

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 345**

51 Int. Cl.:

A61K 8/24 (2006.01)
A61K 8/20 (2006.01)
A61K 8/22 (2006.01)
A61K 33/42 (2006.01)
A61Q 11/00 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2006 E 06741201 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2012 EP 1888014**

54 Título: **Mineralización dental**

30 Prioridad:

07.06.2005 AU 2005902961

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.03.2013

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF MELBOURNE (100.0%)
GRATTAN STREET
PARKVILLE, VICTORIA 3052, AU**

72 Inventor/es:

REYNOLDS, ERIC, CHARLES

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 399 345 T3

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

DESCRIPCIÓN

Mineralización dental

- 5 La presente invención se refiere a la mineralización de una superficie dental, en particular el esmalte de los dientes. En otro aspecto, se refiere a la mineralización de lesiones hipomineralizadas (incluidas lesiones subsuperficiales) en el esmalte de los dientes provocadas por caries dental, erosión dental y fluorosis.

Antecedentes

- 10 Las causas comunes de lesiones hipomineralizadas son la caries y la fluorosis.
- 15 La caries dental se inicia por la desmineralización de tejido duro de los dientes, habitualmente por ácidos orgánicos producidos por la fermentación del azúcar alimentario por bacterias odontopatógenas de la placa bacteriana. La caries dental sigue siendo un problema de salud pública importante. Además, las superficies de diente reparadas pueden ser susceptibles a caries dentales adicionales alrededor de los márgenes de la reparación. A pesar de que la prevalencia de la caries dental ha disminuido con el uso de flúor en la mayoría de los países industrializados, la enfermedad sigue siendo un problema de salud pública importante. La corrosión o erosión dental es la pérdida de mineral del diente por ácidos alimentarios o regurgitados. La hipersensibilidad dental se debe a túbulos dentinarios expuestos por la pérdida de la capa mineralizada protectora, el cemento. El sarro es la acumulación de minerales de fosfato de calcio sobre la superficie del diente. Todas estas afecciones, la caries dental, la erosión dental, la hipersensibilidad dental y el sarro, son por lo tanto desequilibrios de la cantidad de fosfatos de calcio.

- 25 La fluorosis del esmalte (manchas) se conoce desde hace casi un siglo, aunque el papel etiológico del flúor no se identificó hasta 1942 (Black y McKay, 1916). El aspecto característico de la fluorosis se puede diferenciar de otras alteraciones del esmalte (Fejerskov *et al.*, 1991). Las características clínicas de las lesiones fluoróticas del esmalte (LFE) representan un espectro continuo que va desde líneas opacas finas que rodean los periquimatos, a esmalte calcáreo blanco (Fejerskov *et al.*, 1990; Giambro *et al.*, 1995). La presencia, de una superficie externa de esmalte altamente mineralizada de forma comparativa y una subsuperficie hipomineralizada en la lesión fluorótica simula la lesión cariada de "mancha blanca" del esmalte inicial (Fejerskov *et al.*, 1990). Con el aumento de la gravedad, aumentan tanto la profundidad de esmalte implicado en la lesión como el grado de hipomineralización (Fejerskov *et al.*, 1990, Giambro *et al.*, 1995). El desarrollo de la fluorosis depende en gran medida de la dosis, la duración y el momento de la exposición a flúor (Fejerskov *et al.*, 1990, Fejerskov *et al.*, 1996; Aoba y Fejerskov, 2002) y se cree que está relacionado con concentraciones altas de flúor en suero. También se pueden formar lesiones de "mancha blanca" calcáreas en dientes en desarrollo en niños tal como después de tratamiento con antibióticos o fiebre. Las lesiones de este tipo indican zonas de hipomineralización del esmalte del diente.

- 40 En función de la gravedad de la lesión, se ha tratado clínicamente la fluorosis mediante reemplazo reparador o microabrasión del esmalte externo (Den Besten y Thariani, 1992; Fejerskov *et al.*, 1996). Estos tratamientos no son satisfactorios porque implican reparaciones o retirada de tejido del diente. Lo que se desea es un tratamiento que mineralice el esmalte hipomineralizado para producir una estructura y un aspecto naturales.

- 45 Se ha mostrado que complejos específicos de fosfopéptidos de caseína y fosfato de calcio amorfo ("CPP-ACP", comercialmente disponibles como Recaldent™) remineralizan lesiones de superficie de esmalte *in vitro* e *in situ* (Reynolds, 1998; Shen *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2003).

- 50 El documento WO 98/40406 a nombre de The University of Melbourne describe complejos de fosfopéptido de caseína-fosfato de calcio amorfo (CPP-ACP) y complejos de fosfato de fluoruro de calcio amorfo estabilizado con CPP (CPP-ACFP) que se han producido a pH alcalino. Se ha mostrado que los complejos de este tipo evitan la desmineralización del esmalte y promueven la remineralización de lesiones de superficie de esmalte en modelos de caries *in situ* animales y humanos (Reynolds, 1998).

- 55 Los CPP que son activos en la formación de los complejos lo son tanto si forman parte de una proteína caseína de longitud completa como si no. En la patente de EE. UU. N.º 5.015.628 se especifican ejemplo de (CPP) activos que se pueden aislar después de la digestión triptica de caseína de longitud completa e incluyen α_{s1} -caseína Bos X-5P (f59-79) [1], β -caseína Bos X-4P (f1-25) [2], α_{s2} -caseína Bos X-4P (f46-70) [3] y α_{s2} -caseína Bos X-4P (f1-21) [4] como siguen:

[1]

- 60 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 α_{s1} (59-79)

[2]

- 65 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 β(1-25)

[3]

5 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 α_{s2}(46-70)

[4]

10 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 α_{s2}(1-21)

El acceso de iones mineralizantes al esmalte del diente puede estar limitado en muchos casos por la capa de proteínas salivales que se forma sobre la superficie del esmalte, denominada la película. Las proteínas de la película también se pueden acumular en lesiones subsuperficiales del esmalte, inhibiendo de este modo la mineralización de estas lesiones. Este tipo de acumulaciones de proteínas se pueden decolorar con el tiempo, dejando manchas antiestéticas en el diente. En consecuencia, existe la necesidad de eliminar estas proteínas para eliminar la decoloración y evitar las limitaciones del acceso al esmalte de los iones remineralizantes. Para superar estas y otras limitaciones de tratamientos conocidos, se ha llevado a cabo la investigación con este fin.

20

Sumario de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a la remineralización de una superficie o subsuperficie dental, que incluye poner en contacto la superficie dental con un agente de ruptura de proteínas y poner en contacto la superficie dental con fosfato de calcio amorfo (ACP) o fosfato de fluoruro de calcio amorfo (ACFP) estabilizados. Preferentemente, la superficie dental es esmalte dental. En una realización la superficie dental es una lesión en el esmalte, tal como una lesión provocada por caries, erosión dental o fluorosis.

25

La mineralización de superficies dentales se puede potenciar significativamente por la ruptura de proteínas de la película de la superficie dental antes de la aplicación de un material remineralizante, tal como ACP y/o ACFP estabilizados. En particular, se ha descubierto que la mineralización del esmalte mediante formas solubles estabilizadas de ACP (CPP-ACP) y ACFP (CPP-ACFP) se potencia por el pretratamiento de la superficie de esmalte con un agente de ruptura de proteínas tal como un blanqueador alcalino.

30

Preferentemente, el ACP y/o ACFP está estabilizado con fosfopéptido (PP). Preferentemente, el fosfopéptido (como se define más adelante) es un fosfopéptido de caseína.

35

En una realización preferente el ACP y/o ACFP está en forma de un complejo de ACP y/o ACFP estabilizado con un fosfopéptido de caseína.

40

Preferentemente, la fase del ACP es predominantemente una fase básica, en la que el ACP comprende predominantemente las especies Ca²⁺, PO₄³⁻ y OH⁻. La fase básica de ACP puede tener la fórmula general [Ca₃(PO₄)₂]_x[Ca₂(PO₄)(OH)] donde x ≥ 1. Preferentemente, x = 1-5. Más preferentemente, x = 1. Preferentemente, los dos componentes de la fórmula están presentes en proporciones iguales. En consecuencia, en una realización, la fase básica de ACP tiene la fórmula Ca₃(PO₄)₂Ca₂(PO₄)(OH).

45

Preferentemente, la fase del ACFP es predominantemente una fase básica, en la que el ACFP comprende predominantemente las especies Ca²⁺, PO₄³⁻ y F⁻. La fase básica de ACFP puede tener la fórmula general [Ca₃(PO₄)₂]_x[Ca₂(PO₄)F]_y donde x ≥ 1 cuando y = 1 o donde y ≥ 1 cuando x = 1. Preferentemente, y = 1 y x = 1-3. Más preferentemente, y = 1 y x = 1. Preferentemente, los dos componentes de la fórmula están presentes en proporciones iguales. En consecuencia, en una realización, la fase básica de ACFP tiene la fórmula Ca₃(PO₄)₂Ca₂(PO₄)F.

50

En una realización, el complejo de ACP consiste esencialmente en fosfopéptidos, iones calcio, fosfato e hidróxido, y agua.

55

En una realización, el complejo de ACFP consiste esencialmente en fosfopéptidos, iones calcio, fosfato, flúor e hidróxido, y agua.

60

Descripción detallada de la invención

En el procedimiento de la presente invención se puede usar cualquier agente de ruptura de proteínas adecuado. Es necesario que el agente haga disminuir la barrera proteínica formada sobre la superficie que se va a tratar, tal como la película sobre los dientes. Los ejemplos de agentes adecuados incluyen agentes blanqueantes, detergentes, caotrópicos tales como la urea, concentraciones altas de fosfato, combinaciones de proteasas (p. ej., endopeptidasas, proteinasas y exopeptidasas) y cualquier otro agente solubilizante, de ruptura o hidrolizante de

65

proteínas.

5 Los ejemplos de blanqueantes adecuados incluyen blanqueantes de hipoclorito de sodio (NaOCl) y peróxido de carbamida. En una realización preferente, el blanqueante es un blanqueante alcalino. En otra realización preferente el blanqueante alcalino es NaOCl. El agente de ruptura de proteínas actúa para solubilizar y eliminar parcial o totalmente las proteínas de la superficie dental, en particular proteínas de la película.

10 En otro aspecto la presente invención se refiere a la mineralización de una superficie dental que comprende proporcionar un agente de ruptura de proteínas y una fuente de ACP o ACFP. En una realización preferente la superficie dental es esmalte.

En otro aspecto la presente invención se refiere al tratamiento de la fluorosis poniendo en contacto una lesión fluorótica en el esmalte de un diente con un agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado.

15 En otro aspecto la presente invención se refiere al tratamiento de caries dental poniendo en contacto una lesión cariada en el esmalte de un diente con un agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado.

20 En otro aspecto la presente invención se refiere al tratamiento de erosión dental poniendo en contacto una lesión en el esmalte de un diente provocada por la erosión con un agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado.

25 En otro aspecto la presente invención se refiere a la reducción de lesiones de mancha blanca en el esmalte de un diente poniendo en contacto una lesión de mancha blanca con un agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado.

En otro aspecto la presente invención se refiere a la remineralización de una lesión en el esmalte de un diente poniendo en contacto la lesión con un agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado.

30 Preferentemente, el ACP y/o ACFP está estabilizado por un fosfopéptido. En una realización preferente el fosfopéptido es un fosfopéptido de caseína. Preferentemente, el ACP o ACFP está en forma de un complejo de ACP o ACFP estabilizado por un fosfopéptido de caseína.

35 En una realización, el agente de ruptura de proteínas es NaOCl. Se puede usar una concentración de aproximadamente el 1 hasta el 20 % de NaOCl. De forma alternativa, la concentración de NaOCl es del 1 al 10 %. En una realización preferente, se usa aproximadamente el 5 % de NaOCl.

40 Se puede poner en contacto el agente de ruptura de proteínas con la superficie dental durante un periodo de aproximadamente 1 a 60 minutos, o durante de aproximadamente 1 a 30 minutos. En una realización, se pone en contacto el agente de ruptura de proteínas con la superficie dental durante aproximadamente 20 minutos.

45 Preferentemente, el ACP y/o ACFP estabilizado se pone en contacto con la superficie dental durante un periodo de aproximadamente 1 minuto a 2 horas o de 5 minutos a 60 minutos o de aproximadamente 10 minutos. El ACP y/o ACFP estabilizado se puede aplicar repetidamente a la superficie dental durante un periodo de 1 día hasta varios meses.

En una realización, el ACP y/o ACFP estabilizado se pone en contacto con la superficie dental después de haber puesto en contacto la superficie dental con el agente de ruptura de proteínas.

50 En una realización preferente, el agente de ruptura de proteínas se pone en contacto con la superficie dental de 1 a 60 minutos, o de 1 a 30 minutos, o de 1 a 5 minutos antes de poner en contacto la superficie dental con el ACP y/o ACFP estabilizado.

55 En otro aspecto la presente invención se refiere a la remineralización de la superficie de un diente que comprende aplicar un complejo de ACP y/o ACFP a la superficie de un diente que se ha pretratado con un agente de ruptura de proteínas. Preferentemente, la superficie de diente es esmalte de diente. En una realización preferente, la superficie de diente es esmalte de diente que contiene una lesión seleccionada del grupo que consiste en una o más de lesión de mancha blanca; una lesión fluorótica; una lesión cariada; o una lesión provocada la erosión del diente. En otra realización preferente el agente de ruptura de proteínas es un blanqueante.

60 En una realización, la superficie dental necesita un tratamiento de este tipo. La invención también incluye un procedimiento de tratamiento de un sujeto que padece fluorosis, caries dental, hipersensibilidad dentinal o sarro.

65 Sin quedar vinculados a ninguna teoría o modo de acción en particular, se entiende que precondicionar el esmalte del diente con un agente de ruptura de proteínas da lugar a una desproteínización parcial o total del esmalte, potenciando la difusión del calcio y el fosfato en hacia la subsuperficie del esmalte.

Se entiende además que el tratamiento del esmalte de diente con ACFP estabilizado produce fluorapatita, que es más resistente a la exposición a ácido que el esmalte de diente normal. Esto puede dar lugar a esmalte de diente con mejores propiedades de resistencia a la caries. En consecuencia, en una realización preferente, el procedimiento de la presente invención incluye ACFP estabilizado.

5 En el contexto de la descripción de la presente invención, "fosfopéptido" significa una secuencia de aminoácidos en la que al menos un aminoácido está fosforilado. Preferentemente, el fosfopéptido incluye uno o más de la secuencia de aminoácidos -A-B-C-, donde A es un residuo defosfoamino, B es cualquier residuo de amino acilo incluido un residuo de fosfoamino y C se selecciona de entre un residuo de glutamilo, aspartilo o fosfoamino. Cualquiera de los
10 residuos de fosfoamino puede ser, independientemente, un residuo de fosfoserilo. De forma deseable, B es un residuo cuya cadena lateral no es ni relativamente grande ni hidrófoba. Puede ser Gly, Ala, Val, Met, Leu, Ile, Ser, Thr, Cys, Asp, Glu, Asn, Gln o Lys.

15 En otra realización, al menos dos de los fosfoaminoácidos de la secuencia están preferentemente contiguos. Preferentemente, el fosfopéptido incluye la secuencia A-B-C-D-E, donde A, B, C, D y E son independientemente fosfoserina, fosfotreonina, fosfotirosina, fosfohistidina, ácido glutámico o ácido aspártico, y al menos dos, preferentemente tres, de A, B, C, D y E son un fosfoaminoácido. En una realización preferente, los residuos de fosfoaminoácido son fosfoserina, lo más preferentemente tres residuos de fosfoserina contiguos. También se prefiere que D y E sean, independientemente, ácido glutámico o aspártico.

20 También se entenderá que el término "comprende" (o sus variantes gramaticales) como se usa en la presente memoria descriptiva es equivalente al término "incluye" y se puede usar indistintamente y no se debería interpretar como excluyente de la presencia de otros elementos o características.

25 En una realización, el ACP o ACFP está estabilizan por un fosfopéptido de caseína (CPP), que está en forma de caseína intacta o fragmento de la caseína y, preferentemente, el complejo formado tiene la fórmula $[CPP(ACP)_8]_n$ o $[(CPP)(ACFP)_8]_n$ donde n es igual a o mayor que 1, por ejemplo 6. El complejo formado puede ser un complejo coloidal, donde las partículas centrales se agregan para formar partículas coloidales grandes (p. ej., de 100 nm) suspendidas en agua. Por tanto, el PP puede ser una proteína caseína o un polifosfopéptido.

30 El PP puede ser de cualquier origen; puede estar presente en el contexto de un polipéptido más grande, incluido un polipéptido de caseína de longitud completa, o se puede aislar por digestión triptica u otra enzimática o química de caseína, u otras proteínas ricas en fosfoaminoácidos tales como fosfitina, o por síntesis química o recombinante, con la condición de que comprenda la secuencia -A-B-C- o A-B-C-D-E como se describe anteriormente. La secuencia que flanquea a esta secuencia central puede ser cualquier secuencia. No obstante, son preferentes las secuencias
35 flanqueantes de $\alpha_{s1}(59-79)$ [1]; $\beta(1-25)$ [2], $\alpha_{s2}(46-70)$ [3] y $\alpha_{s2}(1-21)$ [4]. Opcionalmente, las secuencias flanqueantes se pueden modificar por eliminación, adición o sustitución conservadora de uno o más residuos. La composición y secuencia de aminoácidos de la región flanqueante no son críticas.

40 A continuación, en la tabla 1 se muestran ejemplos de sustituciones conservadoras.

Tabla 1

Residuo original	Sustitución conservadora ejemplar	Sustitución conservadora preferente
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

Tyr	Trp Phe Thr Ser	Phe
-----	-----------------	-----

Las secuencias flanqueantes también pueden incluir residuos de aminoácido artificiales. Los aminoácidos que no están codificados por el código genético que se encuentran comúnmente incluyen:

- 5 ácido 2-aminoadípico (Aad) para Glu y Asp;
 ácido 2-aminopimérico (Apm) para Glu y Asp;
 ácido 2-aminobutírico (Abu) para Met, Leu y otros aminoácidos alifáticos;
 10 ácido 2-aminoheptanoico (Ahe) para Met, Leu y otros aminoácidos alifáticos;
 ácido 2-aminoisobutírico (Aib) para Gly;
 15 ciclohexilalanina (Cha) para Val, y Leu e Ile;
 homoarginina (Har) para Arg y Lys;
 ácido 2,3-diaminopropiónico (Dpr) para Lys, Arg e His;
 20 N-etilglicina (EtGly) para Gly, Pro y Ala;
 N-etilasparagina (EtAsn) para Asn y Gln;
 25 Hidroxilisina (Hyl) para Lys;
 alohidroxilisina (AHyl) para Lys;
 3-(y 4) hidroxiprolina (3Hyp, 4Hyp) para Pro, Ser y Thr;
 30 aloisoleucina (Alle) para Ile, Leu y Val;
 ρ -amidinofenilalanina para Ala;
 35 N-metilglicina (MeGly, sarcosina) para Gly, Pro, Ala.
 N-metilisoleucina (Melle) para Ile;
 Norvalina (Nva) para Met y otros aminoácidos alifáticos;
 40 Norleucina (Nle) para Met y otros aminoácidos alifáticos;
 Ornitina (Orn) para Lys, Arg e His;
 45 Citrulina (Cit) y sulfóxido de metionina (MSO) para Thr, Asn y Gln;
 N-metilfenilalanina (MePhe), trimetilfenilalanina, halo (F, Cl, Br y I) fenilalanina, trifluorilfenilalanina, para Phe.
- En una realización, el PP es uno o más fosfopéptidos seleccionados del grupo que consiste en $\alpha_{s1}(59-79)$ [1], $\beta(1-25)$ [2], $\alpha_{s2}(46-70)$ [3] y $\alpha_{s2}(1-21)$ [4].

En otra realización de la invención, el complejo de ACFP o ACP estabilizado se incorpora en composiciones orales tales como pasta de dientes, colutorios o formulaciones para la boca para ayudar en la prevención y/o el tratamiento de caries dental, deterioro del diente, erosión dental o fluorosis. El complejo de ACFP o ACP puede comprender el 0,01-50 % en peso de la composición, preferentemente el 1,0-50 %. Para composiciones orales, se prefiere que la cantidad del CPP-ACP y/o CPP-ACFP administrada sea del 0,01-50 % e peso, preferentemente del 1,0%-50 % en peso de la composición. En una realización particularmente preferente, la composición oral de la presente invención contiene aproximadamente el 2 % de CPP-ACP, CPP-ACFP o una mezcla de los mismos. La composición oral de la presente invención que contiene los agentes mencionados anteriormente se puede preparar y usar de diversas formas aplicables a la boca, tales como dentífricos, incluidas pastas de dientes, polvos dentífricos y dentífricos líquidos, colutorios, trociscos, chicles, pastas dentales, cremas de masaje gingival, comprimidos para gárgaras, productos lácteos y otros alimentos. La composición oral de acuerdo con la presente invención puede incluir además otros ingredientes bien conocidos en función del tipo y forma de una composición oral en particular.

5 En determinadas formas preferentes de la invención la composición oral puede ser de carácter sustancialmente líquido, tal como un colutorio o un enjuague bucal. Típicamente, en una preparación de este tipo el vehículo es una mezcla de agua-alcohol que, de forma deseable, incluye un humectante como se describe a continuación. En general, la proporción en peso de agua y alcohol está en el intervalo de desde aproximadamente 1:1 hasta aproximadamente 20:1. Típicamente, la cantidad total de mezcla de agua-alcohol en este tipo de preparación está en el intervalo de desde aproximadamente el 70 hasta aproximadamente el 99,9 % en peso de la preparación. Típicamente, el alcohol es etanol o isopropanol. Se prefiere el etanol.

10 El pH de estas preparaciones líquidas y otras preparaciones de la invención está, en general, en el intervalo de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 9 y, típicamente desde aproximadamente 5,0 hasta 7,0. Se puede controlar el pH con ácido (p. ej., ácido fosfórico, ácido cítrico o ácido benzoico) o base (p. ej., hidróxido de sodio) o tamponando (como con citrato, benzoato, carbonato o bicarbonato de sodio, hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de sodio, etc.).

15 En otras formas deseables de la presente invención, la composición de ACP o ACFP estabilizada puede ser de carácter sustancialmente sólido o pastoso, tal como polvo dentífrico, un comprimido dental o una pasta de dientes (crema dental) o dentífrico en gel. El vehículo de estas preparaciones orales sólidas o pastosas contiene, en general, material de pulido dentalmente aceptable. Son ejemplos de materiales de pulido el metafosfato de sodio insoluble en agua, metafosfato de potasio, fosfato tricálcico, fosfato de calcio dihidratado, fosfato dicálcico anhidro, pirofosfato de calcio, ortofosfato de magnesio, fosfato trimagnésico, carbonato de calcio, alúmina hidratada, alúmina calcinada, silicato de aluminio, silicato de circonio, sílice, bentonita y mezclas de los mismos. Otro material de pulido adecuado incluye las resinas termoendurecibles particuladas tales como formaldehídos de melamina, fenólicos y de urea y poliepóxidos y poliésteres reticulados. Los materiales de pulido preferidos incluyen sílice cristalina con tamaños de partícula de hasta aproximadamente 5 micrómetros, un tamaño de partícula medio de hasta aproximadamente 1,1 micrómetros y un área de superficie de hasta aproximadamente 50.000 cm²/g, gel de sílice o sílice coloidal, y aluminosilicato de metal alcalino amorfo complejo.

30 Cuando se emplean geles visualmente transparentes, son particularmente útiles un agente de pulido de sílice coloidal, tales como los comercializados bajo la marca comercial SYLOID como Syloid 72 y Syloid 74 o bajo la marca comercial SANTOCEL como Santocel 100, y complejos de aluminosilicatos de metales alcalinos, ya que tienen índices de refracción próximos a los índices de refracción de los sistemas agente gelificante -líquido (incluidos agua y/o humectante) usados comúnmente en dentífricos.

35 Muchos de los llamados materiales de pulido "insolubles en agua" son de carácter aniónico y también incluyen pequeñas cantidades de material soluble. Por tanto, el metafosfato de sodio insoluble se puede formar de cualquier manera adecuada, por ejemplo como se ilustra por Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry, volumen 9, 4^a edición, pág. 510-511. Las formas conocidas de metafosfato de sodio insoluble conocidas como sal de Madrell y sal de Kurrol son ejemplos adicionales de materiales adecuados. Estas sales de metafosfato presentan únicamente una solubilidad momentánea en agua y, por lo tanto, se denominan comúnmente metafosfatos insolubles (IMP). En su interior está presente una cantidad menor de material de fosfato soluble como impurezas, habitualmente un porcentaje pequeño tal como de hasta el 4 % en peso. La cantidad de material de fosfato soluble, que se cree que incluye un trimetafosfato de sodio soluble en el caso del metafosfato insoluble, se puede reducir o eliminar lavando con agua si se desea. Típicamente, el metafosfato de metal alcalino insoluble se emplea en forma de polvo de un tamaño de partícula tal que no más del 1 % del material sea mayor de 37 micrómetros.

45 En general, el material de pulido está presente en las composiciones sólidas o pastosas en concentraciones en peso de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 99 %. Preferentemente, está presente en cantidades de desde aproximadamente el 10 % hasta aproximadamente el 75 % en pasta de dientes, y desde aproximadamente el 70 % hasta aproximadamente el 99 % en polvo dentífrico. En pastas de dientes, cuando el material de pulido es de naturaleza silíceo, en general, está presente en una cantidad de aproximadamente el 10-30 % en peso. Típicamente, están presentes otros materiales de pulido en una cantidad de aproximadamente el 30-75 % en peso.

55 En una pasta de dientes, el vehículo líquido puede comprender agua y humectante, típicamente en una cantidad de que varía de desde aproximadamente el 10 % hasta aproximadamente el 80 % en peso de la preparación. La glicerina, el propilenglicol, el sorbitol y el polipropilenglicol son ejemplos adecuados de humectantes/excipientes. También son ventajosas las mezclas líquidas de agua, glicerina y sorbitol. En geles transparentes donde el índice de refracción es una consideración importante, se emplean preferentemente aproximadamente el 2,5-30 % p/p de agua, del 0 a aproximadamente el 70 % p/p de glicerina y aproximadamente el 20-80 % p/p de sorbitol.

60 Típicamente, la pasta de dientes, las cremas y los geles contienen un espesante o agente gelificante natural o sintético en proporciones de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10, preferentemente de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 5 % p/p. Un espesante adecuado es la hectorita sintética, una arcilla de complejo de silicato de metal alcalino de magnesio coloidal sintético disponible, por ejemplo, como Laponita (p. ej. CP, SP 2002, D) comercializada por Laporte Industries Limited. La Laponita D es, aproximadamente en peso, el 58,00 % de SiO₂, el 25,40 % de MgO, el 3,05 % de Na₂O, el 0,98 % Li₂O y algo de agua y cantidades mínimas de metales. Su densidad relativa es de 2,53 y tiene una densidad volumétrica aparente de 1,0 g/ml a una humedad del

8 %.

Otros espesantes adecuados incluyen musgo de Irlanda, carragenina iota, goma tragacanto, almidón, polivinilpirrolidona, hidroxietilpropilcelulosa, hidroxibutilmetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa (p. ej. disponible como Natrosol), carboximetilcelulosa sódica y sílice coloidal tal como Syloid molida fina (p. ej., 244). También se pueden incluir agentes solubilizantes tales como polioles humectantes tales como propilenglicol, dipropilenglicol y hexilenglicol, celosolves tales como metilcelosolve y etilcelosolve, aceites vegetales y ceras que contienen al menos 12 carbonos en una cadena lineal tal como aceite de oliva, aceite de ricino y vaselina y ésteres tales como acetato de amilo, acetato de etilo y benzoato de bencilo.

Se entenderá que, como es convencional, las preparaciones orales se venderán o distribuirán de otro modo habitualmente en envases etiquetados adecuadamente. Por tanto, un frasco de enjuague bucal tendrá una etiqueta que lo describa, en sustancia, como un enjuague bucal o colutorio y que tenga instrucciones para su uso; y una pasta de dientes, crema o gel estará habitualmente en un tubo plegable, normalmente de aluminio, plomo recubierto o plástico, u otro dispositivo de presión, bombeo o presurizado para dosificar el contenido, que tenga una etiqueta que lo describa, en sustancia, como una pasta de dientes, gel o crema dental.

Se pueden usar agentes tensioactivos orgánicos en las composiciones de la presente invención para lograr un incrementado en la acción profiláctica, ayudar a lograr una dispersión total y completa del agente activo en toda la cavidad oral, y hacer que las presentes composiciones sean cosméticamente más aceptables. El material tensioactivo orgánico es preferentemente aniónico, no iónico o anfótero en su naturaleza y preferentemente no interacciona con el agente activo. Se prefiere emplear como agente tensioactivo un material detergente que imparta a la composición propiedades detergentes y espumantes. Los ejemplos adecuados de tensioactivos aniónicos son sales solubles en agua de monosulfatos de monoglicéridos de ácidos grasos superiores, tales como la sal sódica del monoglicérido monosulfatado de ácidos grasos de aceite de coco hidrogenado, sulfatos de alquilo superiores tales como laurilsulfato de sodio, alquilarilsulfonatos tales como dodecilbencenosulfonato de sodio, alquilsulfoacetatos superiores, ésteres de ácidos grasos superiores de 1,2-dihidroxiopropanosulfonato, y las amidas de acilo alifáticas superiores sustancialmente saturadas de compuestos de ácidos aminocarboxílicos alifáticos inferiores, tales como los que tienen de 12 a 16 carbonos en el ácido graso, radicales alquilo o acilo, y similares. Los ejemplos de las últimas amidas mencionadas son N-lauroilsarcosina, y las sales sódicas, potásicas y de etanolamina de N-lauroil, N-miristoil, o N-palmitoilsarcosina que deben estar sustancialmente libres de jabón o material de ácido graso superior similar. El uso de estos compuestos de sarconita en las composiciones orales de la presente invención es particularmente ventajoso puesto que estos materiales presentan un efecto marcado prolongado en la inhibición de la formación de ácido en la cavidad oral debido a la rotura de los carbohidratos además de ejercer algo de reducción en la solubilidad del esmalte dental en soluciones ácidas. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos solubles en agua adecuados para su uso son productos de condensación de óxido de etileno con varios compuestos que contienen hidrógeno reactivo que son reactivos con ellos que tienen cadenas hidrófobas largas (por ejemplo cadenas alifáticas de aproximadamente 12 a 20 átomos de carbono), cuyos productos de condensación ("etoxámeros") contienen restos de polioxietileno hidrófilos, tales como productos de condensación de poli(óxido de etileno) con ácidos grasos, alcoholes grasos, amidas grasas, alcoholes polihídricos (por ejemplo, monoestearato de sorbitano) y óxido de polipropileno (por ejemplo, materiales plurónicos).

El agente tensioactivo está presente normalmente en una cantidad de aproximadamente el 0,1-5% en peso. Cabe señalar que el agente tensioactivo puede ayudar en la disolución del agente activo de la invención y de este modo disminuir la cantidad de humectante solubilizante necesaria.

Se pueden incorporar varios otros materiales en las preparaciones orales de la presente invención, tales como agentes blanqueantes, conservantes, siliconas, compuestos clorofílicos y/o material amoniaco tal como urea, fosfato de diamonio y mezclas de los mismos. Estos adyuvantes, si están presentes, se incorporan en las preparaciones en cantidades que no afectan de forma sustancialmente adversa a las propiedades y características deseadas.

También se puede emplear cualquier material aromatizante o edulcorante adecuado. Los ejemplos de constituyentes aromatizantes adecuados son aceites aromatizantes, por ejemplo aceite de menta verde, menta, gaulteria, sasafra, clavo, salvia, eucalipto, mejorana, canela, limón y naranja, y salicilato de metilo. Agentes edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, maltosa, sorbitol, xilitol, ciclamato de sodio, perillartina, AMP (éster metílico de aspartilfenilalanina), sacarina, y similares. De forma adecuada, los agentes de aroma y edulcorantes pueden comprender, cada uno o juntos, desde aproximadamente el 0,1% hasta el 5% más de la preparación.

La invención también proporciona una composición de ACP o ACFP como se describe anteriormente que incluye además un agente de ruptura de proteínas. En una realización, el agente de ruptura de proteínas es un blanqueante. En una realización preferente, el blanqueante es NaOCl.

Las composiciones de esta invención también se pueden incorporar en pastillas para chupar, o en goma de mascar u otros productos, por ejemplo, agitando en una base de goma caliente o recubriendo la superficie externa de una base de goma, de los que son ilustrativos jelutong, látex de goma, resinas de vinilita, etc., de forma deseable con

plastificantes o suavizantes convencionales, azúcar u otros edulcorantes o tal como glucosa, sorbitol y similares.

5 En otro aspecto, la invención proporciona composiciones que incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los complejos de ACFP y/o ACP como se describe anteriormente junto con un agente de ruptura de proteínas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones se puede seleccionar del grupo que consiste en composiciones dentales, anticariogénicas y composiciones terapéuticas. Las composiciones dentales o composiciones terapéuticas pueden estar en forma de un gel, líquido, sólido, polvo, crema o pastilla para chupar. Las composiciones terapéuticas también pueden estar en forma de comprimidos o cápsulas. En una realización, los complejos de ACP y/o ACFP son sustancialmente los únicos componentes activos remineralizantes de una composición de este tipo. Por ejemplo, se puede emplear una formulación en crema que contiene: agua; 10 glicerol; CPP-ACP; D-sorbitol; dióxido de silicón; carboximetilcelulosa de sodio (CMC-Na); propilenglicol; dióxido de titanio; xilitol; ácido fosfórico; goma guar; óxido de cinc; sacarina de sodio; p-hidroxibenzoato de etilo; óxido de magnesio; p-hidroxibenzoato de butilo y p-hidroxibenzoato de propilo.

15 La invención incluye además una formulación descrita anteriormente proporcionada junto con instrucciones para su uso para tratar o evitar una cualquiera o más de caries dental o deterioro del diente, erosión dental y fluorosis.

20 En una realización, los componentes activos de la composición consisten esencialmente en el agente de ruptura de proteínas y ACP y/o ACFP estabilizado. Sin quedar vinculado a ninguna teoría o modo de acción, se cree que el ACP y/o ACFP estabilizado y el agente de ruptura de proteínas son fundamentales para el efecto terapéutico o preventivo de las realizaciones anteriores de la invención, y por tanto las realizaciones que consisten esencialmente en esos componentes (con vehículos, excipientes y similares según se requiera) se incluyen dentro del alcance de la invención.

25 La invención también se refiere a un kit para el tratamiento o la prevención de uno o más de caries dental, fluorosis y erosión dental incluidos (a) un agente de ruptura de proteínas y (b) un complejo CPP-ACP o CPP-ACFP en un vehículo farmacéuticamente aceptable. De forma deseable, el kit incluye además instrucciones para su uso para la mineralización de una superficie dental en un paciente que necesite dicho tratamiento. En una realización, el agente y el complejo están presentes en cantidades adecuadas para el tratamiento de un paciente.

30 En otro aspecto, se proporciona un procedimiento de tratamiento o prevención de uno o más de caries dental, deterioro del diente, erosión dental y fluorosis, que comprende las etapas de administrar un agente de ruptura de proteínas a los dientes de un sujeto seguido de administrar un complejo o composición de ACP o ACFP. Se prefiere la administración tópica del complejo. El procedimiento incluye preferentemente la administración del complejo en una formulación como se describe anteriormente.

40 En otro aspecto, se proporciona el uso de un agente de ruptura de proteínas en la fabricación de una primera composición y el uso de fosfato de calcio amorfo estabilizado (ACP) o fosfato fluoruro de calcio amorfo (ACFP) en una fabricación de una segunda composición, usándose las composiciones primera y segunda para el tratamiento y/o la prevención de uno o más de caries dental, deterioro del diente, erosión dental y fluorosis, en el que la primera composición se aplica a una superficie dental antes que la segunda composición.

45 En otro aspecto, se proporciona una primera composición que incluye un agente de ruptura de proteínas y una segunda composición que incluye fosfato de calcio amorfo estabilizado (ACP) o fosfato fluoruro de calcio amorfo (ACFP) para el tratamiento y/o la prevención de uno o más de caries dental, deterioro del diente, erosión dental y fluorosis, en el que la primera composición se aplica a una superficie dental antes que la segunda composición.

50 Se entenderá claramente que, aunque esta memoria descriptiva se refiere específicamente a aplicaciones en seres humanos, la invención también es útil para propósitos veterinarios. Por tanto, en todos los aspectos de la invención es útil para animales domésticos, tales como ganado, ovejas, caballos y aves de corral; para animales de compañía tales como gatos y perros; y para animales de zoo.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos.

55 Un ejemplo de una composición mineralizante es una composición que comprende lo siguiente (en orden decreciente de proporción):

agua

60 glicerol

CPP-ACP

D-sorbitol

65 dióxido de silicón

carboximetilcelulosa de sodio (CMC-Na)

propilenglicol

5 dióxido de titanio

xilitol

10 ácido fosfórico

goma guar

óxido de cinc

15 sacarina de sodio

p-hidroxibenzoato de etilo

20 óxido de magnesio

p-hidroxibenzoato de butilo

p-hidroxibenzoato de propilo

25 Una composición de este tipo está disponible de GC corporation con el nombre Tooth Mousse™. Esta es adecuada para su uso después de un agente de ruptura de proteínas, y está en forma de una pasta o crema para facilitar su retención sobre los dientes durante un periodo adecuado. De forma alternativa, esta composición mineralizante puede contener un agente de ruptura de proteínas, tal como hipoclorito de sodio.

30 La eficacia de la invención se puede demostrar como sigue.

35 Se seleccionaron siete dientes premolares con FLE (índice de Thylstrup Fejerskov, TF = 3) de dientes extraídos por motivos ortodóncicos de pacientes sanos de 10-28 años de edad del Royal Dental Hospital de Melbourne, Australia. Se obtuvo el consentimiento informado del paciente para los dientes extraídos y se aprobó el protocolo de estudio por el Human Research Ethics Committee de la Universidad de Melbourne. Se desbridaron todos los especímenes de tejido blando adherente y se almacenaron en solución de acetato de formalina al 18 % p/v a temperatura ambiente.

40 Se limpiaron los dientes con un copa de goma giratoria y piedra pómez y se aclararon en agua desionizada doble (DDW) (Fejerskov et al., 1988). Se seccionaron las coronas anatómicas de las raíces usando una hoja diamantada enfriada con agua. Se seccionó cada corona para proporcionar un par de bloques de bloques de esmalte que contenía cada uno un FLE. Se creó una ventana de 4 x 4 mm² sobre cada lesión para situar una pieza rectangular de Parafilm® (American National Can, Chicago, Ill., EE. UU.) sobre la lesión y cubrir el esmalte circundante con esmalte de uñas (Revlon™, New York, EE. UU.). Después, se retiró cuidadosamente el Parafilm para dejar ver la ventana de la lesión del esmalte que estaba dividida en mitades como ventanas de control y de prueba. Se cubrió la ventana de control con esmalte de uñas. Las dos lesiones de cada espécimen se asignaron de forma aleatoria a uno de dos grupos de remineralización; Grupo I - tratamiento con CPP-ACFP al 5% p/v y Grupo II - tratamiento con CPP-ACFP al 5% p/v siguiendo de inmediato un preacondicionamiento con NaOCl al 5,25 %.

50 Se obtuvo CPP-ACFP de Recaldent Pty Ltd (Melbourne, Australia) y contenía CPP al 47,6% p/p, Ca²⁺ al 15,7% p/p, PO₄³⁻ al 22,9% p/p y F⁻ al 1,2% p/p. Se disolvió el CPP-ACFP en agua destilada y desionizada al 5% p/v y se ajustó hasta pH 7,0 con HCl. Para el primer grupo, se situó cada espécimen en 2 ml de CPP-ACFP al 5 % p/v en un vial de plástico de 5 ml a 37°C. Se cambió diariamente la solución de CPP-ACFP durante 10 días. Para el segundo grupo,

55 se situó cada espécimen en una solución de NaOCl al 5,25 % durante 20 min, se aclaró y después se situó en 2 ml de CPP-ACFP al 5 % p/v en un vial de plástico de 5 ml a 37°C. Se cambió diariamente la solución de CPP-ACFP durante 10 días.

60 Se usó un cromámetro (Minolta ChromaMeter CR241, Minolta, Japón) para registrar la reflectancia de la superficie. Se estableció la medida de la reflectancia de la superficie en un espacio de color de L*a*b* por la Commission de L'Eclairage en 1978, y las medidas se refieren a la percepción del color humana en tres dimensiones de color (Commission Internationale de L'Eclairage, 1978). Los valores de L* representan gradientes de color de blanco a negro, los valores de a* representan gradientes de color de verde a rojo y los valores de b* representan gradientes de color de azul a amarillo (Commission Internationale de L'Eclairage, 1978). Se usaron sólo medidas de valores de L* en este estudio con colores más blancos con una lectura mayor y colores más oscuros con una lectura menor. Para garantizar una posición reproducible de los especímenes en el cromámetro, se preparó un molde de cera para cada

muestra y se almacenó. Se secaron al aire todas las muestras con una jeringuilla triple dental durante 60 s antes de cada medida. Se redepusieron especímenes individuales diez veces tanto antes como después del tratamiento, y se registraron los valores de L* de reflectancia del color.

5 Se retiró cada espécimen de la solución mineralizante y se aclaró en DDW durante 60 s y se secó con papel secante. Se retiró con cuidado el esmalte de uñas sobre la ventana de control con acetona. Después, se separaron las ventanas de control y de prueba cortando a través de la línea media entre las ventanas. Después, se situaron las dos medias placas con las ventanas de lesión paralelas y se impregnaron en resina de metacrilato curada en frío (Paladur, Heraeus Kulzer, Alemania). Después, se seccionaron las dos medias placas de esmalte emparejadas y se
10 sometieron a microradiografía y a análisis de imagen microdensitométrica para determinar el contenido en mineral exactamente como se describe por Shen et al. (2001).

Se eligió una zona libre de defectos próxima a la línea media de cada imagen microrradiográfica de cada lesión (control y prueba) y se escaneó seis veces (Shen et al., 2001). Cada barrido comprendió 200 lecturas, tomadas de la
15 superficie del esmalte a la región del esmalte media para incluir la lesión fluorótica total. Se escaneó la lesión de prueba (tratada con CPP-ACFP) hasta exactamente la misma profundidad que la lesión de control (no tratada). Se convirtieron los valores en gris obtenidos de cada barrido al grosor equivalente de aluminio (tA) usando la imagen del penetrómetro de aluminio incluida con cada sección (Shen et al., 2001). Usando la fórmula de Angmar et al. (1963), se obtuvo el volumen en porcentaje de mineral para cada lectura como sigue: $V = (52,77(tA) - 4,54) / tS$.
20 Donde: V = volumen de mineral en porcentaje; tA= el grosor relativo de aluminio obtenido a partir del valor de gris escaneado; y tS = grosor de sección (80 µm).

A partir del perfil densitométrico de [(vol % min frente a profundidad de lesión (mm)] para cada lesión, se calcularon valores de DZ usando integración trapezoidal (Reynolds, 1997). La diferencia entre la zona bajo el perfil del esmalte
25 fluorótico no tratado en la ventana de control con el esmalte normal adyacente se designó como DZf, y la diferencia entre la zona bajo el esmalte fluorótico tratado con CPP-ACFP en la ventana de prueba y el esmalte normal adyacente se designó como DZr. Por lo tanto, el porcentaje de mineralización (%M) de la lesión fluorótica fue $(1 - DZr / (DZf) \times 100$ (Reynolds, 1997).

30 Después de la microrradiografía, se sometieron las secciones que contenían tanto FLE de control como mineralizado a un análisis de dispersión de energías de rayos X (EDAX) como se describe previamente (Reynolds, 1997).

Se compararon los valores de L* medios usando un análisis de varianza de clasificación unidireccional (ANOVA) con una comparación múltiple de Scheffe. También se compararon los valores de %M medios usando un ANOVA unidireccional. Se analizaron los valores de L* y %M medios globales usando una prueba t de Student con datos
35 pareados.

Los valores de L* de las lesiones de esmalte fluorótico no tratadas variaba desde 79,1 hasta 87,8 con un valor medio de $83,6 \pm 3,6$ (tabla 1). El tratamiento con CPP-ACFP al 5% redujo significativamente el valor de L* hasta $74,6 \pm 4,1$, lo que no fue significativamente diferente del esmalte normal (tabla 1). El preacondicionamiento con NaOCl seguido del tratamiento con CPP-ACFP al 5% redujo significativamente el valor de L* hasta $72,6 \pm 5,6$, lo que tampoco fue significativamente diferente del esmalte normal (tabla 1). No se produjo una diferencia significativa en los valores de L* para los dos grupos post-tratamiento (CPP-ACFP y NaOCl/ CPP-ACFP). La apariencia del esmalte de superficie de ambos grupos de tratamiento había mejorado sustancialmente presentando ambos la apariencia de esmalte
45 translúcido normal.

La diferencia entre el contenido en mineral de esmalte sano y el de las lesiones con pretratamiento (DZf) varió del 426 al 12.048 % vol min. mm (tabla2). No se encontró correlación entre la reflectancia de superficie (L*) y DZf del FLE no tratado. El tratamiento con CPP-ACFP al 5% solo, incrementó sustancialmente el contenido en mineral de las lesiones fluoróticas para restaurar del 32,7% al 55,5% del mineral perdido, con un valor medio del $44,8 \pm 10,6$ % (tabla 2). Una restauración del 100% del mineral perdido convertiría toda la lesión en esmalte sano con respecto al contenido en mineral. El preacondicionamiento del esmalte con NaOCl antes del tratamiento con CPP-ACFP incrementó la captación de mineral del 73,6% al 92,8% del mineral perdido con un valor medio del $80,1 \pm 7,8$ % (tabla 2). La dispersión de energías por rayos X de la lesión mineralizada de las secciones transversales confirmó que el mineral formado por tratamiento con CPP-ACFP era apatita que contenía fluoruro.
55

Tabla 1

60 Efecto de CPP-ACFP al 5% con y sin preacondicionamiento sobre la reflectancia de color (L*) de especímenes de esmalte fluorótico

Especímenes de esmalte fluorótico	Valores de reflectancia de color (L*)							Media general
	I	II	III	IV	V	VI	VII	

Pretratamiento	82,9 ± 0,9 ^a	85,5 ± 1,8	84,3 ± 0,4	82,5 ± 1,3	87,8 ± 0,6	79,1 ± 0,9	83,0 ± 0,6	83,6 ± 3,6
Post-tratamiento con CPP-ACFP	74,1 ± 0,7 ^b	72,0 ± 0,5	78,2 ± 0,4	76,1 ± 0,7	79,5 ± 0,8	69,7 ± 1,5	72,3 ± 1,7	74,6 ± 4,1 ^c
Post-tratamiento con NaOCl/ CPP-ACFP	69,2 ± 1,0 ^b	72,3 ± 1,1	76,9 ± 1,4	72,2 ± 1,3	78,5 ± 1,4	61,6 ± 1,2	77,4 ± 1,0	72,6 ± 5,6 ^c

a n = 20

b n = 10

c El valor medio de post-tratamiento es significativamente diferente del valor medio pretratamiento (prueba t de Student pareada, p < 0,01) pero no significativamente diferente del esmalte normal 71,6 ± 3,1.

Tabla 2

5 Efecto de CPP-ACFP al 5% con y sin preacondicionamiento con NaOCl sobre el contenido en mineral de esmalte fluorótico

Tratamiento		Especímenes							Media general
		I	II	III	IV	V	VI	VII	
Lesión fluorótica natural	ΔZf	2331 ± 352 ^a	- ^c	3869 ± 70 ^a	2468 ± 323 ^a	2706 ± 103 ^a	3238 ± 194 ^a	- ^c	
	(% vol min. μm)								
	ΔZr	1203 ± 241 ^a	- ^c	1723 ± 262 ^a	1618 ± 427 ^a	1270 ± 596 ^a	2178 ± 216 ^a	- ^c	
	(% vol min. μm)								
	%M ^b	48,4	- ^c	55,5	34,5	53,1	32,7	- ^c	44,8 ± 10,6
Lesión fluorótica natural	ΔZf	2199 ± 266 ^a	6501 ± 441 ^a	- ^c	1181 ± 261 ^a	2461 ± 213 ^a	- ^c	12048 ± 512 ^a	
	(% vol min. μm)								
	ΔZr	581 ± 230 ^a	471 ± 285 ^a	- ^c	211 ± 137 ^a	552 ± 203 ^a	- ^c	3087 ± 723 ^a	
	(% vol min. μm)								
	%M ^b	73,6	92,8	- ^c	82,1	77,6	- ^c	74,4	80,1 ± 7,8

a Media ± DE (n=6)

b %M = porcentaje de mineralización (1- $\Delta Zr/\Delta Zf$) x 100

c Pérdida de muestra durante el procesado

10 En la clínica, como ejemplo de un paciente que necesita el tratamiento de remineralización del esmalte de los dientes, se trata el paciente usando las etapas de:

1. Pretratar una zona de esmalte que necesita tratamiento, aislar usando un dique de goma con una solución al 5% de NaOCl durante 5 minutos.

15 2. Retirar la solución de NaOCl de la zona con un bastoncillo de algodón húmedo.

3. Aplicar la crema tópica que contiene CPP-ACP Tooth Mousse™ (GC Corporation) a la superficie del esmalte inmediatamente durante 5 minutos y después el paciente se aplica además la Tooth Mousse™ durante la noche sin aclarar durante cuatro semanas.

20 Se entenderá que la invención divulgada y definida en la memoria descriptiva se extiende a todas las combinaciones alternativas de dos o más de las características individuales mencionadas o evidentes del texto o los dibujos. Todas estas combinaciones diferentes constituyen varios aspectos alternativos de la invención.

25 Referencias

- Angmar B, Carlstrom D, Glas JE (1963). Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. J Ultrastruct Res 8:12-23.
- Aoba T, Fejerskov O (2002). Dental fluorosis: chemistry and biology. Crit Rev Oral Biol Med 13:155-70.

- Black G, McKay F (1916). Mottled teeth - An endemic developmental imperfection of the teeth heretofore unknown in the literature of dentistry. *Dent Cosmos* 58:129-156.
- 5 • Commision Internationale de L'Eclairge (1978). Recommendations on uniform colour spaces, colour difference equations and psychometric colour terms. Paris: Bureau Centrale de la DIE Supl. 2:15.
- Den Besten PK, Thariani H (1992). Biological mechanisms of fluorosis and level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to fluorosis. *J Dent Res* 71:1238-43.
- 10 • Fejerskov O, Baelum V, Manji F, Moller I (1988). Dental Fluorosis - A handbook for health workers Copenhagen: Munksgard.
- Fejerskov O, Manji F, Baelum V (1990). The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. *J Dent Res* 69 Spec N.º:692-700; análisis 721.
- 15 • Fejerskov O, Yanagisawa T, Tohda H, Larsen MJ, Josephsen K, Mosha HJ (1991). Posteruptive changes in human dental fluorosis--a histological and ultrastructural study. *Proc Finn Dent Soc* 87:607-19.
- 20 • Fejerskov O, Ekstrand J, Burt B (1996). Fluoride in dentistry. 2ª ed. Copenhagen: Munksgard.
- Giambro NJ, Prostack K, Den Besten PK (1995). Characterization of fluorosed human enamel by color reflectance, ultrastructure, and elemental composition. *Caries Res* 29:251-7.
- 25 • Reynolds EC (1997). Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 76:1587-95.
- Reynolds EC (1998). Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 18:8-16.
- 30 • Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD (2003). Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 82:206-11.
- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 80:2066-70.
- 35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un agente de ruptura de proteínas en la fabricación de una primera composición y el uso de fosfato de calcio amorfo estabilizado (ACP) o fosfato fluoruro de calcio amorfo (ACFP) en la fabricación de una segunda composición, usándose las composiciones primera y segunda para mineralizar un esmalte dental, en el que la primera composición se aplica al esmalte dental antes que la segunda composición.
2. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el esmalte dental incluye una lesión.
- 10 3. Un uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la lesión está provocada por caries dental, erosión dental o fluorosis.
4. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ACP y/o ACFP es fosfopéptido-estabilizado.
- 15 5. Un uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el fosfopéptido es un fosfopéptido de caseína.
6. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ACP o ACFP está en fase básica.
- 20 7. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el agente de ruptura de proteínas se selecciona de uno o más del grupo que consiste en un blanqueante, un detergente, un agente caotrópico, una proteasa y una mezcla de proteasas.
8. Un uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el blanqueante es hipoclorito de sodio o un blanqueante de peróxido de carbamida.
- 25 9. Uso de un agente de ruptura de proteínas en la fabricación de una primera composición y el uso de fosfato de calcio amorfo estabilizado (ACP) o fosfato fluoruro de calcio amorfo (ACFP) en una fabricación de una segunda composición, usándose las composiciones primera y segunda para el tratamiento y/o la prevención de uno o más de caries dental, deterioro del diente, erosión dental y fluorosis, en el que la primera composición se aplica a una superficie dental antes que la segunda composición.
- 30 10. Un kit para el tratamiento o la prevención de uno o más de caries dental, fluorosis y erosión dental incluidos (a) un agente de ruptura de proteínas y (b) fosfato de calcio amorfo estabilizado (ACP) y/o fosfato fluoruro de calcio amorfo estabilizado (ACFP) en un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 11. Un kit de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el ACP y/o ACFP es fosfopéptido estabilizado.
12. Un kit de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el fosfopéptido es un fosfopéptido de caseína.
- 40 13. Un kit de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el ACP o ACFP está en fase básica.
14. Un kit de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el agente de ruptura de proteínas se selecciona de uno o más del grupo que consiste en un blanqueante, un detergente, un agente caotrópico, una proteasa y una mezcla de proteasas.
- 45 15. Un kit de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el blanqueante es hipoclorito de sodio o un blanqueante de peróxido de carbamida.