同様の歯にバーニッシュを塗布した。これらの歯を人工唾液中37℃で約2時間インキュベートした。インキュベーション後に、これらの歯をそれぞれ0.01 wt%のニュートラルレッド水溶液に室温で5分間浸漬した

50

(ニュートラルレッドは正に帯電し、かつPAAは負に帯電しているのでこの溶液はPAAを染色する)。次いでこれらの歯をDI水で洗浄し、一晩中DI水の中に放置した。最後に、これらの歯をDI水から取り出して写真を撮った。図15に示されているこの溶液を塗布した歯の写真と図16に示されているこの溶液を塗布していない歯の写真との比較はこの溶液を塗布した歯の非常により高いレベルのニュートラルレッド染色を示し、これはPAA-g-ドーパミンのウシの歯への接着を示している。

#### 【0126】

再石灰化：ヒドロゲル形成性ポリマー製剤によるカルシウム吸収

一例では、歯科用バーニッシュ組成物は、*in situ*での生体模倣再石灰化を周囲の唾液からカルシウムを吸収することができることによって促進した。約200mgのPAA-g-ドーパミンを約4.4mLのDI水に溶解した。別々に、約60mgのアスコルビン酸、0.5mLのDI水中約20mgの塩化アルミニウム、および約0.55mLの5MのNaOHを1つにまとめることによって溶液を形成し、次いでPAA-g-ドーパミン溶液と1つにまとめた。次に、約100mgのホウ酸を約1mLのDI水に溶解し、溶液に添加した。最後に、この溶液に約0.27mLの48~50wt%フッ化水素酸を添加し、5MのNaOHを用いてpHを8.0に調整した。

10

#### 【0127】

調製したバーニッシュ製剤をガラススライドに塗布し、このガラススライドを25mMの塩化カルシウム溶液中で約30分間インキュベートした。対照として、調製したバーニッシュ製剤を含む別のガラススライドをDI水中で約30分間インキュベートした。

20

#### 【0128】

図17を参照すると、対照のガラススライドは30分間のインキュベーション後もまだ透明であった。対照的に、塩化カルシウム中でインキュベートしたガラススライドは図18に示すように1分後に僅かに白っぽい色であり、図19に示すように30分間の完全なインキュベーションでより白っぽくなり、これはCaCl<sub>2</sub>溶液に浸漬したバーニッシュによるCaCl<sub>2</sub>の吸収を明らかに示している。

#### 【0129】

水溶性歯科用組成物の調製

一例では、歯科用バーニッシュのエナメルへの向上した接着は、バーニッシュ製剤に刺激部分を含めることによって達成した。最初に、約175mgのPAA-g-ドーパミンを約4.4mLのDI水に溶解した。別々に、約60mgのアスコルビン酸および20mgの塩化アルミニウムを約0.5mLのDI水に溶解し、次いで約600Daの平均分子量を有する約0.55mgの分岐鎖状ポリエチレンイミンを添加した。徹底的に混合した後で、分岐鎖状ポリエチレンイミン溶液をPAA-g-ドーパミン溶液に添加した。次いで、約100mgのホウ酸を約1mLのDI水に溶解し、PAA-g-ドーパミン/分岐鎖状ポリエチレンイミン混合物に添加した。次に、別の0.55mgの分岐鎖状ポリエチレンイミン、次いで0.27mLのフッ化水素酸を添加して、最終の刺激部分含有バーニッシュ製剤においてフッ化物源を得た。分岐鎖状ポリエチレンイミンはバーニッシュ製剤のために刺激部分を与えた。

30

#### 【0130】

対照バーニッシュ製剤は、分岐鎖状ポリエチレンイミンを5MのNaOHと置き換えたこと以外は刺激部分含有バーニッシュ製剤と同じ方法によって比較のために調製した。

40

#### 【0131】

バーニッシュ製剤のエナメル様ヒドロキシアパタイトディスクへの接着

次いで、エナメル様ヒドロキシアパタイトディスクに対して接着試験を行った。但し、刺激部分含有バーニッシュ製剤または対照バーニッシュ製剤を塗布する前に、ヒドロキシアパタイトディスクをDI水中で1~2時間インキュベートした。次いで、調製したバーニッシュを濡れたヒドロキシアパタイトディスクに塗布し、約2~3分放置して当該ディスクに結合させた。第2の対照として、濡れたヒドロキシアパタイトディスクにバーニッシュ製剤を与えずに、アルシアンブルー色素がバーニッシュによって吸収され、かつヒド

50

ロキシアパタイトディスクによって吸収されないことを確認した。

【0132】

次いで、3つのヒドロキシアパタイトディスクを別々に人工唾液溶液に浸漬した。約37での2時間のインキュベーション後に、ヒドロキシアパタイトディスクをDI水で洗浄し、次いで空気乾燥させた。最後に、ヒドロキシアパタイトディスクをアルシアンブルー色素(pH 1.5~2.0)で染色した。図20を参照すると、バーニッシュを含まないヒドロキシアパタイトディスクは、青色染色を有する若干のみぼやけた領域を有していたがほぼ白色であった。図21は、対照バーニッシュを有するヒドロキシアパタイトディスクが青色染料によって薄い青色に中程度に染色されていたことを示す。しかし、図22は、刺激部分含有バーニッシュによるヒドロキシアパタイトディスクの濃いかなり均一な青色への強い染色を示し、これはバーニッシュ組成物が刺激部分を含有する場合にヒドロキシアパタイトディスクへのより高い接着を示している。

10

【0133】

生体適合性、F放出およびF取込み試験のためのバーニッシュ製剤の合成

ポリアクリル酸(1000mg)をPBS緩衝液(100mL)に室温で1時間溶解し、0.1Nの塩酸(HCl)および0.1Nの水酸化ナトリウム(NaOH)水溶液を用いてpHを12.00に調整した。次いで、EDC(1200mg)を添加し、pHを9に調整し、NHS(1200mg)を添加し、pHを約6.2に調整した。次に、ドーパミン(984mg)を反応混合物に添加し、次いで反応混合物のpHを約6.1に約2時間維持した。次いで、アスコルビン酸(200mg)を反応混合物に添加し、pHを約6.1に調整し、24時間反応を続けた。一晩後、0.1MのNaOHおよび0.1MのHClを用いて溶液のpHを4.00まで低下させ、PAA-g-ドーパミンの白色の沈殿物を沈殿させ、上澄みを捨てた。白色の沈殿物をpH6.00の四ホウ酸ナトリウム十水和物溶液(1g/mL)を含有するDI水に再溶解した。沈殿工程を2回繰り返した。次いで、回収した沈殿物を5mLのフッ化アルミニウム溶液(32mg/mL)および14mLの四ホウ酸ナトリウム十水和物溶液と混合し、DI水を添加して50mLの総体積を調製し、次いで成分が均一に溶解するまで徹底的に混合した。20mLのこの溶液において、2mLのポリエチレンジアミン(PEI)(600Da)および0.5mLのHF(48~51%)を徹底的に混合し、次いで1.0mLのPEI(1200Da)および別の0.5mLのHF(48~51%)を混合した。最後に、1mLの塩化アルミニウム溶液(20mg/mL)を混合し、濃塩酸を用いてpHを調製pH10から7.5~8.00に調整した。

20

30

【0134】

生体適合性

L-929哺乳類線維芽細胞を用いてバーニッシュ製剤の抽出物の細胞毒性応答を決定するために、定量的MTT細胞毒性アッセイを使用した。生細胞のミトコンドリア脱水素酵素は黄色のMTT溶液を青色~紫色の不溶性ホルマザンに変換するので、このアッセイは代謝活性により細胞の生存率を測定する。ホルマザン結晶をイソプロパノールに溶解して光度測定のために均質な溶液を調製する。生存細胞の数は色の強度に相関する。

40

【0135】

抽出物を回収するために、被験物質ごとに調製のために20個のヒドロキシアパタイトディスクを使用した。200mgの各被験物質を20個のディスクに塗布し(1つのディスク当たり10mg)、これらのディスクを室温で5分間放置した。次いで、ヒドロキシアパタイトディスクを10mLの媒体で約10秒間洗い流して過剰なバーニッシュを除去した。次いで、洗い流したディスクを抽出媒体中でインキュベートした。比較用の被験物質は、バーニッシュが塗布されていない1つの洗い流していないヒドロキシアパタイトディスクで構成されていた。対照をISO比に従って無菌的に調製し、被験物質と同時に試験した。MTT媒体+10%FBSを抽出比に基づいて被験物質および対照に添加した。オービタルシェーカー上で連続的に攪拌しながら被験物質および対照被験物質を抽出した。被験物質および対照被験物質抽出媒体を抽出の直前および直後に目視で検査した。これ

50

かの抽出物をインキュベーション完了後24時間以内に試験のために使用した。抽出後に、抽出物を3000RPMで5分間遠心分離し、次いで100%、50%、25%および12.5%の希釈を用いて細胞生存率を評価するための希釈物を生成するために使用した。次いで、回収した抽出物の細胞毒性を国際標準化機構（ISO）10993-5:2009および英国規格欧州規格ISO（BS EN ISO）10993-5:2009（インビトロでの細胞毒性のための試験）に準拠して試験した。

【表1】

ISO 10993-12:2012に準拠したMTTアッセイを用いた細胞毒性試験

試料	抗酸化剤	pH	細胞毒性			
			希釈なし (100%抽出物)	100%抽出物の1/2希釈	100%抽出物の1/4希釈	100%抽出物の1/8希釈
DHGV27	Borax	7.5	毒性 (1.76%生存率)	毒性 (43.45%生存率)	毒性 (54.27%生存率)	生体適合性 (82.06%生存率)
DHGV28	Borax	7.75	毒性 (52.24%生存率)	生体適合性 (73.26%生存率)	生体適合性 (75.02%生存率)	生体適合性 (71.14%生存率)
DHGV29	Borax	8.00	毒性 (1.19%生存率)	毒性 (51.31%生存率)	生体適合性 (76.21%生存率)	生体適合性 (111.85%生存率)
DHGV30	Borax緩衝液	7.75	生体適合性 (83.74%生存率)	生体適合性 (81.80%生存率)	生体適合性 (81.88%生存率)	生体適合性 (93.82%生存率)
DHGV31	Cystiene	7.65	毒性 (7.54%生存率)	毒性 (3.64%生存率)	毒性 (31.24%生存率)	毒性 (56.05%生存率)
DHGV32	メタ重亜硫酸ナトリウム	7.75	毒性 (12.53%生存率)	毒性 (55.29%生存率)	毒性 (41.57%生存率)	毒性 (52.41%生存率)

10

20

【0136】

エナメルによるフッ化物の取込み

パーニッシュの成分を変えてパーニッシュの3種類の製剤（DHGV30、DHGV32およびDHGV36）を合成し、Fの取込みについて試験した。フッ化物取込み実験のために、健全なウシの門歯エナメルをメタクリル酸メチルを用いたプレキシガラスロッド（1/4”の直径×2”の長さ）の端部に埋め込んだ。その後、約5.0のpHのリン酸カルシウム溶液で50%飽和させた約0.1Mの乳酸/0.2%カーボポール907の中にほぼ室温で約24時間浸漬させて、それらの中に人工の初期病変部を形成した。これらの検体を水和状態に維持し、使用するときまで40で貯蔵した。

30

【0137】

8つの検体をグループごとに番号付けし、検体のエナメル表面をその栓と同一平面にした状態でネオプレンゴム栓の中に置いた。これらの栓は、8つのエナメル検体を栓の外縁の周りに均等に分散させるように特に設計されていた。試験パーニッシュの単層（約0.0050±0.001g）を各個々の検体の表面に塗布した。エナメル表面を上に向けた状態でこの栓を検体カップの中に置いた。溶液容器（人工唾液、付録を参照）からの管は多チャンネル蠕動ポンプを通り抜けて、検体カップの蓋の中の穴に固定されていた。多チャンネルポンプは、この栓の上の中心への溶液のゆっくりとした滴下（およそ1.0ml/分）を与えるように設定されていた（溶液滴はこれらの8つの検体のいずれの上にも直接落下しなかった）。この表面（8つ全ての検体を均等に覆っている）での溶液回収は、最終的にそれを栓の上に保持している張力を破壊し、検体カップの底に流れ落ちた。検体カップはこの溶液レベルが決してこの栓の表面に達しないようにするために排水管を備えてい

40

50

た。従って、パーニッシュで処理されたエナメル検体と接触している溶液は新鮮な溶液とゆっくりと交換され、口腔内での唾液の流れを模倣していた。

【0138】

2時間の処理時間後に、検体を栓から取り出し、過剰なパーニッシュを慎重に除去した（へらを用いた物理的除去およびその後の試薬グレードのエチルアルコールで飽和させた綿棒を用いた除去）。次いで検体を流れているDI水で30秒間よく洗い流した。エナメルの1つの層を0.5mLの1.0Nの過塩素酸（ $\text{HClO}_4$ ）中に15秒間浸漬させることによって各検体から除去した。各溶液の試料をTISABIIで5.2のpHまで緩衝し（0.25mLの試料、0.5mLのTISABIIおよび0.25mLの1Nの $\text{NaOH}$ ）、同様に調製したフッ化物の標準曲線と比較することによりフッ化物用電極を用いてフッ化物含有量を決定した。第2の試料を、深さ決定に使用するためのカルシウム含有量のための原子吸光により解析した（5.0mLに希釈した0.05mLの試料）。

10

【0139】

結果：DHGV30は、DHGV32（ $2776 \pm 223$ ）およびDHGV36（ $2626 \pm 140$ ）と比較して最も高いF取込み（ $4910 \pm 154$ ）を支持していた。

【0140】

F放出実験

各試験試料のために、最低でも2つの複製物を調製した。公知の量のパーニッシュ製剤をガラススライドに塗布し、パーニッシュが塗布されたガラススライドを10mLの人工唾液を含有する容器に移した。パーニッシュからのF放出を室温で2時間可能にした。2時間後、10mLの人工唾液を10mLのTISABIIを含有する小型のプラスチックビーカーに移し、両方の溶液を混合してこの溶液における放出Fイオンを決定した。

20

【表2】

パーニッシュからのフッ化物放出

試料	抗酸化剤	$\text{AlCl}_3$	$\text{AlF}_3$	パーニッシュ中のF(ppm)	pH	F放出
DHGV30	ホウ酸緩衝液	✓	✓	22600	7.75	19973
DHGV31	ホウ酸緩衝液＋ L-システイン	✓	✓	22600	7.75	20334
DHGV32	ホウ酸緩衝液＋ メタ重亜硫酸ナ トリウム	✓	✓	22600	7.75	22758
DHGV33	ホウ酸緩衝液＋ L-システイン	✓	✓	11300	7.75	10519
DHGV34	ホウ酸緩衝液＋ L-システイン	✓	×	22600	7.75	21020
DHGV35	ホウ酸緩衝液＋ L-システイン	×	✓	22600	7.75	20500
DHGV36	ホウ酸緩衝液＋ L-システイン	×	×	22600	7.75	19975

30

【0141】

表3は、特定の市販のパーニッシュの特定の成分および特性と水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュとの比較を示す。

40

【表 3】

入会可能なパーニッシュとヒドロゲル系パーニッシュとの比較

特徴	NuproWhite	FluorProtector	CleanPro	Duraphat	ヒドロゲル
天然樹脂	水素化ロジン		変性ロジン	マスチックまたはセラック	キトサンまたは変性セルロース
合成ポリマー	ウレタン樹脂	ポリウレタン			ヒアルロン酸
溶媒	イソプロパノール	酢酸エチル/プロピオン酸イソアミル	エタノールおよび20%の水	エタノール	水
副生成物(例えば、ポリ尿素)	有	有	有	有	無
生理活性ポリマー	無	無	無	無	有
粘度	低	低	高	高	低
エナメルへの接着	物理的結合	物理的結合	物理的結合	物理的結合	共有結合
感作/刺激	有	有	有	有	無
フッ化物の種類	NaF	ジフルオロシラン	NaF	NaF	NaF、アミノ
フッ化物の割合	5wt%	0.1wt%	5wt%	5wt%	5wt%
フッ化物の形態	懸濁	懸濁	懸濁	懸濁	溶解
フッ化物の放出	急速	緩速	緩速	緩速	急速
フッ化物の取込み	中	高	低	中	高
混合	必要	必要	必要	必要	不要
歯の乾燥	不要	必要	不要	必要	不要

10

20

30

## 【0142】

いくつかの実施形態では、方法は、図23に示すように、水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物を歯表面に塗布する工程を含む。水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物は、凝集性および歯エナメルへの接着性を有するヒドロゲル形成性ポリマー、フッ化物剤および水を含む。水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物を生理的温度およびpHで歯表面に塗布した場合、ヒドロゲル形成性ポリマーは歯エナメルに接着すると同時にそれ自体に凝集することができる。より具体的には、ヒドロゲル形成性ポリマーは、歯エナメルのヒドロキシアパタイトに接着する。水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物はフッ化物塩が容易に溶解される水性の系であるため、水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物は歯への塗布前に水溶性ヒドロゲル系歯科用組成物の攪拌、混合または振盪のどれも行わずに塗布することができる。

40

## 【0143】

いくつかの実施形態では、当該結合体の接着性および凝集性はpH感受性である。いくつかの実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュを生理的pHで歯に塗布する方法は、水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュを調製する際のpHを、水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュのそれ自体への凝集レベルおよび水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュの歯表面への接着レベルがより高くなる塗布pHに調整する工程を含む。

## 【0144】

一実施形態では、水溶性ヒドロゲル系歯科用パーニッシュを調製する際のpHは約10

50

であってもよい。

【0145】

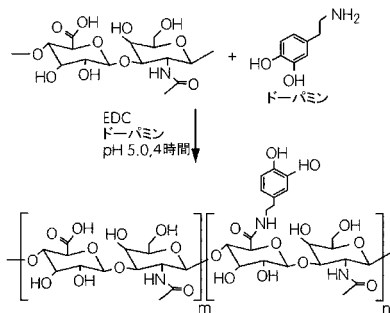
別の実施形態では、塗布 pH は約 7.5 ~ 約 8.5 であってもよい。

【0146】

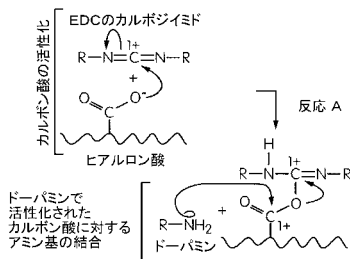
本開示について1つ以上の実施形態を参照しながら説明してきたが、様々な変形を行うことができ、かつ本開示の範囲から逸脱することなくそれらの要素を均等物で置き換えることができることが当業者によって理解されるであろう。また、特定の状況または材料をその必須の範囲から逸脱することなく本開示の教示に適合させるために多くの修正を行うことができる。従って、本開示は本開示を実施するために企図されている最良の形態として開示されている特定の実施形態に限定されず、本開示は添付の特許請求の範囲に含まれる全ての実施形態を含むことが意図されている。また、詳細な説明において特定されている全ての数値は正確な値および近似値の両方が明示的に特定されているかのように解釈されるべきである。

10

【図1】



【図2】



【図3】

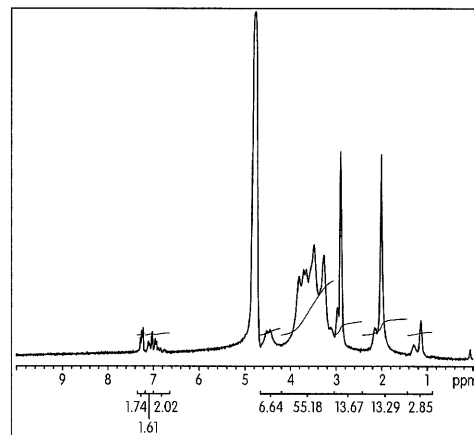


FIG. 3

【 図 4 】

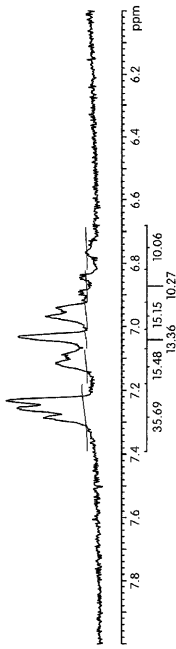
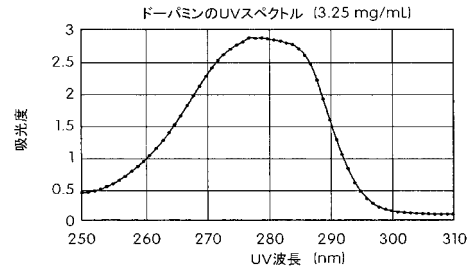
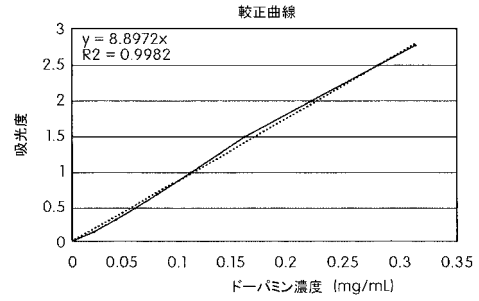


FIG. 4

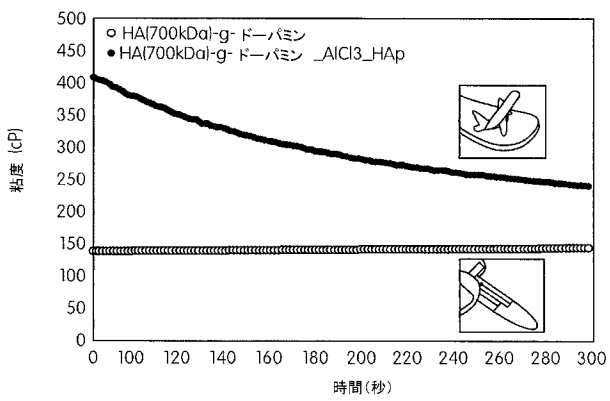
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

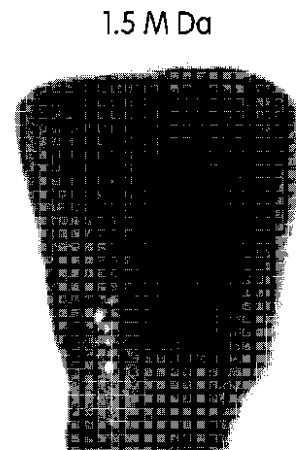


FIG. 8

【 図 9 】

700 kDa

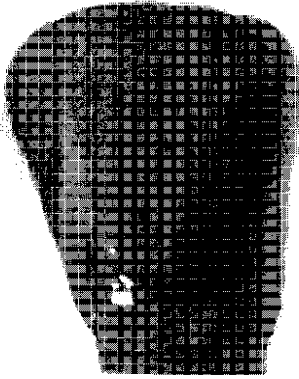


FIG. 9

【 図 1 0 】

350 kDa



FIG. 10

【 図 1 1 】

100 kDa

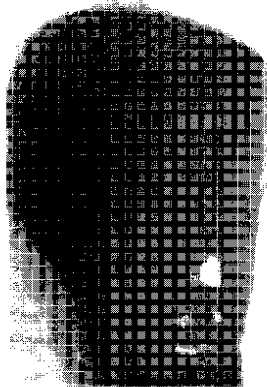
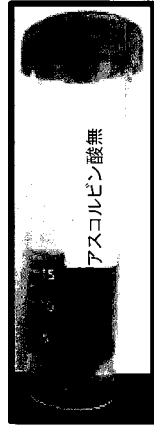


FIG. 11

【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



【 図 1 4 】

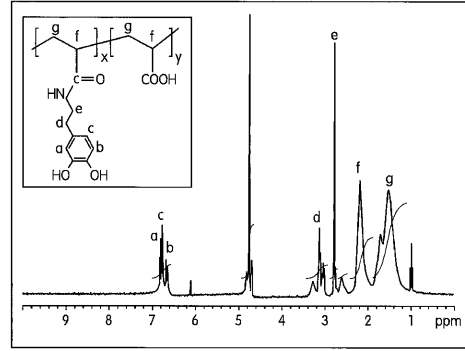


FIG. 14

【 図 1 5 】

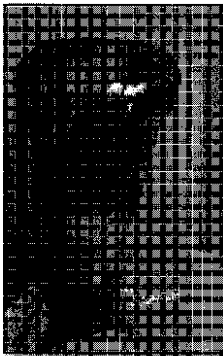


FIG. 15

【 図 1 6 】



FIG. 16

【図 17】

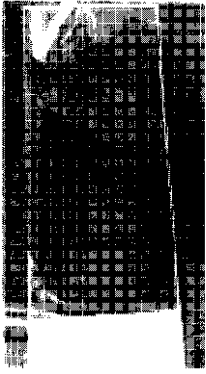


FIG. 17

【図 18】



FIG. 18

【図 19】

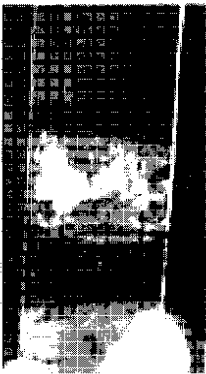


FIG. 19

【図 20】

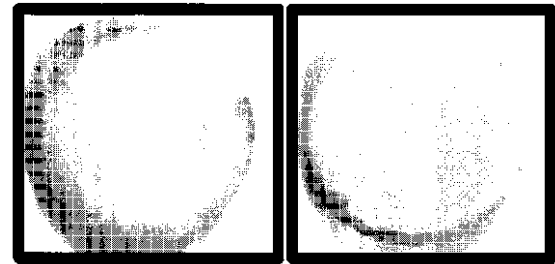


FIG. 20

【図 21】

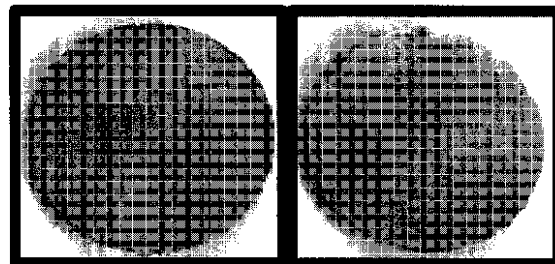


FIG. 21

【 図 2 2 】

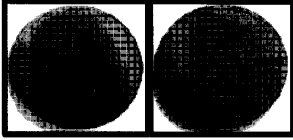
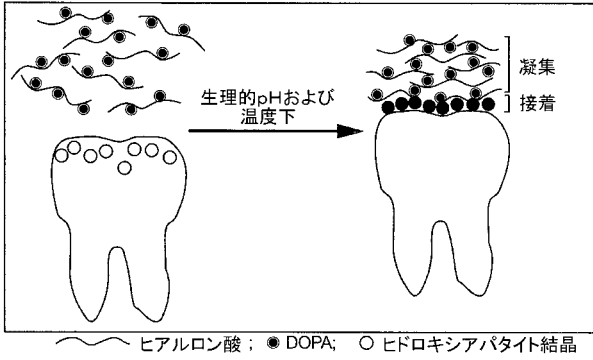


FIG. 22

【 図 2 3 】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/042916
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K6/00 A61L27/38 A61L27/52 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61L  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016/190400 A1 (JAPAN SCIENCE & TECH AGENCY [JP]) 1 December 2016 (2016-12-01)  the whole document & EP 3 305 866 A4 (JAPAN SCIENCE & TECH AGENCY [JP]) 13 June 2018 (2018-06-13) claims 1-21 paragraph [0044] - paragraph [0046] example 1	1-3, 10-13, 16,18-23
A	----- XI YANG ET AL: "Mussel-inspired human gelatin nanocoating for creating biologically adhesive surfaces", INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE, vol. 9, 2014, pages 2753-2765, XP002785245, the whole document -----	1-23
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
2 October 2018		15/10/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Siatou, Evangelia

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/042916

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>LIN LI ET AL: "Mussel-inspired hydrogels for biomedical and environmental applications", POLYMER CHEMISTRY, vol. 6, no. 3, 1 January 2015 (2015-01-01), pages 353-358, XP055511388, GB ISSN: 1759-9954, DOI: 10.1039/C4PY01415D the whole document</p> <p>-----</p>	1-23
A	<p>HAESHIN LEE ET AL: "Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings", ADVANCED MATERIALS, vol. 21, 2009, pages 431-434, XP002785246, the whole document</p> <p>-----</p>	1-23
A	<p>WO 2011/119468 A1 (ALLERGAN INC [US]; GUILLEN KARINA HEREDIA [US]; TEZEL AHMET [US]) 29 September 2011 (2011-09-29) claims 1-23 page 45</p> <p>-----</p>	1-23

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/042916

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016190400 A1	01-12-2016	EP 3305866 A1	11-04-2018
		JP W02016190400 A1	26-04-2018
		US 2018118978 A1	03-05-2018
		WO 2016190400 A1	01-12-2016
-----			
WO 2011119468 A1	29-09-2011	AU 2011229730 A1	01-11-2012
		AU 2016201976 A1	21-04-2016
		AU 2017272194 A1	04-01-2018
		CA 2794254 A1	29-09-2011
		DK 2550027 T3	22-08-2016
		EP 2550027 A1	30-01-2013
		EP 3078388 A1	12-10-2016
		ES 2585388 T3	05-10-2016
		HU E030138 T2	28-04-2017
		PL 2550027 T3	30-11-2016
		PT 2550027 T	12-08-2016
		US 2011229574 A1	22-09-2011
		US 2014206774 A1	24-07-2014
		US 2015196684 A1	16-07-2015
		US 2017021057 A1	26-01-2017
WO 2011119468 A1	29-09-2011		
-----			

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 8/81 (2006.01)	A 6 1 K 8/81	
A 6 1 K 8/67 (2006.01)	A 6 1 K 8/67	
A 6 1 K 8/41 (2006.01)	A 6 1 K 8/41	
A 6 1 K 8/36 (2006.01)	A 6 1 K 8/36	
A 6 1 K 8/49 (2006.01)	A 6 1 K 8/49	
A 6 1 K 8/33 (2006.01)	A 6 1 K 8/33	
A 6 1 K 8/37 (2006.01)	A 6 1 K 8/37	

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72) 発明者 ジャー , アミット

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 17401, ヨーク, スイート 60ダブリュー, 221  
ウエスト フィラデルフィア ストリート, デンツプライ シロナ インコーポレイテッド内

(72) 発明者 シモントン, トーマス シー .

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 17401, ヨーク, スイート 60ダブリュー, 221  
ウエスト フィラデルフィア ストリート, デンツプライ シロナ インコーポレイテッド内

Fターム(参考) 4C083 AC231 AC232 AC331 AC332 AC471 AC472 AC551 AC552 AC841 AC842  
AD091 AD092 AD281 AD282 AD321 AD322 AD331 AD332 AD641 AD642  
BB47 CC41 DD41 EE01 EE03  
4C089 AA06 BC02 BC03 BC05 BC08 BD08 CA03 CA09