

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192428** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.12.30

(22) Дата подачи заявки
2020.03.13

(51) Int. Cl. *A61K 6/838* (2020.01)
A61K 8/21 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)
A61K 8/24 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 33/16 (2006.01)
A61K 33/42 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ СТИМУЛИРОВАНИЯ МИНЕРАЛИЗАЦИИ

(31) **2019900834; 2019903859**

(32) **2019.03.13; 2019.10.14**

(33) **AU**

(86) **PCT/AU2020/050236**

(87) **WO 2020/181334 2020.09.17**

(71) Заявитель:

**ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ ОФ
МЕЛЬБУРН (AU)**

(72) Изобретатель:

Рейнолдс Эрик Чарльз (AU)

(74) Представитель:

Хмара М.В. (RU)

(57) Изобретение относится к композициям для применений, включая минерализацию зубной поверхности, в частности зубной эмали. Также предложены способы минерализации гипоминерализованных повреждений (включая повреждения подповерхности) в зубной эмали, обусловленных разными средствами, включая кариес зуба, зубную эрозию и флюороз. В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт со стабилизированным аморфным фосфатом кальция (АСР) и/или аморфным фторидом-фосфатом кальция (АСФР), и, одновременно или последовательно, нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры выше чем 37°C. В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (мас./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР).

A1

202192428

202192428

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ СТИМУЛИРОВАНИЯ МИНЕРАЛИЗАЦИИ

Перекрестная ссылка на более раннюю(ие) заявку(и)

Данная заявка заявляет приоритет по австралийским первоначальным заявкам 2019900834 и 2019903859, полные содержания каждой включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям для применений, включая минерализацию зубной поверхности, в частности, в зубной эмали. Также предложены способы минерализации гипоминерализованных повреждений (включая повреждения подповерхности) в зубной эмали, обусловленных разными средствами, включая кариес зуба, эрозию зуба и флюороз.

Предшествующий уровень техники

Обычные причины гипоминерализованных повреждений представляют собой кариес и флюороз.

Зубной кариес является результатом деминерализации твердой ткани зубов, обычно из-за ферментации пищевого сахара одонтопатогенными бактериями зубного налета. Кроме того, отреставрированные поверхности зубов могут быть чувствительны к дальнейшему развитию кариеса зуба вокруг краев реставрации. Эрозия или коррозия зубов представляет собой потерю зубного минерала из-за рациона или кислот, текущих в обратном направлении. Гиперчувствительность зубов обусловлена обнаженными дентинными канальцами за счет потери защитного минерализованного слоя, цемента. Зубной камень является нежелательным отложением минералов фосфата кальция на поверхности зуба. Все данные состояния: кариес зуба, эрозия зуба, гиперчувствительность зуба и зубной камень, таким образом, связаны с дисбалансом в уровне фосфатов кальция.

Флюороз эмали (пятнистость) известен на протяжении почти столетия, однако, этиологическая роль фторида была идентифицирована только в 1942 году. Характерный внешний вид флюороза может отличаться от других нарушений эмали. Клинические признаки флюоротических повреждений эмали (FLE – от англ. fluorotic lesion of enamel) представляют непрерывность, изменяющуюся от тонких матовых линий, сопровождающих перикиматы, до белой как мел эмали. Наличие сравнительно высоко минерализованной внешней поверхности эмали и гипоминерализованной подповерхности в флюоротическом повреждении

стимулирует начинающееся кариозное повреждение в виде «белого пятна» эмали. С возрастанием тяжести, как глубина эмали, задействованная в повреждении, так и степень гипоминерализации возрастает. Развитие флюороза сильно зависит от дозы, продолжительности и периода времени воздействия фторида, и, как считают, связано с повышенными концентрациями сывороточного фторида. Повреждения в виде «белого как мел пятна» могут также образовываться при развитии зубов у детей, как например, после лечения антибиотиками или лихорадки. Такие повреждения указывают на области гипоминерализации (а именно слишком малой минерализации) зубной эмали.

В зависимости от тяжести повреждения, с флюорозом справляются клинически посредством реставрационного замещения или микроистирания внешней эмали. Данные виды лечения являются неудовлетворительными, поскольку они включают реставрации или удаление зубной ткани. Что является желательным, так это лечение, которое будет осуществлять минерализацию гипоминерализованной эмали с получением нейтрального внешнего вида и структуры.

Показано, что конкретные комплексы казеин фосфопептидов и аморфного фосфата кальция («CPP-ACP», имеющийся в продаже как Recaldent™) осуществляют реминерализацию повреждений подповерхности эмали *in vitro* и *in situ*.

В WO 98/40406 от имени университета Мельбурна (содержания которых полностью включены в данный документ посредством ссылки) описаны комплексы казеин фосфопептида и аморфного фосфата кальция (CPP-ACP) и комплексы CPP-стабилизированного аморфного фторида-фосфата кальция (CPP-ACFP), которые получены при щелочном pH. Такие комплексы, как было показано, предупреждают деминерализацию эмали и стимулируют реминерализацию повреждений поверхности эмали в животных и человеческих моделях кариеса *in situ*. Улучшенные комплексы аморфного фосфата кальция и казеин фосфопептида (CPP-ACP) и комплексы CPP-стабилизированного аморфного фосфата кальция (CPP-ACFP) также описаны в WO2006/056013 и WO2006/135982, включая предпочтительные комплексы, образованные при pH 5 – 6,5.

CPP, которые являются активными в образовании комплексов, действуют таким образом вне зависимости от того, являются ли они частью полноразмерного белка казеин или нет. Примеры активных (CPP), которые могут быть выделены после триптического расщепления полноразмерного казеина, конкретно указаны в

патенте США № 5015628 и включают пептиды Bos α_{s1} -казеин X-5P (f59-79), Bos β -казеин X-4P (f1-25), Bos α_{s2} -казеин X-4P (f46-70) и Bos α_{s2} -казеин X-4P (f1-21).

В то время как комплексы CPP-ACP и CPP-ACFP являются эффективными в реминерализации гипоминерализованной эмали, настоящие способы изготовления ограничивают количество CPP-ACP или CPP-ACFP, которое можно использовать в жидкой форме из-за склонности комплексов к поперечному связыванию с образованием геля. Образование геля снижает активность (биодоступность) ионов, требуемых для реминерализации повреждения подповерхности эмали. Это является значимым ограничением клинически, поскольку реминерализация является медленным процессом, и достижение значимой реминерализации может занимать несколько месяцев при концентрациях CPP-ACP или CPP-ACFP 10%.

Существует необходимость в предложении улучшенных или альтернативных видов лечения в отношении гипоминерализованных повреждений.

Ссылка на любой предшествующий уровень техники в описании изобретения не является официальным признанием или указанием на то, что данный предшествующий уровень техники образует часть общеизвестного общего знания в любой юрисдикции, или что данный предшествующий уровень техники, как можно было разумно ожидать, понят, считается релевантным и/или объединен с другими объектами предшествующего уровня техники специалистом в данной области.

Краткое изложение сущности изобретения

В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий:

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт со стабилизированным аморфным фосфатом кальция (ACP) и/или аморфным фторидом-фосфатом кальция (ACFP), и одновременно или последовательно,

нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP, до температуры, выше чем 37°C.

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP).

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий:

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP), и одновременно или последовательно,

нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесена или наносят жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного ACP и/или ACFP, до температуры выше чем 37°C.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен способ реминерализации повреждения зуба, включающий:

приведение гипоминерализованной зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей по меньшей мере 40% (масс./масс.) аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP), стабилизированного фосфопептидом (PP), при pH выше чем или равном pH 5, но ниже чем или равном pH 9,

реминерализацию, вследствие этого, повреждения зуба. Предпочтительно, жидкая композиция имеет pH, выше чем или равный pH 6, но ниже чем или равный pH 8, например, выше чем или равный pH 7, но ниже чем или равный pH 8.

В любом аспекте изобретения способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP (например, в жидкой композиции), до температуры, выше чем или равной 40°C, выше чем или равной 45°C, выше чем или равной 50°C, выше чем или равной 55°C, выше чем или равной 60°C или выше чем или равной 65°C.

В любом аспекте изобретения способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP (например, в жидкой композиции), до температуры, выше чем 37°C, но равной или ниже чем 65°C, выше чем 40°C, но равной или ниже чем 65°C, выше чем 45°C, но равной или ниже чем 65°C, выше чем 50°C, но равной или ниже чем 65°C, выше чем 55°C, но равной или ниже чем 65°C, выше чем 60°C, но равной или ниже чем 65°C.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP), содержит 25% (масс./об.) или больше чем 25% (масс./об.), 30% (масс./об.) или больше чем 30% (масс./об.), 35% (масс./об.) или больше чем 35% (масс./об.), 45% (масс./об.) или больше чем 45% (масс./об.), 50% (масс./об.) или больше чем 50% (масс./об.), 55%

(масс./об.) или больше чем 55% (масс./об.), 60% (масс./об.) или больше чем 60% (масс./об.), 65% (масс./об.) или больше чем 65% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, 70% (масс./об.) или больше чем 70% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР или 75% (масс./об.) или больше чем 75% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфно фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), содержит больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 25% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 30% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 35% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 40% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 45% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 50% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 55% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 60% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 65% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 70% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, или больше чем 75% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция содержит больше чем 40% (масс./масс.) АСР и/или АСФР, стабилизированного фосфопептидом (РР), больше чем 45% (масс./масс.), больше чем 50% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 55% (масс./масс.)

стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 60% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем примерно 65% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем примерно 70% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР или больше чем примерно 75% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция содержит больше чем 40% (масс./масс.) АСР и/или АСФР, стабилизированного фосфопептидом (РР), больше чем 40% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 45% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 50% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 55% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 60% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 65% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, больше чем 70% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, или больше чем 75% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте жидкая композиция дегазирована. Дегазация может представлять собой любой способ, в котором образуется отрицательное давление выше жидкой композиции. Иллюстративные способы включают вакуумный насос или систему, например, вакуумную систему водоснабжения Вентури.

В любом аспекте настоящего изобретения стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или аморфный фторид-фосфата кальция (АСФР) стабилизирован фосфопептидом. Предпочтительно, фосфопептид (как определено ниже) представляет собой казеин фосфопептид.

В любом аспекте содержание ионов кальция комплекса стабилизированного АСР или АСФР выше чем примерно 30 моль на моль РР. Предпочтительно, содержание ионов кальция находится в интервале от примерно 30 до 100 моль кальция на моль РР. Более предпочтительно содержание ионов кальция находится в интервале от примерно 30 до примерно 50 моль кальция на моль РР.

В предпочтительном воплощении каждого аспекта изобретения комплекс АСР или АСФР, стабилизированного фосфопептидом, в композиции имеет сильно связанный и слабо связанный кальций, где связанного кальция в комплексе меньше, чем сильно связанного кальция в комплексе АСР или АСФР, образованном при рН 7,0. Обычно АСР или АСФР в основном находится в основной форме.

В любом аспекте комплекс стабилизированного АСР представляет собой комплекс АСР и фосфопептида (РР), ассоциированного с оловом, и комплекс стабилизированного АСФР представляет собой комплекс аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом (РР), ассоциированным с оловом.

В любом аспекте комплекс АСР и/или АСФР находится в форме комплекса АСР и/или АСФР, стабилизированного казеин фосфопептидом.

Предпочтительно, фаза АСР главным образом (а именно больше 50%) представляет собой основную фазу, где АСР содержит главным образом ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} и OH^- . Основная фаза АСР может иметь общую формулу $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_x[\text{Ca}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})]$, где x больше или равен 1. Предпочтительно, x равен 1-5. Более предпочтительно, x равен 1, а именно, два компонента формулы находятся в равных долях. Соответственно, в одном воплощении основная фаза АСР имеет формулу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})$.

Предпочтительно, фаза АСФР представляет собой главным образом (а именно больше 50%) основную фазу, где АСФР содержит главным образом ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} и F^- . Основная фаза АСФР может иметь основную формулу $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_x[\text{Ca}_2(\text{PO}_4)\text{F}]_y$, где x больше или равен 1, когда y равен 1, или где y больше или равен 1, когда x равен 1. Предпочтительно, y равен 1 и x равен 1-3. Более предпочтительно, y равен 1 и x равен 1, а именно, два компонента формулы находятся в равных долях. Соответственно, в одном воплощении основная фаза АСФР имеет формулу $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_2(\text{PO}_4)\text{F}$.

В одном воплощении комплекс АСР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата и гидроксида и воды. Предпочтительно, комплекс дополнительно включает ионы олова.

В одном воплощении комплекс АСФР состоит по существу из фосфопептидов, ионов кальция, фосфата и гидроксида и воды. Предпочтительно, комплекс дополнительно включает ионы олова.

В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения флюороза, включающий:

приведение флюоротического повреждения, предпочтительно в зубной эмали, в контакт со стабилизированным АСР и/или АСФР и, одновременно или последовательно,

нагревание флюоротического повреждения, на которое нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем 37°C.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения флюороза, включающий:

приведение флюоротического повреждения, предпочтительно в эмали зуба, в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения флюороза, включающий:

приведение флюоротического повреждения, предпочтительно в эмали зуба, в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об) стабилизированного АСР и/или АСФР, и одновременно или последовательно,

нагревание флюоротического повреждения, на которое нанесена или наносят жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем 37°C.

В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения кариеса зуба, включающий:

приведение кариозного повреждения в контакт со стабилизированным АСР и/или АСФР, и одновременно или последовательно,

нагревание кариозного повреждения, на которое нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем 37°C.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения зубного кариеса, включающий:

приведение кариозного повреждения в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения зубного кариеса, включающий:

приведение кариозного повреждения в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, и одновременно или последовательно,

нагревание кариозного повреждения, на которое нанесена или наносят жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем 37°C.

В любом аспекте настоящего изобретения способ, применение или композиция по изобретению могут быть использованы для лечения эрозии зуба. В данном аспекте повреждение в эмали зуба, обусловленное эрозией, приведено в контакт со стабилизированным АСР и/или АСФР или жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения способ, применение или композиция по изобретению могут быть использованы для уменьшения повреждений в виде белых пятен. В данном аспекте повреждение в виде белого пятна, предпочтительно на эмали зуба, приводят в контакт со стабилизированным АСР и/или АСФР или жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения способ, применение или композиция по изобретению могут быть использованы для реминерализации повреждения в эмали зуба или дентине. В данном аспекте повреждение, предпочтительно на эмали зуба, приводят в контакт со стабилизированным АСР и/или АСФР или жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция содержит примерно 40% (масс./об.) стабилизированного АСР или больше чем примерно 40% (масс./об.) стабилизированного АСР.

В любом аспекте настоящего изобретения жидкая композиция содержит примерно 50% (масс./об.) стабилизированного АСФР или больше чем примерно 50% (масс./об.) стабилизированного АСФР.

В любом аспекте настоящего изобретения зубную поверхность, или подповерхность, или повреждение (например, флюоротическое повреждение, кариес, белое пятно или повреждение, обусловленное эрозией) можно нагревать до температуры равной или более высокой чем примерно 45°C. Предпочтительно, температура не превышает 65°C.

В любом аспекте изобретения pH жидкой композиции меньше чем или равен 6. Предпочтительно, pH равен или меньше чем 5,5. В качестве альтернативы, pH жидкой композиции выше чем или равен pH 5, но ниже чем или равен pH 9, предпочтительно, выше чем или равен pH 6, но ниже чем или равен pH 8, наиболее предпочтительно выше или равен pH 7, но ниже чем или равен pH 8.

В одном воплощении, когда % (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР больше чем 20% (масс./об.), но меньше чем 40% (масс./об.), pH жидкой композиции составляет от примерно 5 до примерно 8, предпочтительно от примерно

5 до примерно 7, предпочтительно от примерно 5 до 7. В еще одном воплощении, когда % (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР больше чем 40% (масс./об.), рН жидкой композиции меньше чем или равен 6. Предпочтительно, рН равен или ниже чем 5,5.

В любом аспекте изобретения, описанного в данном документе, стабилизированный АСР или АСФР, жидкую композицию, содержащую стабилизированный АСР или АСФР, и/или нагревание специалист по уходу за зубами применяет в отношении ротовой полости, зуба или повреждения.

В любом аспекте настоящего изобретения зубную поверхность, или подповерхность, или повреждение (например, флюоротическое повреждение, кариес, белое пятно или повреждение, обусловленное эрозией) можно нагревать в течение от примерно 1 до 60 минут, или в течение от примерно 1 до 30 минут.

Предпочтительно, стабилизированный АСР и/или АСФР или жидкую композицию, содержащую стабилизированный АСР и/или АСФР, приводят в контакт с зубной поверхностью на протяжении периода от примерно 1 минуты до 2 часов или от 5 минут до 60 минут или примерно 10 минут.

В любом аспекте зубная поверхность, или подповерхность, или повреждение нуждается в таком лечении. Таким образом, изобретение включает помимо стадий любого способа, описанного в данном документе, стадию идентификации субъекта, страдающего от флюороза, кариеса зуба, гиперчувствительности дентина или зубного камня, повреждения в виде белого пятна; флюоротического повреждения; кариозного повреждения; или повреждения, обусловленного эрозией зуба.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложена жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР. Предпочтительно, жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, содержит 25% (масс./об.) или больше чем 25% (масс./об.), 30% (масс./об.) или больше чем 30% (масс./об.), 35% (масс./об.) или больше чем 35% (масс./об.), 40% (масс./об.) или больше чем 40% (масс./об.), 45% (масс./об.) или больше чем 45% (масс./об.), 50% (масс./об.) или больше чем 50% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, 55% (масс./об.) или больше чем 55% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, 60% (масс./об.) или больше чем 60% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, 65% (масс./об.) или больше чем 65% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, 70% (масс./об.) или больше чем 70% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР или 75% (масс./об.) или больше чем 75% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

(масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 45% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 50% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 55% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 60% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 65% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, больше чем 70% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, или больше чем 75% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP, но меньше чем 80% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСFP.

В любом аспекте, как описано в данном документе, жидкая композиция может дополнительно содержать фторид-ионы, предпочтительно свободные фторид-ионы. Фторид-ионы могут находиться в жидкой композиции в концентрации в интервале от примерно 200 млн^{-1} до 50000 млн^{-1} . В предпочтительном воплощении фторид-ионы находятся в концентрации в интервале от примерно 2600 млн^{-1} до примерно 10000 млн^{-1} . В еще одном предпочтительном воплощении фторид-ионы в жидкой композиции находятся в концентрации примерно 8200 млн^{-1} или примерно 6500 млн^{-1} . Фторид-ионы могут находиться в жидкой композиции в любой концентрации в млн^{-1} , описанной в данном документе, в частности в разделе Примеры. В любом воплощении фторид-ионы находятся в концентрации примерно 2600 млн^{-1} , 3900 млн^{-1} , 5200 млн^{-1} , 6500 млн^{-1} или 7800 млн^{-1} . Обычно, фторид-ионы находятся в концентрации примерно 2600 млн^{-1} в случае 20% (масс./об.) стабилизированного АСР или АСFP, примерно 3260 млн^{-1} в случае 25% (масс./об.) стабилизированного АСР или АСFP, примерно 3990 млн^{-1} в случае 30% (масс./об.) стабилизированного АСР или АСFP, примерно 4890 млн^{-1} в случае 38% (масс./об.) стабилизированного АСР или АСFP, 5200 млн^{-1} в случае 40% стабилизированного АСР или АСFP, 6500 млн^{-1} в случае 50% (масс./об.) стабилизированного АСР или АСFP, примерно 8200 млн^{-1} в случае 63% стабилизированного АСР или АСFP или примерно 9900 млн^{-1} в случае 75% стабилизированного АСР или АСFP. В другом воплощении фторид-ионы находятся в концентрации примерно 5200 млн^{-1} в случае 40% (масс./масс.) CPP-АСР или примерно 7800 млн^{-1} в случае 60% (масс./масс.) CPP-АСР.

Предпочтительно, стабилизированный АСР и/или АСФР стабилизирован фосфопептидом. Предпочтительно, фосфопептид представляет собой казеин фосфопептид.

Любая композиция, описанная в данном документе, может использоваться в любом из способов, описанных в данном документе. Композиция представляет собой физиологически приемлемую композицию, как описано в данном документе.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложена жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, для применения в:

- минерализации зубной поверхности, или подповерхности, или любого повреждения, как описано в данном документе; или
- лечении или предупреждении одного или более из каждого из: зубного кариеса, разрушения зуба, эрозии зуба, повреждений в виде белых пятен и флюороза.

В еще одном аспекте предложено применение жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР в изготовлении композиции или лекарственного средства для минерализации зубной поверхности или подповерхности, или лечения и/или предупреждения одного или более из кариеса зуба, разрушения зуба, эрозии зуба и флюороза.

В еще одном аспекте предложено применение аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом (РР), в изготовлении продукта, содержащего или состоящего из: жидкой композиции для реминерализации зубной поверхности или подповерхности, жидкой композиции, содержащей по меньшей мере 40% (масс./масс.) указанного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом (РР), при рН выше чем или равном рН 5, но ниже чем или равном рН 9. В одном воплощении продукт представляет собой косметический продукт.

Изобретение также относится к набору для лечения или предупреждения одного или более из нижеследующего: зубной кариес, флюороз и эрозия зуба, или минерализации зубной поверхности, или подповерхности, или повреждения, как описано в данном документе, содержащему (а) жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, и (b) источник тепла. Желательно, набор дополнительно включает инструкции для их применения в любом способе или применении, описанном в данном документе. Инструкции могут описывать применение набора для лечения или предупреждения одного или

более из каждого из нижеследующего: кариес зуба, разрушение зуба, эрозия зуба и флюороз. В одном воплощении жидкая композиция находится в подходящих количествах для лечения пациента. Предпочтительно, стабилизированный АСР и/или АСFP стабилизирован фосфопептидом (PP). Предпочтительно, фосфопептид (как описано ниже) представляет собой казеин фосфопептид. Предпочтительно, АСР или АСFP находится в форме комплекса АСР и АСFP, стабилизированного казеин фосфопептидом.

Композиция или набор по изобретению может дополнительно включать источник фторид-ионов. Фторид-ионы могут происходить из любого подходящего источника. Источник фторид-ионов может включать свободные фторид-ионы или соли фториды. Примеры источников фторид-ионов включают, но не ограничиваются нижеследующим: фторид натрия, монофторфосфат натрия, фторид олова (II), кремнефторид натрия, фторид серебра, аминофторид или любая соль фторид иона металла. Источником фторид-ионов может являться гипофторит. Данные источники фторид-ионов могут быть предоставлены в растворе (обычно водном растворе) или суспензии.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСFP, причем данный способ или процесс включает или состоит из нижеследующего:

смешивание растворителя и порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСFP, и

поддержание рН ниже 7. Предпочтительно, рН поддерживается на уровне или ниже 6, предпочтительно рН поддерживается на уровне или ниже 5,5.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСFP, причем данный способ или процесс включает или состоит из нижеследующего:

смешивание растворителя и порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСFP, и

снижение рН ниже 7. Предпочтительно рН понижают до или ниже 6, предпочтительно 5,5. Обычно, рН поддерживается ниже 7, более предпочтительно рН поддерживается на уровне или ниже 6, даже более предпочтительно 5,5.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20%

(масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, причем данный способ или процесс включает или состоит из нижеследующего:

смешивание раствора, содержащего фторид, и порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР, и

подведение рН до 6,5-8. Предпочтительно, рН подводят до примерно рН 7,8. Предпочтительно рН подводят HCl.

В данном аспекте способ дополнительно включает стадию смешивания раствора на протяжении по меньшей мере примерно 10 минут, по меньшей мере примерно 20 минут или по меньшей мере примерно 30 минут после подведения рН.

В данном аспекте способ дополнительно включает стадию дегазации жидкой композиции.

В любом аспекте стадия смешивания растворителя и порошка, содержащего или состоящего из АСР и/или АСФР, стабилизированного РР, включает добавление растворителя к порошку. В качестве альтернативы, стадия включает добавление порошка к растворителю.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, как описано в данном документе, данный способ или процесс дополнительно включает стадию дегазации жидкой композиции. Дегазация может осуществляться любым способом, в котором образуется отрицательное давление выше жидкой композиции, включая способы, описанные в данном документе.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, как описано в данном документе, данный способ или процесс дополнительно включает стадию смешивания жидкой композиции с раствором, содержащим фторид-ионы.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс для получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, причем, способ или процесс, включающий или состоящий из стадий, как описано в Примере 2 или 4 в данном документе.

В любом аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс, который дополнительно включает следующие стадии получения порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР:

примешивание одного или более растворов, содержащих фосфопептиды, ионы кальция, фосфат-ионы, гидроксид-ионы и возможно фторид-ионы, одновременно с поддержанием рН на уровне примерно 7,0 или выше, предпочтительно примерно 9, с образованием раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР, и

сушка раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР, образование, вследствие этого, порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР. Предпочтительно сушка представляет собой сушку распылением или лиофильную сушку.

В одном воплощении способ или процесс дополнительно включает данные стадии:

фильтрация раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР, перед сушкой с образованием ретентата, где ретентат затем сушат с образованием порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей по меньшей мере 40% (масс./масс.) АСР и/или АСФР, стабилизированного РР, причем данный способ или процесс включает или состоит из:

смешивания растворителя и порошка, содержащего или состоящего из АСР и/или АСФР, стабилизированного РР, и

снижения рН ниже 9, предпочтительно 8. Предпочтительно растворитель содержит фторид.

В данном аспекте способ дополнительно включает стадию перемешивания жидкой композиции после снижения рН. Предпочтительно перемешивание длится в течение по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25 или 30 минут.

В данном аспекте жидкую композицию дегазируют для удаления захваченных пузырьков воздуха, предпочтительно, посредством помещения раствора под действием вакуума, наиболее предпочтительно в течение 24 часов.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей по меньшей мере 40% (масс./масс.), предпочтительно 60% (масс./масс.) АСР и/или АСФР, стабилизированного РР, причем данный способ или процесс включает или состоит из стадий, как описано в данном документе в Примере 4.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) или больше чем 40% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР, растворитель представляет собой воду.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, рН понижают или поддерживают, используя 1-10 М HCl или 11 М HCl.

В любом аспекте способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР,

может быть предназначен для получения жидкой композиции, содержащей 25% (масс./об.), 30% (масс./об.), 35% (масс./об.), 40% (масс./об.), 45% (масс./об.), 50% (масс./об.), 55% (масс./об.), 60% (масс./об.), 65% (масс./об.), 70% (масс./об.), 75% (масс./об.) или 80 (масс./об.) или больше чем 25% (масс./об.), 30% (масс./об.), 35% (масс./об.), 40% (масс./об.), 45% (масс./об.), 50% (масс./об.), 55% (масс./об.), 60% (масс./об.), 65% (масс./об.), 70% (масс./об.), 75% (масс./об.) или 80 (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, стабилизированный АСР или АСФР представляет собой СРР-АСР или СРР-АСФР, как описано в данном документе.

В любом способе или процессе получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, жидкая композиция предназначена для применения в любом способе лечения зубов, предпочтительно способами, описанных в данном документе (например, минерализация зубной поверхности или подповерхности).

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложена жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, полученная посредством способа или процесса, описанного в данном документе.

Дополнительные аспекты настоящего изобретения и дополнительные воплощения аспектов, описанных в предыдущих абзацах, станут очевидными из следующего описания, приведенного в качестве примера и со ссылкой на прилагаемые графические материалы.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1: Воздействие температуры на реминерализацию повреждений подповерхности эмали *in vitro*.

Фиг. 2: Реминерализация под действием высоких концентраций СРР-АСР в присутствии фторида.

Фиг. 3: Реминерализация под действием высоких концентраций СРР-АСР.

Подробное описание воплощений

Будет понятно, что изобретение, раскрытое и определенное в данном описании изобретения, распространяется на все альтернативные комбинации двух или более отдельных признаков, упомянутых или очевидных из текста или

графических материалов. Все из данных разных комбинаций составляют разные альтернативные аспекты изобретения.

Дополнительные аспекты настоящего изобретения и дополнительные воплощения аспектов, описанных в предыдущих абзацах, станут очевидными из следующего описания, приведенного в качестве примера и со ссылкой на прилагаемые графические материалы.

Сейчас будет подробно сделана ссылка на некоторые воплощения изобретения. В то время как изобретение будет описано совместно с воплощениями, будет понятно, что отсутствует намерение в ограничении изобретения данными воплощениями. Напротив, изобретение предназначено для охвата всех альтернатив, модификаций и эквивалентов, которые могут быть включены в пределы объема настоящего изобретения, как определено формулой изобретения.

Специалисту в данной области будут знакомы многие способы и материалы, похожие или эквивалентные способам и материалам, описанным в данном документе, которые могли быть использованы в практике осуществления настоящего изобретения. Настоящее изобретение никаким образом не ограничивается описанными способами и материалами.

Все из патентов и публикаций, на которые ссылаются в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте.

В целях интерпретации данного описания изобретения термины, используемые в единственном числе, будут также включать множественное число и наоборот.

В том виде, в котором он используется в данном документе, за исключением того, где по контексту требуется иное, термин «содержат» и варианты данного термина, такие как «содержащий», «содержит» и «содержащийся», не предназначены для исключения дополнительных добавок, компонентов, целых чисел или стадий. В том виде, в котором они используются в данном документе, за исключением того, где по контексту требуется иное, термины «содержат» и «включают» могут использоваться взаимозаменяемо.

Аспект изобретения, описанный в данном документе, основан на неожиданном результате, заключающемся в том что возможно достигать композиции с высокой концентрацией стабилизированного АСР и/или АСРР, и данная композиция все еще сохраняет жидкое состояние (а именно, не образует гель). До настоящего изобретения думали, что высокие концентрации АСР и/или АСРР, стабилизированного фосфопептидом, будут приводить к получению

композиции, образующей гель или пасту, и все жидкие композиции, описанные на сегодняшний день, имели относительно низкие концентрации АСР и/или АСФР, стабилизированного фосфопептидом. Неожиданное свойство композиции с высокой концентрацией АСР и/или АСФР, стабилизированного фосфопептидом, сохраняющей жидкое состояние до нанесения на зубную поверхность или подповерхность, обеспечивает более быстрое проникновение в гипоминерализованный участок. Не желая быть связанными какой-либо теорией или способом действия, полагают, что в повреждении может быть достигнута более высокая концентрация стабилизированного АСР и/или АСФР, которая приводит к более быстрой реминерализации и в большей степени. Это обеспечивает преимущество, заключающееся в том, что жидкая композиция с высокой концентрацией может быть нанесена стоматологом непосредственно на повреждение, что позволяет происходить более обширной реминерализации, по сравнению с нанесением на дому композиций с низкой концентрацией, таких как пасты или муссы.

Кроме того, отдельный аспект изобретения, описанный в данном документе, основан на неожиданном результате, заключающемся в том, что нагревание зубной поверхности или подповерхности одновременно или после нанесения стабилизированного АСР и/или АСФР увеличивает степень минерализации, даже вплоть до относительно высоких температур.

Наконец, сочетание обеих жидких композиций с высокой концентрацией с нагреванием зубной поверхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, обеспечивает обширную и быструю реминерализацию.

Любой источник тепла можно использовать в способе или применении по изобретению для нагревания зубной поверхности или подповерхности. Источники тепла, которые излучают свет или излучение и являются подходящими для использования в применениях в стоматологии, хорошо известны в данной области. Конкретные примеры включают стоматологические фотополимеризаторы, например, СИД (светодиод) синего света с высокой мощностью 10 Вт, как например, рентгеновский полимеризатор Guilin Woodpecker Medical Instrument Co. Ltd.

В том виде, в котором оно используется в данном документе, обозначение % (масс./об.) может считаться эквивалентным г/100 мл.

В том виде, в котором они используются в данном документе, термины «стабилизированный АСР или АСФР» и «комплекс стабилизированного АСР или АСФР» используются взаимозаменяемо.

Комплекс стабилизированного АСР или АСФР, как описано в настоящем описании изобретения, может представлять собой «закрытые» комплексы, показано на Фиг. 2 Cross *et al.*, 2007.

Стабилизированный АСР или АСФР, на который ссылаются в данном документе, включает стабилизированный АСР или АСФР, как описано в WO2006/056013 (PCT/AU2005/001781), содержания которых включены посредством ссылки.

В предпочтительном воплощении комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом, имеет сильно связанный и свободно связанный кальций, где связанного кальция в комплексе меньше, чем сильно связанного кальция в комплексе АСР или АСФР, образованном при pH 7,0. Возможно, АСР или АСФР находится главным образом в основной форме.

Комплекс стабилизированного АСР или АСФР, как тот, на который ссылаются в данном документе, включает комплекс стабилизированного АСР или АСФР, образованный при pH, ниже 7,0. Предпочтительно, комплекс образуется при pH в интервале от примерно 5,0 вплоть до, но ниже 7,0. Более предпочтительно, комплекс образуется в интервале pH от примерно 5,0 до примерно 6,0. В предпочтительном воплощении комплекс образуется при pH примерно 5,5. Предпочтительно АСР или АСФР в комплексе находится главным образом в основной форме.

Стабилизированный АСР может быть получен способом, включающим следующие стадии:

- (i) получение раствора, содержащего по меньшей мере один фосфопептид, и;
- (ii) примешивание растворов, содержащих ионы кальция, фосфат-ионы и гидроксид-ионы, одновременно с поддержанием pH на уровне примерно 5,5 - 9.

В одном воплощении pH поддерживается на уровне примерно 7,0 или ниже.

Стабилизированный АСФР может быть получен способом, включающим следующие стадии:

- (i) получение раствора, содержащего по меньшей мере один фосфопептид; и
- (ii) примешивание растворов, содержащих ионы кальция, фосфат-ионы,

гидроксид-ионы и фторид-ионы, с одновременным поддержанием pH на уровне примерно 5,5 - 9.

В одном воплощении pH поддерживается на уровне примерно 7,0 или ниже.

Комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом, может также включать такой, где АСР в комплексе имеет сильно связанный и свободно связанный кальций, где сильно связанного кальция в комплексе меньше, чем сильно связанного кальция в комплексе АСР или АСФР, образованном при pH 7,0, и АСР или АСФР главным образом находится в основной форме, получаемой или полученной способом, включающим следующие стадии:

а) примешивание первого раствора, содержащего ионы кальция, второго раствора, содержащего фосфат-ионы, и возможно третьего раствора, содержащего фторид-ионы, к раствору, содержащему фосфопептиды и растворитель с pH от примерно 5 вплоть до, но ниже 7; и

б) поддержание pH раствора на уровне примерно 5,0 вплоть до, но ниже 7,0 во время примешивания посредством добавления гидроксид-ионов.

«Сильно» и «свободно» связанный кальций и фосфат в АСР или АСФР может быть определен с использованием аналитической ультрафильтрации. Кратко, раствор фосфопептида, кальция, фосфата и возможно фторида, примешанный одновременно с поддержанием pH на уровне примерно 7,0 или ниже, можно сначала фильтровать через фильтр 0,1 микрометров для удаления свободного кальция и фосфата, который не ассоциирован с данными комплексами. Данный свободный кальций и фосфат находится в фильтрате и отбрасывается. Любой свободный кальций или фосфат, который не ассоциирован никаким образом с комплексами, не будет биодоступен, а именно, доставлен посредством фосфопептида к зубу. Ретентат, полученный в результате фильтрации через фильтр 0,1 микрометра, можно дополнительно анализировать посредством центрифугирования через фильтр с порогом отсека по молекулярной массе 3000 при 1000 g в течение 15 мин. Полученный фильтрат содержит кальций и фосфат, который свободно связан или ассоциирован с комплексами. При данной центробежной силе кальций и фосфат, который сильно не связан с комплексами, высвобождается и переходит в фильтрат. Са и Рi, который сильно связан в комплексах, сохраняется в ретентате. Количество сильно связанного Са и Рi в ретентате может быть затем определено посредством вычитания количества Са и Рi в фильтрате из общего количества Са и Рi в ретентате фильтрации через фильтр 0,1 микрометра.

Комплекс стабилизированного АСР или АСФР, как ссылаются в данном документе, включает комплекс стабилизированного АСР или АСФР, как описано в WO2006/135982 (PCT/AU2006/000885), содержания которых включены посредством ссылки.

Комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного «перегруженным» фосфопептидом или фосфопротеином (РР). Комплекс может быть образован при любом рН (например, 3-10). Предпочтительно, фосфопептид включает последовательность - А-В-С-, где А представляет собой фосфоаминокислоту, предпочтительно, фосфосерин, В представляет собой любую аминокислоту, включая фосфоаминокислоту, и С представляет собой глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту или фосфоаминокислоту. Фосфоаминокислота может представлять собой фосфосерин. РР перегружен ионами кальция и фосфат-ионами. Ионы кальция могут находиться в диапазоне 30-1000 моль Са на моль РР или в диапазоне 30-100 или 30-50 моль Са на моль РР. В другом воплощении моль Са на моль РР составляет по меньшей мере 25, 30, 35, 40, 45 или 50.

Комплекс аморфного фосфата кальция или аморфного фторида-фосфата кальция, стабилизированного фосфопептидом или фосфопротеином (РР), может иметь содержание ионов кальция выше чем примерно 30 моль кальция на моль РР. В предпочтительном воплощении содержание ионов кальция находится в интервале от примерно 30 до 100 моль кальция на моль РР. Более предпочтительно, содержание ионов кальция находится в интервале от примерно 30 до примерно 50 моль кальция на моль РР.

Комплекс аморфного фосфата кальция (АСР) или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР), стабилизированного фосфопептидом или фосфопротеином (РР), может быть получен способом, включающим следующие стадии:

(i) получение растворов, содержащих кальций, неорганический фосфат и фторид (возможно); и

(ii) примешивание (i) с раствором, содержащим РР-АСР.

В предпочтительном воплощении РР представляет собой казеин фосфопептид (СРР – от англ. casein phosphopeptide).

Комплекс АСР и/или АСФР, стабилизированного РР, может дополнительно включать по меньшей мере равное количество по массе фосфата кальция. Предпочтительно, фосфат кальция представляет собой СаНРО₄. Предпочтительно, фосфат кальция (например, СаНРО₄) смешивают всухую с комплексом АСР и/или

ACFP, стабилизированного PP. В предпочтительном воплощении соотношение комплекса PP-ACP и/или PP-ACFP и фосфата кальция составляет примерно 1:1-50, более предпочтительно примерно 1:1-25, более предпочтительно примерно 1:5-15. В одном воплощении соотношение комплекса PP-ACP и/или PP-ACFP и фосфата кальция составляет примерно 1:10.

Пероральная композиция по уходу, которая включает комплекс аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP), стабилизированного фосфопептидом или фосфопротеином (PP), имеющий содержание ионов кальция выше чем примерно 30 моль кальция на моль PP, при использовании в ротовой полости, может быть получена способом, включающим следующие стадии:

- (i) получение порошка, включающего комплекс PP-ACP и/или PP-ACFP;
- (ii) смешивание всухую с эффективным количеством фосфата кальция; и
- (iii) приготовление из смешанной всухую смеси PP-ACP и/или PP-ACFP и фосфата кальция пероральной композиции по уходу.

Предпочтительно, форма фосфата кальция для смешивания всухую представляет собой любой растворимый фосфат кальция, включая CaHPO_4 , Ca_2HPO_4 и лактат кальция, но, не ограничиваясь ими.

Композиция, как описано в данном документе, может дополнительно включать свободные фторид-ионы. Фторид-ионы могут происходить из любого подходящего источника. Источник фторид-ионов может включать свободные фторид-ионы или соли-фториды. Примеры источников фторид-ионов включают, но не ограничиваются нижеследующим: фторид натрия, монофторфосфат натрия, фторид олова (II), кремнефторид натрия и аминофторид. Данные примеры могут быть предоставлены в растворе (обычно водном растворе) или суспензии.

Фторид-ионы предпочтительно находятся в композиции в количестве, больше чем 1 млн^{-1} . Более предпочтительно, количество составляет больше чем 3 млн^{-1} . В другом воплощении оно предпочтительно больше чем 10 млн^{-1} . В типичных воплощениях, описанных ниже, количество может составлять несколько сотен или тысяч млн^{-1} . Обычно, свободные фторид-ионы содержатся в диапазоне от 1000 млн^{-1} до 50000 млн^{-1} F. Млн^{-1} F может представлять собой любое количество или концентрацию, описанную в данном документе. Содержание фторидов обычно измеряется в млн^{-1} в пероральных композициях способом, обычно используемым в данной области. Когда фторид предоставляется из источника со стабилизированным ACP, млн^{-1} относится к концентрации фторида в том источнике, обычно растворе или суспензии биодоступного фторида.

Комплекс АСР или АСФР, ассоциированного с оловом, как изложено в данном документе, включает любой, описанный в РСТ/AU2014/050447, полные содержания которых включены во всей своей полноте посредством ссылки.

Композиция, как описано в данном документе, для применения в способе применения по изобретению, может включать комплекс АСР или АСФР, ассоциированного с оловом. Композиция может включать 2% CPP-АСР и 290 млн⁻¹ фторида с 220 млн⁻¹ фторида в виде фторида олова (II) и 70 млн⁻¹ в виде фторида натрия.

«Фосфопептид» в контексте описания данного изобретения означает аминокислотную последовательность, в которой по меньшей мере одна аминокислота фосфорилирована. Предпочтительно, фосфопептид включает одну или более из аминокислотных последовательностей -A-B-C-, где А представляет собой фосфоамино-остаток, В представляет собой любой аминокислотный остаток, включая фосфоамино-остаток, и С выбран из остатка глутамил, аспартил или фосфоамино-остаток. Любой из фосфоамино-остатков может независимо представлять собой остаток фосфосерил. В желательном воплощении представляет собой остаток, боковая цепь которого не является ни относительно большой, ни гидрофобной. Он может представлять собой Gly, Ala, Val, Met, Leu, Ile, Ser, Thr, Cys, Asp, Glu, Asn, Gln или Lys.

В еще одном воплощении по меньшей мере две из фосфоаминокислот в последовательности предпочтительно являются смежными. Предпочтительно, фосфопептид включает последовательность A-B-C-D-E, где А, В, С, D и E независимо представляют собой фосфосерин, фосфотреонин, фосфотирозин, фосфогистидин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту, и по меньшей мере две, предпочтительно три, из А, В, С, D и E представляют собой фосфоаминокислоту. В предпочтительном воплощении фосфоаминокислотные остатки представляют собой фосфосерин, наиболее предпочтительно три смежных остатка фосфосерина. Также предпочтительно, что D и E независимо представляют собой глутаминовую или аспарагиновую кислоту.

В одном воплощении АСР или АСФР стабилизирован казеин фосфопептидом (CPP), который находится в форме интактного казеина или фрагмента казеина, и образованный комплекс предпочтительно имеет формулу $[\text{CPP}(\text{АСР})_8]_n$ или $[(\text{CPP})(\text{АСФР})_8]_n$, где n равен или больше чем 1, например, 6. Образованный комплекс может представлять собой коллоидный комплекс, где коровые частицы агрегируют с образованием больших (например, 100 нм) коллоидных частиц,

суспендированных в воде. Таким образом, PP может представлять собой белок казеин или фосфопептид.

PP может происходить из любого источника; он может находиться в контексте большего полипептида, включая полноразмерный полипептид казеин, или он может быть выделен посредством триптического или другого ферментативного или химического расщепления казеина или других белков, богатых фосфоаминокислотами, таких как фосфитин, или посредством химического или рекомбинантного синтеза, при условии, что он содержит последовательность -A-B-C- или A-B-C-D-E, как описано выше. Последовательность, фланкирующая данную коровую последовательность, может представлять собой любую последовательность. Однако, предпочтительными являются такие фланкирующие последовательности в α_{s1} (59-79), β (1-25), α_{s2} (46-70) и α_{s2} (1-21). Фланкирующие последовательности могут, возможно, быть модифицированы посредством делеции, присоединения или консервативной замены одного или более остатков. Аминокислотный состав и последовательность фланкирующей области не являются критичными.

Примеры консервативных замен показаны ниже в Таблице А.

Таблица А

Исходный остаток	Иллюстративная консервативная замена	Предпочтительная консервативная замена
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Asn	Gln Lys His Phe	Gln
Gln	Asn	Asn
Gly	Pro	Pro
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe	Leu
Leu	Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, Gln, Asn	Arg
Phe	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro	Gly	Gly
Ser	Thr	Thr
Val	Ile, Leu, Met, Phe, Ala	Leu
Asp	Glu	Glu
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr	Tyr

Исходный остаток	Иллюстративная консервативная замена	Предпочтительная консервативная замена
Tyr	Trp Phe Thr Ser	Phe

Фланкирующие последовательности могут также включать не встречающиеся в природе аминокислотные остатки. Обычно встречающиеся аминокислоты, которые не кодируются генетическим кодом, включают нижеследующее:

2-аминоадипиновая кислота (Aad) для Glu и Asp;

2-аминопимелиновая кислота (Apm) для Glu и Asp;

2-аминомасляная кислота (Abu) для Met, Leu и других алифатических аминокислот;

2-аминогептановая кислота (Ahe) для Met, Leu и других алифатических аминокислот;

2-аминоизомаляная кислота (Aib) для Gly;

циклогексилаланин (Cha) для Val и Leu и Ile;

гомоаргинин (Har) для Arg и Lys;

2, 3-диаминопропионовая кислота (Dpr) для Lys, Arg и His;

N-этилглицин (EtGly) для Gly, Pro и Ala;

N-этиласпарагин (EtAsn) для Asn и Gln;

Гидроксиллизин (Hyl) для Lys;

аллогидроксиллизин (AHyl) для Lys;

3-(и 4) гидроксипролин (3Hyp, 4Hyp) для Pro, Ser и Thr;

аллоизолейцин (Alle) для Ile, Leu и Val;

l-амидинофенилаланин для Ala;

N-метилглицин (MeGly, саркозин) для Gly, Pro, Ala.

N-метилизолейцин (Melle) для Ile;

Норвалин (Nva) для Met и других алифатических аминокислот;

Норлейцин (Nle) для Met и других алифатических аминокислот;

Орнитин (Orn) для Lys, Arg и His;

Цитруллин (Cit) и сульфоксид метионина (MSO – от англ. methionine sulfoxide) для Thr, Asn и Gln;

N-метилфенилаланин (MePhe), триметилфенилаланин, галогено (F, Cl, Br и I) фенилаланин, трифлуорилфенилаланин для Phe.

В одном воплощении РР представляет собой один или более фосфопептидов, выбранных из группы, состоящей из α_{s1} (59-79) [1], β (1-25) [2], α_{s2} (46-70) [3] и α_{s2} (1-21) [4]:

- [1] Gln⁵⁹-Met-Glu-Ala-Glu-Ser(P)-Ile-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Ser(P)-Val-Glu-Gln-Lys⁷⁹ (SEQ ID NO: 1) α_{s1} (59-79)
- [2] Arg¹-Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Ser(P)-Leu-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg²⁵ (SEQ ID NO: 2) β (1-25)
- [3] Asn⁴⁶-Ala-Asn-Glu-Glu-Glu-Tyr-Ser-Ile-Gly-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser(P)-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys⁷⁰ (SEQ ID NO: 3) α_{s2} (46-70)
- [4] Lys¹-Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-Ser(P)-Gln-Glu-Thr-Tyr-Lys²¹ (SEQ ID NO: 4) α_{s2} (1-21).

В некоторых предпочтительных формах изобретения жидкая композиция может представлять собой жидкость для полоскания полости рта, ополаскиватель или спрей. В таком препарате носитель обычно представляет собой смесь воды и спирта, желательно включающую увлажнитель, как описано ниже. Обычно, массовое отношение воды к спирту находится в интервале от примерно 1:1 до примерно 20:1. Общее количество смеси вода-спирт в данном типе препарата обычно находится в интервале от примерно 70 до примерно 99,9 масс.% препарата. Спирт обычно представляет собой этанол или изопропанол. Этанол является предпочтительным.

Станет понятно, что, как общепринято, пероральные препараты будут обычно продаваться или иным образом распространяться в подходящих упаковках с этикеткой. Таким образом, емкость с ополаскивателем для полости рта будет иметь этикетку, описывающую его, по существу, как ополаскиватель для полости рта или жидкость для полоскания ротовой полости, и имеющую указания к его применению.

Органические поверхностно-активные вещества могут быть использованы в композициях по настоящему изобретению для достижения усиленного профилактического действия, содействия в достижении тщательной и полной дисперсии активного вещества по всей ротовой полости и для того, чтобы делать непосредственные композиции более косметически приемлемыми. Органическое поверхностно-активное вещество предпочтительно является анионным, неионным или амфолитическим по природе и предпочтительно не взаимодействует с активным веществом. Предпочтительно использовать в качестве поверхностно-активного вещества моющее вещество, которое наделяет композицию моющими и пенообразующими свойствами. Подходящие примеры анионных поверхностно-активных веществ представляют собой водорастворимые соли моносульфатов моноглицеридов высших жирных кислот, такие как натриевая соль моносульфатированного моноглицерида жирных кислот гидрогенизированного кокосового масла, высшие алкилсульфаты, такие как лаурилсульфат натрия,

алкиларилсульфонаты, такие как додецилбензолсульфонат натрия, высшие алкилсульфоацетаты, сложные эфиры высших жирных кислот 1,2-дигидроксипропансульфоната, и по существу насыщенные высшие алифатические ациламиды соединений низших алифатических аминокислот, такие как ациламиды, имеющие 12 - 16 атомов углерода в жирной кислоте, алкильный или ацильный радикалы и тому подобное. Примеры последних упомянутых амидов представляют собой N-лаурилсаркозинат и натрия, калия, и этаноламинные соли N-лаурил, N-миристоил или N-пальмитоилсаркозината, которые должны по существу не содержать мыла или похожих веществ высших жирных кислот. Применение данных соединений сарконита в пероральных композициях по настоящему изобретению является особенно преимущественным, поскольку данные вещества демонстрируют длительный заметный эффект в ингибировании кислотообразования в пероральной полости вследствие распада углеводов помимо осуществления некоторого уменьшения растворимости зубной эмали в кислотных растворах. Примеры водорастворимых неионных поверхностно-активных веществ, подходящих для применения, представляют собой продукты конденсации оксида этилена с разными реакционноспособными соединениями, содержащими водород, реакционноспособными за счет обладания длинными гидрофобными цепями (например, алифатическими цепями из примерно 12 - 20 атомов углерода), чьи продукты конденсации («этоксамеры») содержат гидрофильные полиоксиэтиленовые группировки, такие как продукты конденсации поли (оксид этилена) с жирными кислотами, жирными спиртами, жирными амидами, многоатомными спиртами (например, сорбитан моностеарат) и полипропиленоксидом (например, вещества плюроники).

Поверхностно-активное вещество обычно находится в количестве примерно 0,1-5 масс.%. Следует отметить, что поверхностно-активное вещество может способствовать растворению активного вещества по изобретению и, таким образом, уменьшать необходимое количество растворяющего увлажнителя.

Разные другие вещества могут быть включены в пероральные препараты по данному изобретению, такие как отбеливающие средства, консерванты, силиконы, соединения хлорофилла и/или аммонизированное вещество, такое как мочевины, диаммония фосфат и их смеси. Данные адъюванты, в случае присутствия, включены в препараты в количествах, которые по существу пагубно не влияют на желательные свойства и характеристики.

Можно также использовать любой подходящий корригент или подсластитель. Примеры подходящих корригентов представляют собой ароматические масла,

например, масло колосистой мяты, перечной мяты, грушанки, сассафраса, клевера, шалфея, эвкалипта, душицы, корицы, лимона и апельсина, и метилсалицилат. Подходящие подсластители включают сахарозу, лактозу, мальтозу, сорбит, ксилит, цикламат натрия, периллартин, АМР (аспартилфенилаланин, сложный метиловый эфир), сахарин и тому подобное. Аналогично, корригенты и подсластители могут каждый по себе или вместе составлять от примерно 0,1% до 5% препарата.

В еще одном воплощении композиции по изобретению, как описано в данном документе, не включают фосфатный буфер и/или хелатор кальция. Например, любое средство для чистки зубов, описанное в данном документе, может не включать фосфатный буфер и/или хелатор кальция.

В одном воплощении настоящего изобретения предложена композиция, где композиция не включает фосфатный буфер и/или хелатор кальция.

В еще одном воплощении композиции по изобретению, как описано в данном документе, не включают регулятор вязкости или включают регулятор вязкости в количестве 0,5-50%.

В еще одном воплощении композиции по изобретению, как описано в данном документе, не включают карбоксиметилцеллюлозу натрия или включают 0,01-10% карбоксиметилцеллюлозы натрия, имеющей степень этерификации 0,7-1,0.

В одном воплощении активные компоненты композиции по существу состоят из комплексов стабилизированного АСР или АСФР.

Будет с очевидностью понятно, что, несмотря на то, что данное описание изобретения относится конкретно к применениям в отношении человека, изобретение также полезно в целях ветеринарии. Таким образом, во всех аспектах изобретение полезно для домашних животных, таких как крупный рогатый скот, овцы, лошади и домашняя птица; для животных-компаньонов, таких как кошки и собаки; и для животных зоопарка.

Согласно изобретению предложен набор, содержащий стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или стабилизированный аморфный фторид-фосфата кальция (АСФР), причем указанный набор приспособлен для применения в приведенных выше описанных способах.

Согласно изобретению также предложен набор, содержащий жидкую композицию, как описано в данном документе.

В любом аспекте набор может дополнительно содержать этикетку или листок-вкладыш в упаковку с инструкциями к применению в любом способе, описанном в данном документе.

Набор может включать:

-контейнер, вмещающий композицию, содержащую стабилизированный аморфный фосфат кальция (АСР) и/или стабилизированный аморфный фторид-фосфата кальция (АСФР);

- этикетку или листок-вкладыш в упаковку с инструкциями к применению.

В некоторых воплощениях набор может содержать одно или более дополнительных активных начал или ингредиентов для лечения или предупреждения заболевания или патологического состояния, как описано в данном документе.

Набор может содержать контейнер и этикетку или листок-вкладыш в упаковку на контейнере или в сочетании с контейнером. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, блистерную упаковку и т.д. Контейнеры могут быть образованы из множества материалов, таких как стекло или пластик. В контейнере содержится терапевтическая композиция, которая является эффективной для лечения патологического состояния, и он может иметь стерильное отверстие для доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожной инъекции). Этикетка или листок-вкладыш в упаковку указывает на то, что терапевтическая композиция используется для лечения выбранного патологического состояния. В одном воплощении этикетка или листок-вкладыш в упаковку включает инструкции к применению и указывает на то, что терапевтическая композиция может использоваться для лечения данного патологического состояния.

Набор может содержать (а) жидкую композицию, как описано в данном документе; и (b) второй контейнер со вторым активным началом или ингредиентом, содержащимся в нем. Набор в данном воплощении изобретения может дополнительно содержать листок-вкладыш в упаковку, указывающий, что данную композицию и другое активное начало можно использовать для лечения патологического состояния, как описано в данном документе. В качестве альтернативы или дополнительно, набор может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI – от англ. bacteriostatic water for injection), фосфатно-солевой буферный раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. Он может дополнительно включать другие вещества, желательные с коммерческой и потребительской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

Будет понятно, что изобретение, раскрытое и определенное в данном описании изобретения, распространяется на все альтернативные комбинации двух или более отдельных признаков, упомянутых или очевидных из текста или графических материалов. Все из данных разных комбинаций составляют разные альтернативные аспекты изобретения.

Сейчас изобретение будет дополнительно описано со ссылкой на следующие неограничивающие примеры.

Примеры

Пример 1

Воздействие температуры на реминерализацию повреждений подповерхности эмали. Цель данных экспериментов заключалась в определении воздействия температуры на реминерализацию повреждений подповерхности эмали с использованием модели *in vitro*.

Растворы готовили, используя CPP-ACP, и возможно NaF, с получением 1,0% (масс./об.) CPP-ACP pH 5,5 или 1,0% (масс./об.) CPP-ACFP pH 5,5.

Тестировали пять разных температур: (i) 25°C, (ii) 35°C, (iii) 45°C, (iv) 55°C и (v) 65°C.

Повреждения деминерализованной подповерхности зубной эмали человека получали в блоках эмали третьего моляра, используя способ Рейнольдса (*J. Dent. Res.* 1997, 76(9):1587-95).

Половину блоков держали в качестве контроля, и другую половину блоков подвергали реминерализации посредством суспендирования их по отдельности в 1,0% CPP-ACP плюс 725 млн⁻¹ F в течение 14 суток при пяти разных температурах (25, 35, 45, 55 и 65°C).

После реминерализации блоки эмали заливали, изготавливали срезы и подвергали микрорадиографии поперечного сечения и денситометрическому анализу изображения, как ранее описано Reynolds (1997, *J Dent Res*, ранее), для определения увеличения содержания минеральных веществ, выраженного в процентах (% Реминерализация). На Фиг. 1 показана прямая корреляция между увеличением температуры и увеличением количества реминерализации.

Таблица 1: Результаты воздействия температуры на реминерализацию повреждений подповерхности эмали

	LDd	LDd-LDr	ΔZd	$\Delta Zd-\Delta Zr$	%R
25°C	110,62 ± 10,11	10,16 ± 3,29	3138,78 ± 568,20	856,66 ± 160,90 ^{abc}	27,30 ± 1,36 ^{abcd}
35°C	107,28 ± 6,38	11,85 ± 4,43	2703,38 ± 610,76	844,06 ± 194,21 ^{de}	31,30 ± 1,14 ^{aefg}
45°C	102,79 ± 7,62	18,10 ± 2,63	2462,15 ± 139,28	872,76 ± 57,50 ^{a#f}	35,44 ^b ± 0,94 ^{beh}
55°C	108,76 ± 5,36	17,24 ± 10,81	3853,07 ± 429,12	1528,36 ± 166,34 ^{bd#}	39,67 ^d ± 1,01 ^{cf}
65°C	107,89 ± 9,70	21,03 ± 6,34	3625,38 ± 989,41	1514,64 ± 394,85 ^{cef}	41,73 ± 3,52 ^{dgh}
Эффект обработки	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,0001	< 0,0001

LDd ANOVA с использованием непреобразованных данных

LDd-LDr ANOVA с использованием непреобразованных данных - (LDd удаляется из модели, поскольку его эффект был незначительным в данной модели (p более 0,05))

Zd критерий Краскела-Уоллиса с попарными сравнениями с использованием поправки Бонферрони

Zd-Zr ANCOVA с использованием данных с преобразованием квадратного корня с апостериорными попарными сравнениями с использованием поправки Сидака. Zd в качестве коварианта сохранялся в модели, поскольку он оказывал высоко значимое воздействие (p менее 0,0001). ^f p менее 0,01; ^{ad} менее 0,001; ^{bce} менее 0,0001; [#] p равен 0,051 (граница со значимостью). Примечание: 25°C в сравнении 35°C p равен 0,071; 35°C в сравнении с 45°C p равен 0,085 (приближаясь к значимости).

%R ANOVA с использованием log-преобразованных данных с критериями множественного апостериорного сравнения Сидака. Zd в качестве коварианта удаляли из модели, поскольку он оказывал незначимый эффект (p более 0,05). ^{ae} менее 0,05; ^h менее 0,01; ^{bcdfg} менее 0,0001; Примечание: 45°C в сравнении с 55°C p равен 0,065 (приближаясь к значимости)

Примечание: ANOVA дает тот же результат, как ANCOVA, когда ковариант удаляется.

Пример 2

Способ получения жидких композиций с высокой концентрацией CPP-ACP или CPP-ACP со свободным фторидом описан ниже.

Стоковые растворы 3,25 М CaCl₂ и 1,25 М NaH₂PO₄ (рН 5,5) добавляли в приблизительно тридцати аликвотах к продукту расщепления казеина трипсином 10 - 15% (масс./об.) незадолго до осаждения или гелеобразования (обычно с получением конечной концентрации приблизительно 78 - 124 мМ Ca²⁺ и 48 - 76 мМ неорганического фосфата). Растворы добавляли медленно (то есть, добавление меньше чем приблизительно 1 об.% в минуту) при надлежащем перемешивании. Сначала добавляли аликвоту раствора фосфата с последующим добавлением аликвоты раствора кальция. рН основного объема раствора поддерживали на уровне 9,0 с использованием 1 - 10 М NaOH при тщательном перемешивании. Раствор гидроксида натрия добавляли автоматически посредством рН-стат с добавлением гидроксид-ионов, обычно имеющим место после каждого добавления ионов кальция. После завершения добавления ионов-кальция, фосфат-ионов и гидроксид-ионов, раствор фильтровали через фильтр 0,1 микрометров с концентрированием в 1-2 раза. Затем ретентат промывали 1-2 объемами воды для удаления солей и неактивных (и горчащих) пептидов. Полученные растворы CPP-ACP затем подвергали сушке распылением или лиофилизации с получением белого порошка. Затем данный высушенный порошок добавляли в воду с образованием 20%-75% (масс./об.) растворов CPP-ACP при рН 5,5 посредством добавления 1 - 10 М HCl или с добавленным NaF с получением 3260 млн⁻¹ F для 25% (масс./об.), 4890 млн⁻¹ F для 38%, 6520 млн⁻¹ F для 50% (масс./об.), 8151 млн⁻¹ F для 63% CPP-ACP и 9880 млн⁻¹ F для 75% CPP-ACP при рН 5,5.

75% (Масс./об.) раствор получали посредством добавления 75 г порошка CPP-ACP к 20 мл воды с маленьким количеством порошка в каждое добавление (0,5 г/мин) при поддержании рН на уровне 5,5 посредством добавления 10 М HCl. Раствор тщательно смешивали после каждого добавления с обеспечением дисперсии. Концентрированный раствор NaF (0,95 М) добавляли вместе с 10 М HCl с таким расчетом, чтобы в конечном итоге было добавлено 52 ммоль F. К порошку CPP-ACP, NaF и HCl на протяжении 2-3 часов добавляли воду до конечного объема 100 мл. Это приводило к получению очень вязкого раствора 75% (масс./об.) CPP-ACP, 9880 млн⁻¹ F при рН 5,5.

Пример 3

Реминерализация под действием CPP-ACFP и CPP-ACP *in vitro* при высоких концентрациях. Цель данных экспериментов заключалась в сравнении реминерализации под действием CPP-ACP плюс фторид (F) и CPP-ACP в высоких концентрациях (например, 20% (масс./об.), 25% (масс./об.), 30% (масс./об.), 38% (масс./об.), 40% (масс./об.), 50% (масс./об.) и 63% (масс./об.)).

Повреждения деминерализованной подповерхности эмали зуба человека готовили в блоках эмали третьего моляра. Половину блоков держали в качестве контроля, и другую половину блоков обрабатывали следующим образом:

Каждый образец эмали предварительно обрабатывали 1 М NaOH (5 мл) в течение 5 мин при 45°C, затем промывали водой на протяжении 10 сек/промакивание;

подвергали реминерализации посредством суспендирования их по отдельности в одном из следующих растворов для реминерализации:

- CPP-ACP плюс жидкие композиции F при 25% (масс./об.), 38% (масс./об.), 50% (масс./об.) и 63% (масс./об.) CPP-ACP; или

- только жидкие композиции CPP-ACP (отсутствие фторида) при 20% (масс./об.), 30% (масс./об.), 40% (масс./об.) и 50% (масс./об.) CPP-ACP, в течение 4 часов при 45°C.

Содержание фторида в случае CPP-ACP плюс жидкая композиция F составляет такое, как показано в Таблице 2, конкретно 3260 млн⁻¹ F в случае 25% (масс./об.), 4890 млн⁻¹ F в случае 38% (масс./об.), 6520 млн⁻¹ F в случае 50% (масс./об.) и 8151 млн⁻¹ F в случае 63% (масс./об.) CPP-ACP, соответственно.

Блок эмали удаляли и соединяли с его контролем для заливки, изготовления срезов и подвергания микрорадиографии поперечного сечения и денситометрическому анализу изображения для определения увеличения содержания минеральных веществ, выраженного в процентах (% Реминерализация).

Таблица 2: Результаты реминерализации под действием CPP-ACP плюс F и CPP-ACP *in vitro* в высоких концентрациях

Обработка	LDd (мкм)	ΔZd (об. мкм)	$\Delta Zd - \Delta Zr$ (об. мкм)	%R

25% (масс./об.) CPP-ACP + 3260 млн ⁻¹ F	114,73 ± 8,80	3021,30 578,92	±	389,30 ± 71,06	13,05 ± 2,09
20% (масс./об.) CPP-ACP	102,51 ± 6,30	2826,42 349,81	±	234,83 ± 59,38	8,30 ± 2,24
38% (масс./об.) CPP-ACP + 4890 млн ⁻¹ F	102,04 ± 9,06	2692,09 448,70	±	515,01 ± 121,81	18,92 ± 2,27
30% (масс./об.) CPP-ACP	104,02 ± 9,48	3041,59 536,66	±	438,07 ± 65,16	14,43 ± 1,28
50% (масс./об.) CPP-ACP + 6520 млн ⁻¹ F	112,45 ± 7,76	3145,51 534,90	±	822,27 ± 181,33	25,81 ± 1,42
40% (масс./об.) CPP-ACP	99,24 ± 6,87	2794,54 501,81	±	458,38 ± 63,67	16,34 ± 1,47
63% (масс./об.) CPP-ACP + 8151 млн ⁻¹ F	118,05 ± 10,67	3139,87 218,49	±	859,84 ± 115,10	27,21 ± 2,14
50% (масс./об.) CPP-ACP	104,00 ± 7,79	2691,53 745,94	±	375,62 ± 129,73	13,98 ± 3,72

Уровни реминерализации подповерхности эмали через всего лишь 4 часа представляют собой самый высокий уровень реминерализации, о котором сообщено за такое короткое время воздействия и который достигнут посредством нового препарата жидких композиций, содержащих высокую концентрацию CPP-ACP(F), и нового применения температуры для облегчения реминерализации.

Пример 4

Способ получения жидких композиций с высокой концентрацией, содержащих CPP-ACP или CPP-ACP со свободным фторидом, описан ниже.

30 г порошка CPP-AC (коммерческий Recaldent) добавляли к 19,5 г раствора 20000 млн⁻¹ F (NaF), к которому добавляли 0,5 г 11 М раствора HCl с получением конечной массы 50 г (следовательно данный конечный раствор представляет собой 60% (масс./масс.) CPP-ACP с 7800 млн⁻¹ F при pH 7,8 или 75% (масс./об.) CPP-ACP, содержащий 10000 мг/л F при pH 7,8). При тщательном перемешивании (примерно

30 мин) получали гомогенный очень вязкий, но стабильный раствор с pH 7,8. Затем данный раствор дегазировали для удаления захваченных пузырьков воздуха посредством помещения раствора в вакуум на 24 часа.

Вязкий, стабильный и безопасный (нейтральный pH) раствор прост в применении в хирургической стоматологии и более концентрирован, таким образом создает лучший эффект на протяжении более продолжительного периода времени. Данная композиция все еще находится в жидкой форме, таким образом, может быть нанесена на зубную поверхность посредством микрощеточки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий:

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт со стабилизированным аморфным фосфатом кальция (ACP) и/или аморфным фторидом-фосфатом кальция (ACFP), и одновременно или последовательно,

нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP, до температуры выше чем 37°C.

2. Способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий:

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP).

3. Способ минерализации зубной поверхности или подповерхности, включающий:

приведение зубной поверхности или подповерхности в контакт с жидкой композицией, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (ACP) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (ACFP), и одновременно или последовательно,

нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесена или наносят жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного ACP и/или ACFP, до температуры выше чем 37°C.

4. Способ по п. 1 или п. 3, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP, до температуры выше чем или равной 40°C.

5. Способ по п. 4, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный ACP и/или ACFP, до температуры выше чем или равной 45°C.

6. Способ по п. 5, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем или равной 50°C.

7. Способ по п. 6, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем или равной 55°C.

8. Способ по п. 7, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем или равной 60°C.

9. Способ по п. 8, где способ включает нагревание зубной поверхности или подповерхности, на которую нанесен или наносят стабилизированный АСР и/или АСФР, до температуры, выше чем или равной 65°C.

10. Способ по п. 2 или п. 3, в котором жидкая композиция содержит больше чем 25% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

11. Способ по п. 10, в котором жидкая композиция содержит больше чем 30% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

12. Способ по п. 11, в котором жидкая композиция содержит больше чем 35% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

13. Способ по п. 12, в котором жидкая композиция содержит больше чем 40% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

14. Способ по п. 13, в котором жидкая композиция содержит больше чем 45% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

15. Способ по п. 14, в котором жидкая композиция содержит больше чем 50% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

16. Способ по п. 15, в котором жидкая композиция содержит больше чем 55% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

17. Способ по п. 16, в котором жидкая композиция содержит больше чем 60% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

18. Способ по п. 17, в котором жидкая композиция содержит больше чем 65% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

19. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 40% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

20. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 45% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

21. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 50% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

22. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 55% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

23. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 60% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

24. Способ по любому из п.п. 1-18, в котором жидкая композиция содержит больше чем 65% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

25. Способ по любому из п.п. 1-24, в котором стабилизированный АСР и/или АСФР стабилизирован фосфопептидом.

26. Способ по п. 25, в котором фосфопептид представляет собой казеин фосфопептид.

27. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором зубная поверхность или подповерхность представляет собой флюоротическое повреждение.

28. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором зубная поверхность или подповерхность представляет собой повреждение в виде белого пятна.

29. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором зубная поверхность или подповерхность представляет собой кариозное повреждение.

30. Способ по любому из п.п. 1-26, в котором зубная поверхность или подповерхность представляет собой повреждение, обусловленное эрозией.

31. Жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР).

32. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 25% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

33. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 30% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

34. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 35% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

35. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 40% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

36. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 45% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

37. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 50% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

38. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 55% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

39. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 60% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

40. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 65% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

41. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 70% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

42. Жидкая композиция по п. 31, где композиция содержит больше чем 75% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

43. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 40% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

44. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 45% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

45. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 50% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

46. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 55% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

47. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 60% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

48. Жидкая композиция по п. 31, где жидкая композиция содержит больше чем 65% (масс./масс.) стабилизированного АСР и/или АСФР.

49. Жидкая композиция по любому из п.п. 31-48, где композиция дополнительно содержит фторид.

50. Жидкая композиция, содержащая больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР) для применения в:

- минерализации зубной поверхности, или подповерхности, или любого повреждения, как описано в данном документе; или

- лечении или предупреждении одного или более из каждого из: кариеса зуба, разрушения зуба, эрозии зуба, повреждений в виде белых пятен и флюороза.

51. Применение жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР) в изготовлении композиции или лекарственного средства для минерализации зубной поверхности или подповерхности, или лечения и/или предупреждения одного или более из кариеса зуба, разрушения зуба, эрозии зуба и флюороза.

52. Набор для лечения или предупреждения одного или более из кариеса зуба, флюороза и эрозии зуба или минерализации зубной поверхности, или подповерхности, или повреждения, как описано в данном документе, содержащий жидкую композицию, содержащую больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного аморфного фосфата кальция (АСР) и/или аморфного фторида-фосфата кальция (АСФР).

53. Набор по п. 52, дополнительно содержащий источник тепла.

54. Способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей более чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, причем способ или процесс включает или состоит из:

смешивания растворителя и порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР, и

поддержания рН ниже 9, предпочтительно ниже 8 или 7.

55. Способ или процесс получения жидкой композиции, содержащей больше чем 20% (масс./об.) стабилизированного АСР и/или АСФР, причем способ или процесс включает или состоит из:

смешивания растворителя и порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР, и

снижения рН ниже 9, предпочтительно рН понижают до или ниже 7, 6, предпочтительно 5,5.

56. Способ или процесс по п. 42 или п. 43, в котором рН поддерживается на уровне или ниже 6, предпочтительно, рН поддерживается на уровне или ниже 5,5.

57. Способ или процесс, который дополнительно включает следующие стадии получения порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР:

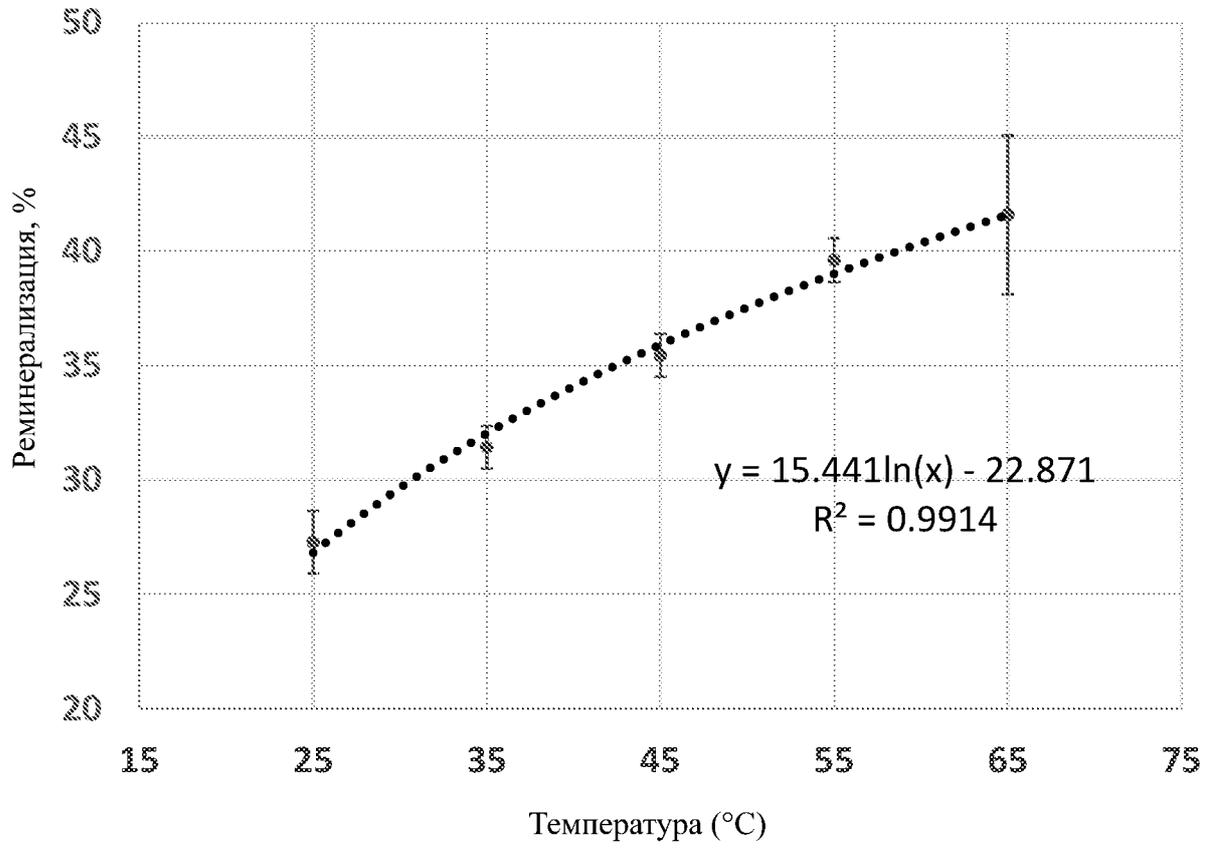
примешивание одного или более растворов, содержащих фосфопептиды, ионы кальция, фосфат-ионы, гидроксид-ионы и возможно фторид-ионы, одновременно поддерживая рН на уровне примерно 7,0 или выше, предпочтительно примерно 9, с образованием раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР, и

сушка раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР,

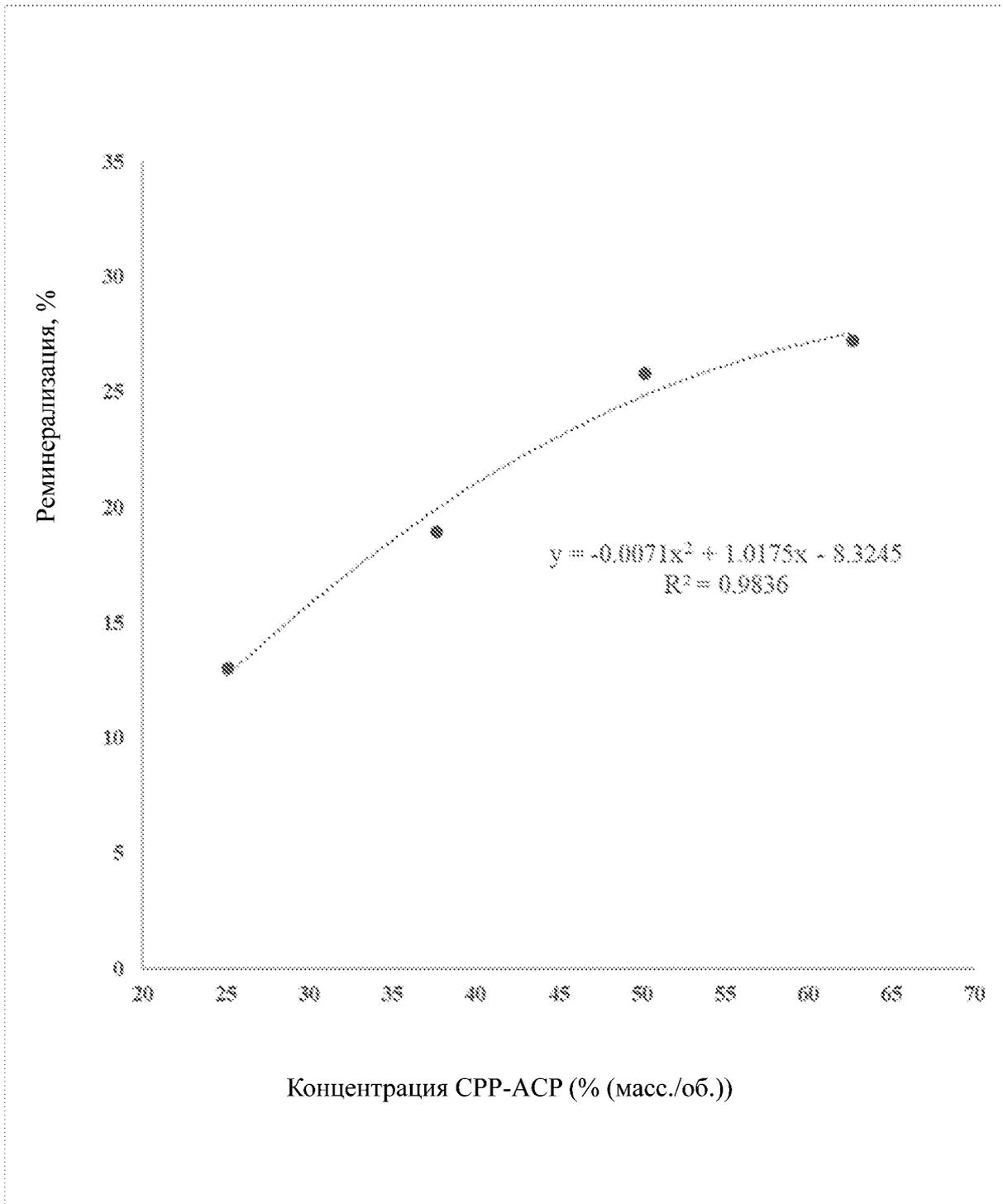
образование, вследствие этого, порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР.

58. Способ или процесс по п. 57, в котором сушка представляет собой сушку распылением или лиофильную сушку.

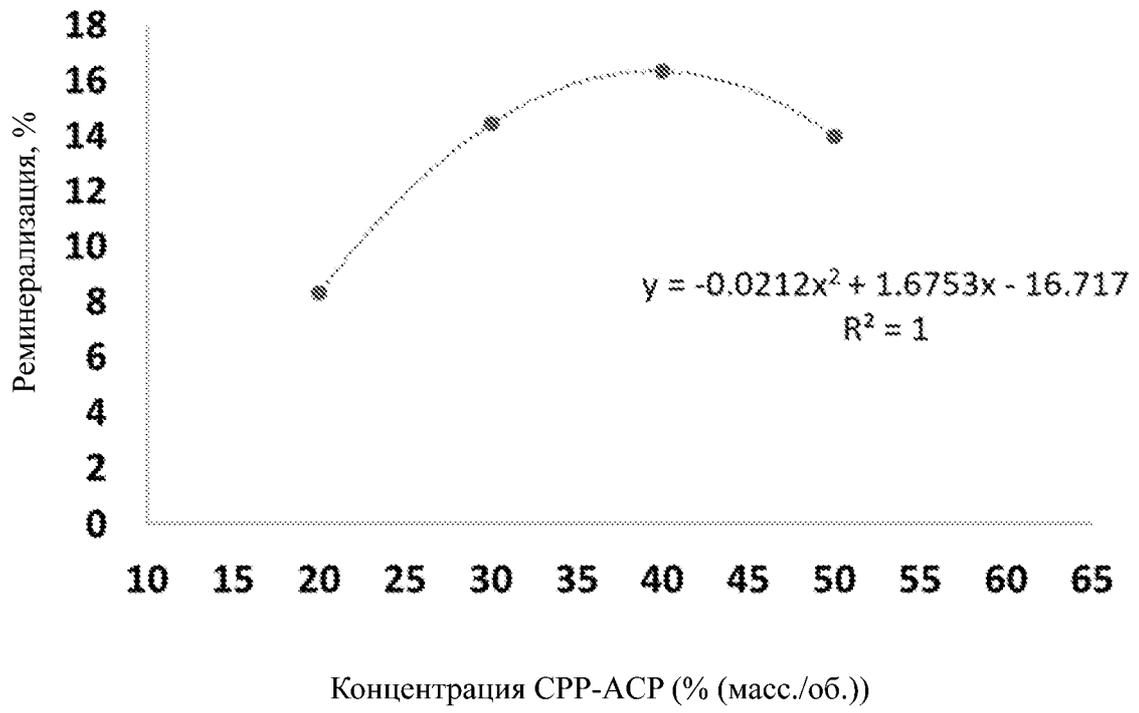
59. Способ или процесс по п. 57 или п. 58, дополнительно включающий стадию фильтрации раствора, содержащего стабилизированный АСР и/или АСФР, перед сушкой с образованием ретентата, где впоследствии ретентат сушат с образованием порошка, содержащего или состоящего из стабилизированного АСР и/или АСФР.



ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3