

**PRODUCTO PARA CUIDADO DENTAL PERSONAL PARA PREVENIR LA
DESMINERALIZACIÓN**

La presente invención proporciona nuevos productos para cuidado dental que comprenden péptidos de autoensamblaje que son capaces de someterse al autoensamble en un cierto pH que son útiles en el cuidado dental, en particular, útiles para reducir o prevenir la desmineralización de los dientes de un sujeto, en particular, para reducir o prevenir la desmineralización adicional de los dientes de un sujeto. El producto para cuidado dental comprende péptidos de autoensamblaje, en particular, comprende péptidos de autoensamblaje que comprenden la secuencia de SEQ ID NO: 21, que son capaces de someterse al autoensamble en un pH abajo de 7.5, en donde los péptidos de autoensamblaje están esencialmente presentes en el producto para cuidado dental en forma ensamblada, y una base farmacéuticamente aceptable. El producto para cuidado dental es un producto esencialmente sólido seleccionado del grupo que consiste de goma de mascar, masticación blanda, caramelo, goma de gelatina, dulce masticable, juguete para masticar, malvavisco, pastilla o tableta. De preferencia, es un producto masticable. El producto para cuidado dental no es abrasivo. El producto para cuidado dental es útil para reducir o prevenir (adicionalmente) la desmineralización de una superficie del diente de un sujeto con dientes desmineralizados, por ejemplo, o un sujeto con

xerostomía, hiposalivación, bruxismo, enfermedad de reflujo gastroesofágico, hipersensibilidad de la dentina y/o erosión del diente. De preferencia, en estas enfermedades, una capa de péptidos de autoensamblaje se forma en la superficie del diente
5 que puede ser erosionada o desmineralizada, es decir, que actúa como una capa sacrificial antes de que el diente por sí mismo se pueda dañar. De preferencia, el producto para cuidado dental de la invención también es útil para limpiar la superficie del diente. Los productos de la invención son útiles
10 para animales y humanos. La invención también proporciona un proceso para preparar los productos para cuidado dental de la invención. La invención permite el tratamiento no dirigido de una pluralidad de dientes, y es independiente de la diagnosis de caries.

15 La desmineralización de los dientes es la remoción de minerales (principalmente calcio y fosfato) de cualquiera de los tejidos duros: esmalte, dentina y cemento. Esta comienza en la superficie, y puede progresar en desarrollo de cavidades a menos que se detenga o se revierta mediante remineralización.

20 La desmineralización es causada por bacterias que excretan ácidos como un producto de su metabolismo de carbohidratos. Al reducir la frecuencia de captación de carbohidratos en la dieta de un individuo, se puede incrementar la remineralización y disminuir la desmineralización. Una
25 pérdida de la estructura de esmalte el diente y la formación de

cavidad puede ocurrir si la fase de desmineralización continúa sobrepasando la fase de remineralización durante un período largo de tiempo. Esta alteración del equilibrio de remineralización/desmineralización causado por la presencia de
5 carbohidratos fermentables continúa hasta que la saliva ha retornado a un pH normal y tiene suficiente tiempo para penetrar y neutralizar los ácidos dentro de cualquier biopelícula cariogénica presente (Arathi Rao, y colaboradores 2011. The Role of Remineralizing Agents in dentistry: Una
10 revisión, Volumen 32, Número 6; Wikipedia on Remineralisation_of_teeth#Treatment_and_prevention).

Además de la invasión bacteriana, el esmalte también es susceptible a otras fuerzas destructivas. El bruxismo, también conocido como apretamiento de o rechinamiento de los
15 dientes, destruye el esmalte muy rápidamente. La velocidad de desgaste del esmalte, llamada frotación, es de 8 micrómetros en un año de los factores normales. Una mala concepción común es que el esmalte se desgasta principalmente de la masticación, pero de manera real los dientes raramente se tocan durante la
20 masticación normal. Además, el contacto del diente normal es compensado fisiológicamente por los ligamentos periodontales y el arreglo de la oclusión dental. Las fuerzas realmente destructivas son los movimientos parafuncionales, como se encuentran en el bruxismo, que pueden causar daño irreversible
25 al esmalte.

Otros procesos no bacterianos de destrucción de esmalte incluyen la abrasión (que involucra elementos extraños, tales como cepillos de dientes), la erosión (que involucra procesos químicos, tal como la disolución por bebidas no
5 alcohólicas o el limón y otros jugos) (Larsen MJ y colaboradores 1999. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res. 33 (1): 81-87), y posiblemente la abfracción (que involucra fuerzas compresivas y
10 de tensión). La enfermedad de reflujo gastroesofágico también puede conducir a la pérdida de esmalte erosiva, ya que el ácido hace reflujo hacia arriba del esófago y en la boca, que ocurre la mayoría durante el sueño en la noche (Wikipedia on Tooth_enamel#Enamel_loss).

15 La erosión con ácido es un tipo de desgaste del diente. Esta se define como la pérdida irreversible de la estructura del diente debido a la disolución química por ácidos no de origen bacteriano. La erosión dental es la enfermedad crónica mucho más común de niños en edades de 5-17, aunque es
20 solo de manera relativa recientemente que se ha reconocido como un problema de salud dental. Generalmente hay ignorancia difundida de los efectos perjudiciales de erosión con ácido; éste es particularmente el caso con la erosión debido a los jugos de fruta debido a que tienden ser vistos como saludables.
25 La erosión con ácido comienza en el esmalte, ocasionando que

llegue a ser delgado, y pueda progresar en la dentina, dando a los dientes una apariencia amarilla opaca y que conduce a la hipersensibilidad de la dentina.

La causa más común de erosión es mediante alimentos y
5 bebidas ácidas. En general, los alimentos y bebidas con un pH por abajo de 5.0-5.7 se han conocido que activan los efectos de erosión dental. Numerosos reportes clínicos y de laboratorio enlazan la erosión al consumo excesivo de bebidas. Aquellos que creen que representan un riesgo son las bebidas no alcohólicas,
10 algunas bebidas de alcohol y de fruta, jugos de fruta tal como jugo de naranja (que contiene ácido cítrico) y bebidas carbonatadas tales como cola (en las cuales el ácido carbónico no es la causa de erosión, sino el ácido cítrico y fosfórico). Adicionalmente, el vino se ha mostrado que erosiona los
15 dientes, con el pH del vino tan bajo como 3.0-3.8. Otras fuentes posibles de ácidos erosivos son de la exposición al agua de alberca de natación clorada, y la regurgitación de ácidos gástricos. En niños con enfermedades crónicas, el uso de medicinas con componentes ácidos es un factor de riesgo
20 también. La erosión dental también se ha registrado en la clasificación fósil y fue probablemente causada por el consumo de frutas o plantas ácidas. (Wikipedia on Acid Erosion).

Para prevenir la desmineralización en la boca, es importante para un individuo asegurar que tenga una dieta bien
25 balanceada, que incluye alimentos que contienen calcio y

alimentos que son bajos en ácidos y azúcares. El fluoruro también se cree que previene la desmineralización, ya que la incorporación de fluoruro en el esmalte conduce a hidroxapatita fluorada que tiene una resistencia mejorada a los ácidos. El fluoruro se puede administrar en productos para cuidado dental tales como pasta de dientes, o en alimentos o bebidas, por ejemplo, en algunas regiones, se adiciona al agua para beber.

En un sujeto saludable o sano, hay un equilibrio de desmineralización y remineralización que mantiene la salud de los dientes. Por lo tanto hay muchas estrategias para contrarrestar la desmineralización que se basan en incrementar la remineralización de los dientes.

Hasta la fecha, la remineralización del diente se logra principalmente por el suministro de ya sea iones de fluoruro o calcio y fosfato sobre las lesiones o cavidades del diente (Arifa y colaboradores, Int J Clin Pediatr Dent 12(2): 139-144). Los iones de calcio y fosfato usualmente se incluyen en pastas de dientes, que también contienen, por ejemplo abrasivos, fluoruros, surfactantes y otros agentes de remineralización. Los iones de calcio y fosfato se pueden utilizar en varias formas cristalinas, por ejemplo, como materiales a base de hidroxapatita, o como fosfato de calcio amorfo, tal como en algunos materiales a base de fosfopéptido de caseína. Por ejemplo, el documento WO 2013/050432 describe

tales agentes de remineralización y opciones para poner en contacto la mucosa con estos agentes. El documento WO 2009/100276 enseña un hilo dental asociado con un aminoácido básico en forma libre o de sal, por ejemplo, para promover la
5 remineralización.

Más recientemente, se ha descrito un procedimiento alternativo a la remineralización del diente, que se basa en péptidos de autoensamblaje racionalmente diseñados cortos. El documento WO 2004/007532 describe péptidos que son capaces de
10 formar estructuras tridimensionales, para de esta manera promover la nucleación del fosfato de calcio de-novo. Estos péptidos artificiales se ensamblan para formar ensambles de beta-lámina similar a cinta. Los ensambles de péptido pueden cambiar de un fluido a un estado de gel más rígido, nemático en
15 respuesta a activadores químicos o físicos. Los péptidos se diseñaron para formar ensambles en respuesta a cierto pH y/o intensidad iónica en los siguientes órdenes jerárquicos: cintas, listones, fibrillas y fibras. Aggelli y colaboradores (2003, J. Am. Chem. Soc. 125, 9619-9628) analizan
20 el pH como un activador del autoensamble de beta-lámina del péptido.

Varios de otros péptidos de autoensamblaje se han descrito en la técnica previa. Por ejemplo, el documento WO 2010/041636 A1 describe un agente de oclusión de tejido de
25 péptido bioadsorbible que contiene un péptido artificial que

tiene 8-200 residuos de aminoácido con los aminoácidos hidrofílicos y aminoácidos hidrofóbicos alternadamente unidos, que se autoensamblan en una estructura beta en el pH fisiológico. Los péptidos de autoensamblaje con residuos o
5 estiramientos hidrofóbicos e hidrofílicos alternantes que interactúan con la matriz extracelular también son descritos en el documento WO 2008/113030 A2. El documento WO 2010/103887 A1 describe péptidos de autoensamblaje, que comprenden aminoácidos básicos, hidrofóbicos y ácidos de una secuencia primaria
10 específica y geles de péptido de los mismos que tienen alta concentración.

Otra solicitud, WO 2007/000979 A1, describe péptidos de autoensamblaje con aminoácidos polares y no polares. Los péptidos son capaces de formar una estructura de beta-lámina en
15 la cual los residuos de aminoácido no polares se arreglan en un lado de la estructura en la forma ensamblada. Los péptidos de autoensamblaje anfifílicos para el uso como membranas macroscópicas estables, que se utilizan en aplicaciones de biomaterial, tal como el suministro de fármaco de difusión
20 lenta, se describen en el documento US 6,548,630.

El documento EP 2 327 428 A2 se refiere a una composición farmacéutica que comprende nanofibras de péptido de autoensamblaje, que son complementarias entre sí, y por lo menos una célula para reparar el tejido dañado, tal como el
25 tejido después de un infarto miocardiaco.

El uso de péptidos de autoensamblaje para el suministro de agentes bioactivos se ha descrito, por ejemplo en los documentos US 2008/199431 A1 y en WO 2009/026729 A1. El documento WO 2006/073889 A2 se relaciona a una composición en la cual PDGF humano se enlaza directamente a péptidos que se ensamblan en un gel que libera lentamente PDGF *in vivo*. El documento WO 2006/047315 A2 propone la unión de agentes terapéuticos a péptidos de autoensamblaje utilizando enlaces de biotina/estreptavidina.

10 Kirkham y colaboradores y Kind y colaboradores se relacionan a estructuras de péptido de autoensamblaje que promueven la remineralización del esmalte (Kirkham y colaboradores 2007, Dent. Res. 86(5), 426-430; Kind y colaboradores 2017, Journal of Dental Research 1-8, doi10.1177/0022034517698419).

Para conducir efectivamente a la remineralización, por ejemplo, para tratar lesiones del diente, en particular, lesiones de sub-superficie (es decir, una lesión de caries temprana o puntos blancos), el péptido de autoensamblaje necesita estar en una forma monomérica afuera de la lesión del diente para permitir la difusión en la lesión, y necesita cambiar en una forma ensamblada una vez adentro de la lesión del diente. Si el péptido se ensambla afuera de la lesión, éste no puede facilitar la remineralización dentro de la lesión, que tiene un bajo pH y alta intensidad iónica, ya que las

estructuras tridimensionales formadas son muy grandes para difundirse a través de los poros. Por lo tanto, con este fin, el ensamble del péptido debe ser prevenido hasta que alcanza su sitio de acción.

5 Por ejemplo, los documentos WO 2014/027012 A1 y EP 2 698 162 A1 proporcionan soluciones liofilizadas que comprenden péptidos de autoensamblaje monoméricos para el tratamiento dirigido de lesiones del diente. Puesto que la solución que comprende los péptidos monoméricos tiene que ser aplicada
10 directamente sobre la superficie de la lesión de caries temprana, la aplicación se restringe a usuarios profesionales, por ejemplo dentistas. Además, el preacondicionamiento del diente que es tratado es muy complejo, incluyendo la limpieza profesional del diente con el fin de remover la placa, los
15 restos de alimento y manchas así como el tratamiento con hipoclorito de sodio y ácido fosfórico, el enjuague subsecuente con agua y el secado de la superficie del diente. Brunton y colaboradores, 2013, Br. Dent. J. 215(4): E6, doi: 10.1038/sj.bdj.2013.741 confirma que, antes del tratamiento, la
20 lesión se limpió con una pasta de profilaxis, se trató con solución de grabado durante 20 segundos para abrir los poros de la lesión de sub-superficie y subsecuentemente se lavó y se secó. El péptido de autoensamblaje liofilizado en forma monomérica se rehidrató con agua estéril y una sola gota de la
25 solución resultante inmediatamente se aplicó directamente a la

superficie de la lesión. El control de humedad se aseguró hasta que la solución P11-4 no fue visible por más tiempo (aproximadamente dos minutos). A los sujetos se les pidió no cepillar sus dientes en el cuadrante tratado hasta 4 días después del tratamiento. Schlee y colaboradores, 2014, Stomatologie 111:175-181 confirman la necesidad para el control de pre-tratamiento y humedad.

Debido al tratamiento complicado, hay un costo sustancial para el paciente y/o el sistema de salud involucrado. Además, hay sujetos que, por razones psicológicas, evitan o retardan visitas al profesional dental hasta que las lesiones de caries han progresado tan ampliamente que el dentista puede preferir la perforación y llenada sobre el procedimiento de tratamiento utilizando péptidos de autoensamblaje.

Los documentos WO 2017/202940 A1 o WO 2017/202943 A1 proporcionan productos para cuidado dental personal que se pueden emplear por el sujeto sin la necesidad para diagnóstico de caries o intervención de un profesional dental para el uso en el tratamiento o prevención de una lesión del diente y/o en la remineralización de una superficie del diente que comprende los péptidos de autoensamblaje en forma monomérica, en donde se pone énfasis que es esencial que la forma monomérica se mantenga después de la aplicación a la boca del sujeto por tanto tiempo como sea posible.

Los péptidos de autoensamblaje en forma ensamblada (también designados péptidos de autoensamblaje poliméricos) también se pueden aplicar a las superficies del diente. Se ha mostrado en modelos de ciclaje del pH que el péptido de autoensamblaje P11-4 (Curodont Protect, Credentis, Suiza) conduce a una mayor mineralización incrementada (Soares y colaboradores, 2017. Journal of Clinical and Diagnostic Research 11(4): ZC136-ZC141). Una matriz de péptido de autoensamblaje además se encontró que previene las lesiones de caries artificial y conduce a la remineralización del esmalte alrededor de los brackets de ortodoncia (Jablonsky-Momeni y colaboradores, 2019. Randomised in situ clinical trial investigating self-assembling peptide matrix P11-4 in the prevention of artificial caries lesions. Scientific Reports 9:269). Un gel que comprende el péptido de autoensamblaje ensamblado (Curodont D'Senz, credentis AG, Windisch, CH) también bloqueó eficientemente los túbulos de la dentina y de esta manera se puede utilizar para el tratamiento de la hipersensibilidad de la dentina (Schlee y colaboradores, Journal of Periodontology 89(6):653-660).

Los documentos EP 2 853 256 A1 y WO 2015/044268 A1 enseñan que los hidrogeles de péptidos de autoensamblaje, es decir, productos para cuidado dental que comprenden péptidos de autoensamblaje ensamblados (polimérico), y que además comprenden partículas minerales de tamaños específicos así como

fluoróforos, que pueden ser aminoácidos del péptido de autoensamblaje, son útiles para el blanqueamiento del diente, en donde los péptidos de autoensamblaje y las partículas minerales tienen un efecto sinergista.

5 En vista del estado de la técnica, los inventores resolvieron el problema de proporcionar un producto para cuidado dental para el uso en el tratamiento de la desmineralización del diente, o para el uso en reducir o prevenir la desmineralización adicional de los dientes en un
10 sujeto con los dientes desmineralizados. Ventajosamente, el producto para cuidado dental de la invención es fácil de administrar, de preferencia para la venta en el mostrador o al por menor, y se puede aplicar por el paciente o consumidor con el fin de prevenir la desmineralización de los dientes.

15 Este problema se resuelve por la presente invención, en particular, por el contenido reclamado.

 En un primer aspecto, la presente invención proporciona un producto para cuidado dental adecuado para prevenir la desmineralización adicional de los dientes de un
20 sujeto que tiene dientes desmineralizados, que comprende

 (i) péptidos de auto-ensamblaje, de preferencia, que comprenden la secuencia de SEQ ID NO: 3, que son capaces de someterse al autoensamble en un pH abajo de 7.5, en donde los péptidos de autoensamblaje están esencialmente presentes en el
25 producto para cuidado dental en forma ensamblada (es decir, por

lo menos 80%, de preferencia por lo menos 90%, más de preferencia por lo menos 95% o, mucho más de preferencia, por lo menos 99%) y

(ii) una base farmacéuticamente aceptable,

5 en donde el producto para cuidado dental es un producto esencialmente sólido seleccionado del grupo que consiste de goma para mascar, masticación blanda, caramelo, goma de gelatina, dulce masticable, juguete para mascar, malvavisco, pastilla o tableta,
10 y en donde el producto para cuidado dental no es abrasivo.

Los inventores han encontrado que la administración, de preferencia, por la masticación del producto para cuidado dental de la invención conduce a la formación de una capa o película protectora sobre los dientes del sujeto al cual se
15 administra. La capa protectora luego puede prevenir desmineralización adicional y protege de los ataques con ácidos de los dientes. Esto es de relevancia particular bajo condiciones donde se reduce la remineralización de los dientes, y de esta manera, las estrategias de remineralización, tal como
20 la administración de péptidos de autoensamblaje monoméricos, son menos eficientes que bajo condiciones normales (por ejemplo, en un sujeto saludable) o no factibles en absoluto.

De preferencia, el producto para cuidado dental es un producto masticable, es decir, un producto que es adecuado para
25 masticación o que se puede masticar. En particular, de

preferencia, si el producto para cuidado dental es una pastilla o tableta, esta es una pastilla masticable (por ejemplo, de acuerdo con Umashankar y colaboradores 2016. International Research Journal of Pharmacy. 7. 9-16), o una tableta para masticar (por ejemplo, en la base de composiciones descritas en Dewsbury y colaboradores BMC Vet Res. 2019; 15(1):394; Fasoulas y colaboradores 2019. Heliyon 5(7):e02064.; Jagdale y colaboradores 2010. Int. J. Res. Pharm. Sci. 1(3), 282-289, 2010). Esta puede ser, por ejemplo, un producto blando o suave.

El producto para cuidado dental típicamente comprende uno o más ingredientes típicos del producto para cuidado dental respectivo, por ejemplo bases farmacéuticamente aceptables típicas que tienen un pH de menor que 7.5, en donde se pueden incorporar los péptidos de autoensamblaje.

Los péptidos de autoensamblaje en forma ensamblada de preferencia se incrustan en la base farmacéuticamente aceptable, de preferencia, por ejemplo, incrustados en una base de goma. La base de goma puede comprender polímeros (o elastómeros), plastificantes y/o resinas, por ejemplo, que son ingredientes típicos si el producto es una goma para mascar.

Por ejemplo, el elastómero puede ser cualquier polímero insoluble en agua conocido en la técnica e incluye aquellos polímeros de goma utilizados para goma para mascar y chicle e globo listado en in Food and Drug Administration, CFR, Título 21, Sección 172,615, como "Masticatory Substances of

Natural Vegetable Origin" y "Masticatory Substances, Synthetic".

Por ejemplo, la base de goma puede comprender

a) ingredientes sintéticos seleccionados del grupo
 5 que consiste de caucho de butadieno-estireno, copolímero de
 isobutileno-isopreno (caucho de butilo), parafina (producida
 por la vía del proceso de Fischer-Tropsch), cera de petróleo,
 cera de petróleo sintética, poliisobutileno acetato de
 polivinilo, poliisobutadieno y copolímeros de isobutileno-
 10 isopreno, elastómeros de bajo peso molecular tal como
 polibuteno, polibutadieno y poliisobutileno, elastómeros
 poliméricos de vinilo tal como acetato de polivinilo,
 polietileno, elastómeros copoliméricos de vinilo tal como
 acetato de vinilo/laurato de vinilo, acetato de
 15 vinilo/estearato de vinilo, etileno/acetato de vinilo, alcohol
 polivinílico o mezclas de los mismos,

y/o

b) ingredientes naturales seleccionados del grupo que
 consiste de

- 20 - chicle, chiquibul, goma de corona, gutta hang kang,
 masaranduba balata, chocolate masaranduba, níspero, rosdinha,
 chicle Venezolano (todos derivados de Sapotaceae),
 - jelutong, leche saspi (sorva), pendare, perillo (todos
 derivados de Apocynaceae),
 25 - leche de vaca, niger gutta, tuno (tuno) (todos derivados

de Moraceae),

- chilte y caucho natural (todos derivados de Euphorbiaceae).

El chicle es la base de goma más comúnmente utilizada si se desea una base de goma natural, por ejemplo, si los ingredientes sintéticos tales como remanentes de aceites minerales, etc. van a ser evitados. Los ingredientes naturales tienen la ventaja de que son biodegradables, lo que es particularmente deseable para productos que son típicamente escupidos después de la masticación.

Los ingredientes sintéticos son más fáciles comercialmente accesibles, y son típicamente más baratos.

Las gomas para mascar de la invención pueden ser gomas para mascar duras o blandas. Las gomas para mascar blandas que contienen péptidos de autoensamblaje se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con Shivang A Chaudhary y colaboradores, Int J Pharm Investig. 2012 Jul-Sep; 2(3); 123-133; Abolfazl Aslani y colaboradores, Adv Biomed Res. 2013, 2:72; Zumbe y colaboradores, 2001, British Journal of Nutrition 85, Suppl. 1, S31-S45 (en particular, la Fig. 8); los documentos WO2014/152952A1; WO2006/127559A2 o WO2007/143989A1. Las gomas para mascar duras, por ejemplo, pueden comprender, base de goma, xilitol, péptido de autoensamblaje, por ejemplo, P11-4 (por ejemplo, aproximadamente 100 µg/goma para mascar)

bicarbonato de sodio, ácido tartárico, aroma, por ejemplo, aroma de limón.

La goma para mascar puede ser una goma prensada, una goma rellena en el centro (con el péptido de autoensamblaje ensamblado en el centro o en el recubrimiento, de preferencia, en el centro) o una goma normal. De preferencia, el péptido de autoensamblaje ensamblado se incrusta en la matriz del producto para cuidado dental, es decir, para una goma para mascar, en la base de goma, en donde la incrustación homogénea tiene la ventaja de que el péptido de autoensamblaje tiene contacto continuo con los dientes de la persona en la masticación durante un largo plazo.

Alternativamente, el producto para cuidado dental de la invención puede comprender gelatina, albumen, lecitina, una matriz de maltitol/sorbitol, pectina o almidón como la base farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, para masticaciones blandas, gomas de gelatina, malvaviscos o juguetes para mascar. Por ejemplo, los malvaviscos de la invención típicamente comprenden albumen y/o gelatina, un edulcorante, agua, péptidos de autoensamblaje y aire. Las masticaciones blandas de la invención típicamente comprenden una matriz de maltitol/sorbitol y péptidos de autoensamblaje.

Las bases farmacéuticamente aceptables para, por ejemplo, una goma de gelatina de la invención, pueden comprender, por ejemplo, gelatina y/o pectina, agua, un azúcar

o un sustituto de azúcar, por ejemplo, en la forma de un jarabe, ácido tartárico y/o ácido cítrico. Las gomas de gelatina de la invención comprenden péptidos de autoensamblaje ensamblados, en donde típicamente, el péptido de autoensamblaje se adiciona como una pre-mezcla ensamblada. Las gomas de gelatina de la invención también se pueden recubrir con péptidos de autoensamblaje. Las gomas de gelatina sin azúcar ejemplares y su preparación se enseñan en Zumbé y colaboradores, 2001, British Journal of Nutrition 85, Suppl. 1, S31-S45, en particular, en la Tabla 13 o Tabla 14, en donde los péptidos de autoensamblaje se adicionan en estado polimérico, o los péptidos de autoensamblaje se adicionan en cualquier forma, por ejemplo, parcialmente o completamente monoméricos, y, como el pH en la mezcla con la base está abajo de 7.5, esto conduce al autoensamblaje. Si el producto para cuidado dental comprende gelatina, éste puede ser gelatina tipo A o B. El pH no es bajado a un grado que previene la gelificación de la gelatina.

El sujeto puede ser un sujeto humano, pero también puede ser un sujeto animal, por ejemplo, mascota, tal como perro, caballo o gato. Los juguetes para mascar (o biscochos de animal masticables) pueden ser formas particularmente adecuadas del producto para cuidado dental adecuado para el uso en animales, por ejemplo, para mascotas tales como para gatos, perros o caballos, en particular, perros. Los juguetes para mascar pueden ser recubiertos con los péptidos de

autoensamblaje ensamblados y/o, de preferencia, ellos los incorporan. Tales modalidades proporcionan acceso al medio de tratamiento y prevención para la desmineralización del diente para animales en bajo costo y esfuerzo. Los juguetes para
5 mascar de la invención pueden comprender gelatina o pectina, y péptidos de autoensamblaje, de manera típica junto con un sabor que es disfrutado por el animal.

Los caramelos comprenden una emulsión de grasa en un sistema acuoso. Un caramelo de péptido de autoensamblaje de la
10 invención típicamente comprende, además del péptido de autoensamblaje, un azúcar o sustituto de azúcar, por ejemplo maltitol, sorbitol, xilitol, lactitol y/o isomalta, opcionalmente, por lo menos parcialmente en la forma de un jarabe tal como un jarabe de maltitol, un aceite de planta, por
15 ejemplo aceite de coco, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de oliva y/o aceite de cacahuete, un agente gelificante tal como gelatina y/o pectina, y, opcionalmente, vitaminas, antioxidantes, por ejemplo ácido cítrico y/o ácido ascórbico, sabores, colorantes, edulcorantes,
20 por ejemplo acesulfame K, aspartame y/o sucralosa. Los caramelos sin azúcar ejemplares y su preparación se enseñan en Zumbé y colaboradores, 2001, British Journal of Nutrition 85, Suppl. 1, S31-S45, en particular, en la Tabla 12, en donde los péptidos de autoensamblaje se adicionan y el pH se adapta para
25 asegurar su estado ensamblado, o los péptidos de autoensamblaje

se adicionan en estado ensamblado.

Una pastilla masticable o tableta de masticación de péptido de la invención además puede comprender, adicionalmente al péptido de autoensamblaje en estado ensamblado, un azúcar o
5 sustituto de azúcar, por ejemplo maltitol, sorbitol, xilitol, lactitol y/o isomalta, y opcionalmente, ingredientes tal como un antioxidante, por ejemplo ácido cítrico y/o ácido ascórbico, sabor, colorantes y edulcorantes, por ejemplo aspartame, acesulfame K y sucralosa.

10 La concentración de péptido en el producto para cuidado dental de la invención puede estar entre 0.1 a 5000 mg de péptido/kg de producto a granel, por ejemplo, 0.1-1000 mg de péptido/kg de producto a granel, 0.1-500 mg de péptido/kg de producto a granel, de preferencia 0.1 a 100 mg de péptido/kg
15 de producto a granel, 0.5-50 mg de péptido/kg de producto a granel, 1-20 mg de péptido/kg de producto a granel o, más de preferencia, 5-15 mg de péptido/kg de producto a granel o de 8-10 mg de péptido/kg de producto a granel. Los ejemplos enseguida muestran que tales concentraciones permiten la
20 reducción o prevención de la desmineralización del diente.

Los péptidos de autoensamblaje que son péptidos preferidos de la invención se proporcionan, por ejemplo, en el documento WO 2004/007532 A1, que se incorpora completamente en la presente por referencia. El documento WO 2004/007532 A1
25 describe péptidos que son capaces de formar estructuras

tridimensionales, para de esta manera promover la nucleación del fosfato de calcio de-novo. Estos péptidos artificiales se ensamblan en una dimensión para formar beta-lámina, y ensambles de más alto orden tales ensambles similares a cinta. Las
5 estructuras supramoleculares tridimensionales de las proteínas de autoensamblaje se pueden formar, las cuales tienen una afinidad para/hacia el fosfato de calcio.

Varios de otros péptidos de auto-ensamblaje (SAP) que se pueden emplear se han descrito en la técnica previa. Por
10 ejemplo, el documento WO 2010/041636 A1 describe un agente de oclusión de tejido de péptido bioadsorbible que contiene un péptido artificial que tiene 8-200 residuos de aminoácido con los aminoácidos hidrofílicos y aminoácidos hidrofóbicos alternadamente enlazados, que se autoensambla en una estructura
15 beta en el pH fisiológico. Los péptidos de autoensamblaje con residuos hidrofóbicos e hidrofílicos alternantes o estiramientos que interactúan con la matriz extracelular también se describen en el documento WO 2008/113030 A2. El documento WO 2010/103887 A1 describe péptidos de
20 autoensamblaje, que comprenden aminoácidos básicos, hidrofóbicos y ácidos de una secuencia primaria específica y geles de péptido de los mismos que tienen alta intensidad. El documento WO2010/019651 A1 se relaciona a otros péptidos de autoensamblaje.

25 Otra solicitud, WO 2007/000979 A1, describe péptidos

de autoensamblaje con aminoácidos polares y no polares. Los péptidos son capaces de formar una estructura de beta-lámina en la cual los residuos de aminoácido no polares se arreglan en un lado de la estructura en la forma ensamblada. Los péptidos de autoensamblaje anfifílicos para uso como membranas macroscópicas estables, que se utilizan en aplicaciones de biomaterial, tal como el suministro del fármaco de difusión lenta, se describen en documento US 6,548,630.

El documento EP 2 327 428 A2 se refiere a una composición farmacéutica que comprende nanofibras de péptido de autoensamblaje, que son complementarias entre sí, y por lo menos una célula para reparar el daño al tejido, tal como el tejido después de un infarto miocardiaco.

En el contexto de la presente invención, los péptidos de autoensamblaje enseñados en el documento WO 2004/007532 A1 son específicamente preferidos. Mucho más de preferencia, el péptido de autoensamblaje es el péptido de autoensamblaje designado oligopéptido 104 o P11-4 (SEQ ID NO: 1, QQRFEWEFEQQ) o el péptido de autoensamblaje que tiene SEQ ID NO: 3, QQRFOWOFEQQ (también designado P11-8), o el péptido de autoensamblaje que tiene SEQ ID NO: 20, QQRQEQQEQEQQ (también designado P11-20) o comprende cualquiera de los péptidos. Un péptido de autoensamblaje que comprende SEQ ID NO: 1 o que consiste de la misma es más preferido por toda la invención. Éste también puede ser un péptido de autoensamblaje que tiene

por lo menos 60% de identidad de secuencia a un péptido que consiste de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20. De preferencia, el péptido tiene por lo menos 70%, por lo menos 80%, o por lo menos 90% de identidad de secuencia a un péptido que consiste de SEQ IDs, de preferencia, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 20. Mucho más de preferencia, el péptido tiene por lo menos 60%, por lo menos 70%, por lo menos 80% o por lo menos 90% de identidad de secuencia a un péptido que consiste de SEQ ID NO: 1 o es el péptido. Alternativamente, el péptido puede tener por lo menos 60%, por lo menos 70%, por lo menos 80% o por lo menos 90% de identidad de secuencia a un péptido que consiste de SEQ ID NO: 3 o es el péptido. Alternativamente, el péptido puede tener por lo menos 60%, por lo menos 70%, por lo menos 80% o por lo menos 90% de identidad de secuencia a un péptido que consiste de SEQ ID NO: 20 o es el péptido. Ejemplos de péptidos de autoensamblaje que se pueden emplear en la invención se proporcionan en la Tabla 1 enseguida.

Los péptidos de autoensamblaje pueden ser péptidos modificados, que comprenden una Ac-N-terminal y/o NH₂-C-terminal, o péptidos no modificados.

Tabla 1:

SEQ ID NO		Secuencia
SEQ ID NO	1 (P11-4)	QQRFEWEFEQQ

SEQ ID NO	2	QQOFOWOFQQQ
SEQ ID NO	3 (P11-8)	QQRFOWOFEQQ
SEQ ID NO	4	QQRFQWQFEQQ
SEQ ID NO	5	QQEFWEFEFEQQ
SEQ ID NO	6	QQOFOWOFOQQ
SEQ ID NO	7	EQEFWEFEFEQE
SEQ ID NO	8	QQEFWEFEFEQQ
SEQ ID NO	9	ESEFEWEFESE
SEQ ID NO	10	QQOFOWOFOQQ
SEQ ID NO	11	OQOFOWOFOQO
SEQ ID NO	12	SSOFOWOFOSS
SEQ ID NO	13	SSRFWEFEFESS
SEQ ID NO	14	SSRFOWOFESS
SEQ ID NO	15	QQOFOWOFOQQ
SEQ ID NO	16	NNRFWE FENN
SEQ ID NO	17	NNRFOWOFENN
SEQ ID NO	18	TTRFEWEFETT
SEQ ID NO	19	TTRFOWOFETT
SEQ ID NO	20 (P11-20)	QQRQEQQEQEQQ

Para ser capaz de enlazar las partículas de mineral en una superficie del diente, la matriz tiene que ser capaz de enlazar las partículas de mineral y adherirse a la superficie del diente. La matriz de esta manera comprende sitios de enlace para las partículas de mineral que le permite enlazar las

partículas, que de preferencia comprenden calcio, en la superficie del diente. Por ejemplo, los residuos de aminoácido cargados tales como Glu u Orn en la superficie de los péptidos de autoensamblaje enlazan a partículas de hidroxapatita y a la superficie del diente, que también se forma sustancialmente en hidroxapatita. Sin proponer que sea limitado por la teoría, se cree que ambas reacciones incrementan la estabilidad del complejo formado para generar un efecto de blanqueamiento más permanente. Una capacidad para la auto-organización tridimensional, que por ejemplo, se encuentra en el colágeno, los ensambles supramoleculares o en péptidos de autoensamblaje, es importante para el enlace. En general, las superficies altamente cargadas promoverán la adhesión de las partículas de mineral. Las matrices de proteínas trabajan particularmente bien cuando su superficie muestra residuos de glutamato u ornitina que pueden unirse al fosfato de calcio u otras partículas de mineral. De preferencia, la proteína comprende 5% o más, 10% o más, 20% o más o 30% o más de residuos de aminoácido cargados, tales como residuos de glutamato y/o ornitina.

Los péptidos de autoensamblaje preferidos de la invención tienen características comunes que se pueden resumir en una secuencia de consenso. En particular, los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la invención comprenden la secuencia de la fórmula X1-X2-X1-X2-X1, en donde

X1 es un aminoácido con una cadena lateral acídica o una cadena lateral básica, y X2 es un aminoácido con una cadena lateral hidrofóbica o polar seleccionada del grupo que consiste de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, 5 tirosina, triptófano y glutamina (SEQ ID NO: 21). X2 puede ser un aminoácido con una cadena lateral neutra.

En una primera modalidad, X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica. Si X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica, el aminoácido es de preferencia es ornitina o 10 arginina. Por supuesto, en diferentes posiciones en el mismo péptido de autoensamblaje, X1 puede ser un aminoácido básico diferente. De preferencia, X1 en la posición 1 de SEQ ID NO: 21 es Arg, y X1 en las posiciones 3 y 5 de SEQ ID NO: 21 son Orn. Las cadenas laterales de aminoácido con una cadena lateral 15 básica serán protonadas en valores de pH abajo de sus valores de pK nominales. Los péptidos de autoensamblaje en donde X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica se ensambla en un alto pH, por ejemplo, a un pH de más de 7.5. P11-8, el péptido de SEQ ID NO: 3 es un ejemplo preferido de tal péptido de 20 autoensamblaje.

En una segunda modalidad, preferida en la presente, X1 es un aminoácido con una cadena lateral acídica, es decir, una cadena lateral que incluye un grupo -COOH. Los péptidos de autoensamblaje utilizados en estos productos de la invención 25 comprenden la secuencia de la fórmula X1-X2-X1-X2-X1, en donde

X1 es un aminoácido con una cadena lateral ácida, y X2 es un aminoácido con una cadena lateral hidrofóbica o polar seleccionada del grupo que consiste de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptófano y glutamina (SEQ ID NO: 22). X2 puede ser un aminoácido con una cadena lateral neutra.

Las cadenas laterales de aminoácido con un -COOH serán desprotonadas en valores de pH arriba de sus valores de pK nominales. Por ejemplo, los aminoácidos que comprenden un grupo -COOH en su cadena lateral tal como ácido aspártico (Asp, D) y ácido glutámico (Glu, E), se desprotonan esencialmente en un pH arriba del neutro, es decir, en pH 7, debido a que exhiben un bajo pKa (Asp: 3.71; Glu: 4.15). En los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la presente invención, las cadenas laterales de aminoácido que contienen un grupo -COOH se ubican específicamente en la cadena de péptido para controlar las interacciones electrostáticas entre los péptidos próximos, es decir de modo que los péptidos de autoensamblaje, idénticos, adyacentes se repelen a través de interacciones electrostáticas cuando el grupo -COOH se desprotona a -COO- , y para dominar la energía libre de asociación en los enlaces entre los péptidos. La reducción del pH abajo de un cierto umbral o límite, es decir, el pH en el cual péptido comienza a someterse al autoensamblaje, tal como aproximadamente pH 7.5 para P11-4 (SEQ ID NO: 1), conduce a la

protonación de algunos de los grupos -COOH en los péptidos de autoensamblaje de la presente invención que reduce las interacciones electrostáticas repelentes entre los péptidos y permite el autoensamblaje de los péptidos.

5 Ejemplos preferidos del péptido de autoensamblaje de la invención que son capaces de someterse al autoensamblaje en pH abajo de 7.5 (en particular, que tienen SEQ ID NO: 22) son P11-4 (SEQ ID NO: 1) y P11-20 (SEQ ID NO: 20).

10 Por ejemplo, X2 puede ser un aminoácido con una cadena lateral neutra polar, por ejemplo, glutamina. Los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la invención de esta manera pueden comprender la secuencia Glu-Gln-Glu-Gln-Glu, (SEQ ID NO: 26). En este caso, un péptido de autoensamblaje preferido es P11-20.

15 Los péptidos utilizados en los productos de la invención también pueden comprender la secuencia de la fórmula X1-X2-X1-X2-X1, en donde X1 es un aminoácido con una cadena lateral acídica, y X2 es un aminoácido con una cadena lateral hidrofóbica seleccionada del grupo que consiste de alanina, 20 valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina y triptófano (SEQ ID NO: 23).

En una modalidad preferida, los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la invención comprenden la secuencia Glu-X2-Glu-X2-Glu, en donde X2 es un 25 aminoácido con una cadena lateral hidrofóbica seleccionado del

grupo que consiste de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina y triptófano (SEQ ID NO: 24) o Asp-X2-Asp-X2-Asp, en donde X2 es un aminoácido con una cadena lateral hidrofóbica seleccionado del grupo que consiste
5 de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina y triptófano (SEQ ID NO: 25).

Los péptidos de autoensamblaje complementarios también se pueden utilizar en el contexto de la invención. Ejemplos para péptidos complementarios se proporcionan, por
10 ejemplo en el documento EP 2 327428 A2.

De preferencia, los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la presente invención comprenden o consisten de la secuencia Gln-Gln-Arg-Phe-Glu-Trp-Glu-Phe-Glu-Gln-Gln (P11-4, SEQ ID NO: 1), o una secuencia que tiene
15 por lo menos 80%, de preferencia 90% de identidad de secuencia a la misma. Además se prefiere que los péptidos sean P11-4 modificado, en particular, acilados en la posición 1 y amidados en la posición 11, o una secuencia que tiene por lo menos 80%, de preferencia 90% de identidad de secuencia a la misma. La SEQ
20 ID NO: 1 es una variante preferida de SEQ ID NO: 23 y SEQ ID NO: 24.

Para los péptidos referidos en la presente como P11-4, el cambio de la forma monomérica a la forma multimérica, ensamblada se controla por el pH. Si el pH está por abajo de pH
25 7.5, el péptido se ensambla. Si el pH es más alto, el estado

del péptido es monomérico.

El péptido que tiene por lo menos 80% o más identidad de secuencia a SEQ ID NO: 1 de preferencia comprende ácido glutámico, o ácido aspártico en posiciones que corresponden a los aminoácidos 5, 7 y 9 de SEQ ID NO: 1. Específicamente, la secuencia de péptido que tiene por lo menos 80% o más identidad de secuencia a SEQ ID NO: 1 de preferencia comprende ácido glutámico en posiciones que corresponden a los aminoácidos 5, 7 y 9 de SEQ ID NO: 1. De preferencia, las posiciones de aminoácido restantes son aminoácidos con una cadena lateral hidrofóbica seleccionada del grupo que consiste de alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina y triptófano. De preferencia, las posiciones de aminoácido restantes no son aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas, es decir, aminoácidos que serían positivamente cargados en un pH alrededor del neutro.

En una modalidad, los péptidos utilizados en los productos de la invención comprenden o consisten de secuencias que difieren de aquellas representadas en SEQ ID NOs: 1, 3 o 20, de preferencia, 1, por el reemplazo de 1, 2 o 3 aminoácidos. Generalmente, cada uno de los residuos de aminoácido dentro de la secuencia de péptido de SEQ ID NOs: 1, 3 o 20 se puede sustituir por otro residuo, mientras que el péptido resultante todavía sea capaz de someterse al autoensamblaje en un valor de pH abajo de 7.5. Se prefiere que

las sustituciones sean sustituciones conservadoras, es decir, sustituciones de uno o más residuos de aminoácido por un aminoácido de una polaridad similar, que actúa como un equivalente funcional. De preferencia, el residuo de aminoácido
5 utilizado como un sustituto se selecciona del mismo grupo de aminoácidos como el residuo de aminoácido que es sustituido. Por ejemplo, un residuo hidrofóbico se puede sustituir con otro residuo hidrofóbico, o un residuo polar se puede sustituir con otro residuo polar que tiene la misma carga. Finalmente, los
10 aminoácidos homólogos que se pueden utilizar para una sustitución conservadora comprenden, por ejemplo, aminoácidos no polares tales como glicina, valina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, prolina, fenilalanina y triptófano. Ejemplos de aminoácidos polares no cargados comprenden serina,
15 treonina, glutamina, asparagina, tirosina y cisteína. Ejemplos de aminoácidos polares (básicos) cargados comprenden histidina, arginina y lisina. Ejemplos de aminoácidos polares (acídicos) cargados comprenden ácido aspártico y ácido glutámico.

Además, los péptidos utilizados en los productos de
20 la invención se pueden modificar estructuralmente en una o más posiciones de aminoácido, por ejemplo mediante la introducción de uno o más aminoácidos modificados. De acuerdo con la invención, estos aminoácidos modificados pueden ser aminoácidos que se han cambiado, por ejemplo, mediante biotinilación,
25 fosforilación, glicosilación, acetilación, ramificación y/o

ciclización. Además, los péptidos de la invención adicionalmente o alternativamente pueden contener otras modificaciones, tales como grupos de bloqueo terminales, grupos de ácido formil-, gamma-carboxiglutámico, ácido hidroxil-,
5 metil, fosforil, pirrolidona carboxílico y/o sulfato. En una modalidad preferida, todos los péptidos de la invención son acetilados en su N-terminal y/o amidados, por ejemplo, con un grupo NH₂, en su extremo C-terminal, mucho más de preferencia, ambos. Una modalidad particularmente preferida es un péptido
10 P11-4 que es N-terminalmente acetilado y C-terminalmente amidado con un grupo NH₂.

El tamaño de los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la invención no se limita específicamente. Los péptidos de la invención pueden ser de
15 cualquier longitud que permite el autoensamble de una manera dependiente del pH. De preferencia, los péptidos tendrán un tamaño de aproximadamente 5-200 aminoácidos, más de preferencia 9-100 aminoácidos, 10-50 aminoácidos, 10-30 aminoácidos o 11-20 aminoácidos. Aún más de preferencia, los péptidos de
20 autoensamblaje tendrán una longitud de aproximadamente 27 aminoácidos, 24 aminoácidos, 21 aminoácidos, 15 aminoácidos u 11 aminoácidos. En una modalidad particularmente preferida, los péptidos de autoensamblaje tienen una longitud de 11 aminoácidos.

Los péptidos de autoensamblaje se pueden preparar mediante cualquier método adecuado que es comúnmente conocido en el campo de síntesis de péptido. Por ejemplo, los péptidos con una longitud de más de 50 aminoácidos se pueden preparar por métodos recombinantes. En una modalidad, los péptidos de autoensamblaje se producen como péptidos de fusión. Como se utiliza en la presente, un péptido de fusión se refiere a una fusión de una primera secuencia de aminoácidos que comprende el péptido autoensamblaje de interés que es N-terminalmente o C-terminalmente enlazado a una segunda secuencia de aminoácidos. La segunda secuencia de aminoácidos puede ser una etiqueta de afinidad, es decir una secuencia de aminoácidos que se fusiona al N-terminal o C-terminal del péptido de autoensamblaje y que exhibe una afinidad incrementada a otro compuesto, para de esta manera permitir la purificación del péptido de fusión. De preferencia, la secuencia de etiqueta se remueve del péptido de autoensamblaje de interés después de la purificación, por ejemplo al proporcionar un sitio de segmentación proteolítico entre el péptido de autoensamblaje y la etiqueta de afinidad. En una modalidad, el péptido de autoensamblaje se prepara como es descrito en Kyle y colaboradores 2010, Biomaterials 31, 9395-9405 and Kyle y colaboradores 2009, Trends in Biotechnol. 27 (7), 423-433.

Los péptidos de autoensamblaje más pequeños usualmente se preparan mediante síntesis química. Por ejemplo,

los péptidos se pueden sintetizar químicamente mediante métodos de fase sólida o fase líquida. Los protocolos para la síntesis química de fase de solución de los péptidos se han descrito (ver, por ejemplo, Andersson y colaboradores, Biopolymers 5 55:227-250, 2000). Para la síntesis de fase sólida la técnica descrita por Merrifield (J. Am. Chem. Soc., 1964, 85, 2149-2154) se puede utilizar. En este procedimiento, el péptido en crecimiento se fija en una resina insoluble, y los reactivos solubles sin reaccionar se remueven mediante etapas de 10 filtración o lavado sin pérdidas manipulativas. La síntesis de péptido de fase sólida se puede realizar fácilmente mediante el uso de dispositivos automatizados.

Los péptidos utilizados en los productos de la invención pueden comprender cualquier aminoácido 15 proteinogénico, natural. Además, los péptidos también pueden comprender aminoácidos no proteinogénicos, no usuales, tales como carnitina, ácido gamma-aminobutírico (GABA), hidroxiprolina, selenometionina, hipusina, lantionina, ácido 2-aminoiso-butírico, deshidroalanina, ornitina (Orn, O), 20 citrulina, beta alanina (ácido 3-aminopropanoico) y los similares. Los aminoácidos no proteinogénicos se pueden incorporar en el péptido mediante modificación post-traducciona l o mediante incorporación directa durante la síntesis química del péptido.

Los péptidos de autoensamblaje utilizados en los productos de la invención se someten al autoensamble en respuesta a un cierto pH e intensidad iónica. En una modalidad, los péptidos de autoensamblaje preferidos para el uso de acuerdo con la invención se seleccionan tal que se someten al autoensamble tan pronto como el pH de su ambiente desciende abajo de un cierto pH, por ejemplo abajo de pH 7.5. El pH en el cual los péptidos de autoensamblaje de la invención comienzan a someterse al autoensamble está abajo de 7.5, de preferencia abajo de 7.2, más de preferencia abajo de 7.0. Por ejemplo, el pH en el cual el péptido de autoensamblaje P11-4 (SEQ ID NO: 1) y P11-4 terminalmente modificado comienzan a someterse al autoensamble es aproximadamente 7.5. Esto significa que los péptidos de autoensamblaje comienzan a autoensamblarse a un grado significativo cuando el pH desciende por abajo de 7.5.

Como se utiliza en la presente, el pH en el cual el péptido de autoensamblaje comienza a someterse al autoensamble se refiere al pH abajo del cual un grado significativo de autoensamble de los péptidos en solución se observa, lo cual significa que por lo menos aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 99% o aún

aproximadamente 100% de los péptidos encontrados en el producto para cuidado dental se ensamblan. En una modalidad preferida, por lo menos aproximadamente 25% de los péptidos encontrados en el producto para cuidado dental se ensamblan abajo del pH en el
5 cual el péptido comienza a someterse al autoensamble.

De preferencia, en el pH que inicia el autoensamble, por ejemplo aproximadamente pH 7.5 para P11-4 y P11-4 modificado, solo aproximadamente 20% o menos, de preferencia solo aproximadamente 15% o menos, más de preferencia 10% o
10 menos y aún más de preferencia 5% o menos del péptido está en un estado multimérico.

En contraste, abajo del pH que inicia el autoensamble, por ejemplo abajo del pH 7.5 para P11-4 (SEQ ID NO:1), un grado significativo de autoensamble de los péptidos
15 en solución se observa, lo cual significa que por lo menos aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%,
20 aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 99% o aun aproximadamente 100% de los péptidos encontrados en la solución se ensamblan, es decir multiméricos o poliméricos.

De preferencia, la intensidad iónica en la cual los péptidos se someten al autoensamble es la intensidad iónica fisiológica.

Como se utiliza en la presente, "autoensamble" de los
5 péptidos se refiere a la organización espontánea y reversible de péptidos con otros péptidos de su propia clase (o péptidos que tienen una estructura similar) en ensambles multiméricos mediante interacciones no covalentes. Las interacciones no covalentes que son responsables para formar los ensambles
10 multiméricos incluyen van-der-Waals, apilamiento π , enlaces de hidrógeno, interacciones polares e iónicas entre las cadenas principales de aminoácido y/o las cadenas laterales de aminoácido de los péptidos.

Los péptidos de autoensamblaje utilizados en los
15 productos de la invención de preferencia se ensamblan en lámina con pliegues beta. En la lámina con pliegues beta, la estructura similar a lámina se crea por una serie de enlaces de hidrógeno entre los residuos en diferentes cadenas de polipéptido o entre residuos en diferentes secciones de un
20 polipéptido plegado. Típicamente, las cadenas de polipéptido adyacentes en láminas con pliegues beta son anti-paralelos, lo cual significa que corren en direcciones opuestas. Sin embargo, las cadenas adyacentes también pueden correr paralelas. Si varias cadenas de polipéptido participan en la formación de
25 lámina, la lámina es una estructura similar a pared rígida.

Múltiples láminas con pliegues proporcionan la rugosidad y rigidez necesaria. Los péptidos que se pueden utilizar en los productos de la invención forman estructuras secundarias estables en el autoensamble. De preferencia, los péptidos
5 utilizados en la invención formarán "cintas betas" largas que comprenden una estructura con pliegues beta de una sola molécula en espesor. Los péptidos pueden formar estructuras complejas durante el ensamble, tales como cintas helicoidales (grosor de una sola molécula), cintas retorcidas (cintas
10 dobles), fibrillas (apilamiento retorcidos de cintas) y fibras (fibrillas retorcidas). Con la disminución del pH, las cintas helicoidales, listones retorcidos, fibrillas y por último las fibras se pueden formarse. De preferencia, el producto para cuidado dental de la invención comprende fibras del péptido de
15 autoensamblaje.

Como es conocido para la persona experta, el estado de ensamble de los péptidos también es influenciado por la intensidad o fuerza iónica. La intensidad iónica de una solución es una función de la concentración de todos los iones
20 presentes en esa solución. De esta manera, aún en un pH arriba del pH en el cual el péptido comienza a someterse al autoensamble, es decir, cuando el péptido es sustancialmente monomérico en solución, una intensidad iónica particularmente alta es capaz de activar el ensamble del péptido.

En una intensidad o fuerza iónica en el intervalo fisiológico, es decir, la intensidad iónica correspondiente a NaCl 150 mM, el P11-4 se ensambla en pH neutro (Carrick y colaboradores 2007. Tetrahedron 63(31):7457-7467). La persona

5 experta sabrá cómo determinar y medir la intensidad iónica de una solución. La intensidad iónica I generalmente se calcula de acuerdo con la fórmula $I = \frac{1}{2} \sum z_i^2 b_i$, en donde z es el factor de valencia y b_i es la molalidad [mol/kg{H₂O}] de la concentración del i° ion. La suma, Σ , se toma sobre todos los iones en una

10 solución. Por ejemplo, la intensidad iónica de una solución de NaCl 150 mM es aproximadamente 0.15. Esto también es aproximadamente la intensidad iónica de la sangre. La intensidad iónica de la saliva presente en la cavidad oral es generalmente mucho menor, tal como por ejemplo aproximadamente

15 0.04.

La persona experta está consciente de numerosos métodos para determinar la intensidad iónica de una preparación. Por ejemplo, la intensidad iónica se puede estimar de una medición de la conductancia eléctrica ($S = 1/\Omega = A/V$) de

20 una solución por la vía del factor de Russell como sigue: $I = 1.6 \times 10^{-5} \times \text{Conductancia Específica } [\mu S/cm]$. Una solución de NaCl 150 mM tiene una conductancia de aproximadamente 80-100 mS/cm. De esta manera, de acuerdo con lo anterior y la estimación descrita de la conductancia eléctrica, el producto

para cuidado dental tendrá una conductancia eléctrica de abajo de 100 mS/cm, de preferencia abajo de 80 mS/cm.

Además, la persona experta está consciente de numerosos métodos para determinar el pH en el cual un péptido de la presente invención comenzará el autoensamble de una intensidad iónica dada. Los métodos adecuados se denotan por ejemplo en una publicación por Aggeli y colaboradores (2003, J Am Chem Soc, 125, 9619-9628).

La persona experta será capaz de determinar si esencialmente todos los péptidos de autoensamblaje están en una forma ensamblada por medio de la experimentación de rutinaria. Por ejemplo, el estado de ensamble de los péptidos en solución se puede determinar mediante resonancia magnética nuclear (NMR), tal como ^1H -NMR, mediante el análisis de dicroísmo circular, mediante el análisis de dispersión de luz dinámica (DLS), espectroscopía de onda de difusión, métodos electroforéticos nativos, mediciones de viscosidad (reología), microbalance de cristal de cuarzo con monitoreo de disipación (QCMD) y los similares, de preferencia mediante métodos electroforéticos nativos. La presencia de fibras del péptido autoensamblado se puede detectar mediante TEM, como es descrito en los ejemplos enseguida.

Es conocido para la persona experta que la concentración de péptido puede influenciar el ensamble de los péptidos, es decir, una concentración de péptido

particularmente alta puede activar el ensamble. Además, una concentración de péptido excepcionalmente baja puede prevenir el ensamble de los péptidos de la invención, es decir, aún bajo condiciones de bajo pH como se presenta en las lesiones del
5 diente y la cavidad oral.

Típicamente, el pH del producto para cuidado dental de la invención está en el intervalo en el cual el producto para cuidado dental de la invención se ensambla. Por consiguiente, para un péptido de autoensamblaje que comprende
10 SEQ ID NO: 22, el pH de preferencia está abajo de 7.5, o, para un péptido de autoensamblaje de SEQ ID NO: 21, en donde X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica, el pH está arriba de 7.5. Sin embargo, también es posible variar el pH, por ejemplo, a un pH de hasta 8.5 o aún hasta 11 (Carrick y
15 colaboradores 2007) para un péptido de autoensamblaje que comprende SEQ ID NO: 22 tal como P11-4, mientras que mantiene el péptido autoensamblado en la forma ensamblada, o a un pH por abajo de 5 para un péptido de autoensamblaje de SEQ ID NO: 21, en donde X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica. Por
20 ejemplo, Por ejemplo, una intensidad iónica alta y/o la concentración del péptido de autoensamblaje puede conducir al mantenimiento de la forma ensamblada.

De esta manera, por ejemplo, es posible preparar un producto para cuidado dental de la invención que tiene un pH
25 ligeramente básico, por ejemplo, pH 7.5-8 u 8-8.5, que

comprende P11-4 o P11-20 (de preferencia, P11-4) en forma ensamblada. En este caso, una premezcla de péptido ensamblado, de preferencia, que comprende predominantemente fibras del péptido autoensamblado, se mezcla con una matriz amortiguada en el pH deseado, en donde la intensidad iónica y/o concentración del péptido de autoensamblaje son bastante altas para mantener el péptido de autoensamblaje en forma ensamblada. En la administración, por ejemplo, después de una comida o bebida acídica, el pH básico del producto para cuidado dental puede neutralizar el pH de la boca. En este ambiente, el péptido de autoensamblaje ensamblado luego puede formar una capa protectora sobre los dientes.

Con respecto a los productos para cuidado dental de la invención que comprenden SEQ ID NO: 21, en donde X1 es un aminoácido con una cadena lateral básica, por ejemplo, P11-8, un pH ligeramente acídico, por ejemplo, en el intervalo de 7-7.5, 6-7 o aún 5-6, en donde la forma ensamblada se mantiene, puede ser ventajoso, debido a un pH acídico típicamente se considera más sabroso por los humanos.

Los amortiguadores adecuados y agentes moduladores del pH para obtener el pH deseado son conocidos en la técnica.

Para prevenir un efecto abrasivo sobre los dientes que ya están desmineralizados, los productos para cuidado dental de la invención no son abrasivos. La abrasión es usualmente causada por partículas. En particular, los productos

para cuidado dental de la invención están libres o esencialmente libres de concentraciones relevantes de agentes abrasivos, en particular, esencialmente libres de partículas, en particular, partículas de mineral. Los agentes abrasivos
5 comúnmente utilizados son carbonato de calcio, sílice, hidróxido de aluminio y fosfatos de aluminio o de calcio. Si los productos para cuidado dental de la invención fueran abrasivos (similares a las pastas de dientes típicas) que conduciría a la abrasión o erosión adicional de los dientes ya
10 desmineralizados como se proponen para la masticación.

La abrasión depende de diferentes parámetros, en particular, la dureza, el tamaño y la forma de partículas. De preferencia, el producto para cuidado dental no comprende cantidades significativas de partículas duras, en particular,
15 partículas que tienen una dureza MOSH más alta que la dureza MOSH de la dentina que es 3. Las partículas más grandes son más abrasivas que las partículas pequeñas. De esta manera, el producto para cuidado dental de preferencia no comprende cantidades significativas de partículas grandes, por ejemplo,
20 que tienen un tamaño de 1 μm o más, 0.5 μm o más o 0.1 μm o más. Las partículas redondas son menos abrasivas que las partículas con bordes. De esta manera, las cantidades de partículas redondas que pueden ser contenidas son más altas que las cantidades de partículas de otra manera comparables con
25 bordes.

De preferencia, los productos para cuidado dental de la invención no comprenden 0.4% en peso o más de partículas minerales que tienen un tamaño de por lo menos 0.1 μm , más de preferencia, ellas comprenden menos de 0.3% en peso de partículas minerales que tienen un tamaño de por lo menos 0.1 μm , menos de 0.2% en peso de partículas minerales que tienen un tamaño de por lo menos 0.1 μm o menos de 0.1% en peso de partículas minerales que tienen un tamaño de por lo menos 0.1 μm o menos de 0.01% en peso de partículas minerales que tienen un tamaño de por lo menos 0.1 μm . Ellos también pueden estar libres de partículas minerales.

Para mejorar el sabor y aceptación de los productos, los productos para cuidado dental de la invención pueden comprender azúcar y/o sustitutos de azúcar, que, de preferencia, no promueven la caries de los dientes, por ejemplo, polioles o alcoholes de azúcar tales como sorbitol, manitol, maltitol, lactitol, isomalta, xilitol y/o eritritol, o D-tagatosa y/o trehalosa. Ventajosamente, el producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes que está libre de azúcares cariogénicos tal como sacarosa. De esta manera, de preferencia, los productos son productos sin azúcar, es decir, no comprenden sacarosa o glucosa en cantidades significativas, o no en todo. Los productos sin azúcar en base a modificaciones adecuadas de preparaciones descritas, por ejemplo, por Zumbé y colaboradores, 2001, British Journal of

Nutrition 85, Suppl. 1, S31-S45, que además comprenden los péptidos de auto-ensamblaje y con un pH controlado para asegurar el estado ensamblado de los péptidos, como es descrito en la presente, por ejemplo, mediante la elección de
5 amortiguadores apropiados y el pH, pueden ser utilizados.

Es particularmente ventajoso si el producto para cuidado dental, además de los péptidos de autoensamblaje, comprende un poliol tal como xilitol, eritritol o sorbitol, que se ha mostrado que son anti-cariogénicos, de preferencia
10 xilitol. Éste también reduce el biopelícula y placa y de esta manera facilita el acceso de los péptidos de autoensamblaje de la invención a la superficie del diente y las lesiones potenciales. Por supuesto, el xilitol no se utiliza para aplicación en perros, vacas, cabras, conejos u otros animales
15 para los cuales la sustancia es tóxica. El xilitol se puede utilizar en productos de la invención para el uso en sujetos humanos o por ejemplo, gatos, de preferencia, sujetos humanos.

El producto para cuidado dental de la invención además puede comprender, por ejemplo, aroma tal como aroma de
20 limón, caramelo, vainillina, mentol, agentes conservadores tal como etanol, benzoato de sodio, agentes colorantes tal como rojo de solvente, azul ácido 3, agentes activos tales como fluoruros, de preferencia, en la forma de aminas terciarias, tal como fluoruro de amina, o fluoruro orgánico tal como
25 monofluorofosfato de sodio, nitrato de potasio y/u oxalato.

Mientras que el producto para cuidado dental de la invención no es abrasivo como se define en lo anterior, éste puede comprender un fosfato tal como fosfato de sodio, fosfato de calcio, por ejemplo hidroxiapatita. Los fosfatos pueden
5 ayudar hacia la remineralización, y también pueden tener efectos de limpieza. Los fosfatos, por ejemplo, pueden estar presentes en la solución.

El producto para cuidado dental de la invención puede comprender un pirofosfato. Éstos tienen una acción hidrofílica
10 en la superficie del diente y pueden prevenir el manchado extrínseco.

El producto para cuidado dental de la invención puede comprender un agente controlador de pH tal como carbonato/bicarbonato de sodio o urea.

15 Los agentes amortiguadores que se pueden utilizar en el contexto de la invención pueden ser uno o más de, por ejemplo un carbonato de metal alcalino, un bicarbonato de metal alcalino, un carbonato de metal alcalinotérreo, un citrato de metal alcalino o un fosfato de metal alcalino, o cualquier
20 mezcla de los mismos. Los agentes amortiguadores preferidos son carbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, carbonato de calcio, citrato de potasio o fosfato de dipotasio, o cualquier mezcla de los mismos. Más de preferencia, el agente amortiguador es carbonato de sodio,
25 bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de

potasio, citrato de potasio y fosfato de dipotasio, o cualquier mezcla de los mismos. Especialmente, es carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio o bicarbonato de potasio, o cualquier mezcla de los mismos (por ejemplo, como es
5 descrito en el documento US 9,511,021).

Por mencionar, aún si el pH del producto para cuidado dental es básico, es decir, tiene un pH arriba de pH 7.5, por ejemplo, pH 7.5-8, un péptido de autoensamblaje ensamblado, pre-formulado mantiene su forma ensamblada si la intensidad o
10 fuerza iónica es bastante alta. De esta manera, un producto para cuidado dental ligeramente básico de la invención se puede utilizar después de comer o beber para neutralizar un pH ácido mientras que todavía es capaz de suministrar el péptido de autoensamblaje ensamblado. Sin embargo, en el contexto del
15 consumo humano, un pH ácido frecuentemente conduce a un sabor más agradable.

En otro aspecto, la invención proporciona un proceso para preparar un producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-13, que comprende las etapas de
20 a) proporcionar una primera matriz de péptido de autoensamblaje ensamblado,
b) proporcionar una base farmacéuticamente aceptable como una segunda matriz, en donde las etapas a) y b) se pueden llevar a cabo en cualquier orden y
25 c) mezclar la primera y la segunda matrices, opcionalmente,

junto con otros ingredientes,

d) formar el producto para cuidado dental y

e) opcionalmente, empaquetar el producto para cuidado dental.

La primera matriz de péptido de autoensamblaje
5 ensamblado de la etapa a) puede ser, por ejemplo, preparada al
secar una solución que tiene un pH abajo de 7.5. La matriz
puede ser un gel o una sustancia seca, por ejemplo, que se
puede obtener mediante secado con rocío, liofilización o
evaporación.

10 De preferencia, para la etapa a), el péptido primero
se monomeriza al elevar el pH a por lo menos 8. Luego, el pH se
titula, de preferencia se titula lentamente a menor que pH 7.5
para permitir la formación ordenada de láminas beta, fibrillas
y fibras del péptido de autoensamblaje. Ventajosamente, el pH
15 se baja hasta que esencialmente todo el péptido de
autoensamblaje está presente en forma ensamblada (o
polimérica).

Alternativamente, después de la producción del
péptido de autoensamblaje, el pH se controla, y, si es
20 requerido, el pH se baja a un pH de menor que 7.5, que conduce
a la formación de láminas beta, fibrillas y fibras del péptido
de autoensamblaje, si ya no están presentes. La monomerización
y luego la titulación en un bajo pH (<7.5) es preferida, ya que
las estructuras del péptido de autoensamblaje son más
25 ordenadas, y se evitan las estructuras de rollo aleatorio. Esto

conduce a un producto más homogéneo y más reproducible.

La base farmacéuticamente aceptable, es decir, la segunda matriz, puede ser cualquiera de la base descrita en la presente. De preferencia, es una base de goma, como se define
5 en lo anterior. La preparación de tales bases de goma es conocida en el estado de la técnica.

En la etapa c), la primera y la segunda matriz se mezclan. De preferencia, se homogenizan. La homogenización conduce a una distribución sustancialmente homogénea del
10 péptido de autoensamblaje en la base farmacéuticamente aceptable del producto para cuidado dental. La homogenización se puede llevar a cabo mediante el mezclado, por ejemplo, con una mezcladora, equipo de homogenización, homogenizador a través del paso, dispersor o con membranas giratorias, etc., de
15 preferencia con la mezcladora.

En cualquier caso, se prefiere que los péptidos de autoensamblaje ya estén en forma ensamblada antes de mezclar con la base farmacéuticamente aceptable. Los inventores han encontrado que esto facilita el autoensamble de la matriz de
20 péptidos autoensamblados, en particular, de fibrillas y fibras de péptido de autoensamblaje. De manera sorprendente, la homogenización no conduce a la desintegración de tales estructuras de matriz. El producto para cuidado dental de esta manera de preferencia comprende fibrillas y/o fibras de péptido
25 de autoensamblaje ensamblado, por ejemplo, fibrillas de P11-4.

El producto para cuidado dental luego se puede formar, por ejemplo, mediante extrusión, al formar la mezcla en un molde, por ejemplo, al vaciar o aplicar presión, y/o al cortar, rasgar o formar una mezcla endurecida de la matriz del péptido de autoensamblaje ensamblado y el péptido de autoensamblaje. Por ejemplo, las gomas para mascar típicamente se cortan en tiras, pero también se pueden formar en bolas.

En una modalidad, una matriz del péptido de autoensamblaje ensamblado, por ejemplo, preparado como en la etapa a, se puede aplicar a un producto para cuidado dental, por ejemplo, una goma para mascar, en particular, una goma para mascar de la invención, en una etapa del recubrimiento. Por ejemplo, una solución que comprende el péptido de autoensamblaje ensamblado tal como P11-4, de preferencia que tiene un pH por abajo de 7.5, se puede aplicar como un recubrimiento, opcionalmente, mediante secado con rocío.

El producto para cuidado dental luego se puede empaquetar. El empaquetamiento puede ser un empaquetamiento individual para cada producto, por ejemplo, en un papel o lámina delgada o una combinación de los mismos, tal como es usual para las gomas para mascar y/o un empaquetamiento de producto a granel, por ejemplo, varios productos para cuidado dental individuales en un empaquetamiento, por ejemplo, en un vaso, un empaquetamiento de papel o un respaldo de plástico. Por supuesto, varios paquetes luego se pueden además

empaquetar, por ejemplo, para la venta al por menor.

El producto para cuidado dental empaquetado puede comprender información impresa relacionada con el uso médico y/o cosmético del producto, como es descrito en la presente,
5 por ejemplo, un folleto o una etiqueta.

La invención también proporciona un producto para cuidado dental que se puede obtener mediante un proceso de la invención.

En un aspecto, la invención proporciona un producto
10 para cuidado dental, como es descrito en la presente, para el uso en la reducción de la desmineralización de una superficie del diente de un sujeto con dientes desmineralizados, en particular, para reducir la desmineralización adicional de una superficie del diente de un sujeto con dientes
15 desmineralizados.

En el contexto de la invención, los dientes desmineralizados no necesariamente significan la presencia de caries, sino más bien, un desplazamiento en el balance de desmineralización y remineralización hacia la desmineralización
20 de los dientes. Por ejemplo, el sujeto puede tener una enfermedad o trastorno que favorece la desmineralización, por ejemplo, una enfermedad o trastorno que previene o reduce la remineralización de los dientes que ocurre en sujetos saludables. Los inventores han encontrado sorprendentemente,
25 que en tales casos, donde la remineralización frecuentemente no

conduce a resultados satisfactorios, la aplicación del producto para cuidado dental de la presente invención puede ayudar a prevenir o reducir la desmineralización adicional. Por ejemplo, el producto para cuidado dental puede ser para el uso en el

5 tratamiento de un sujeto que tiene xerostomía, hiposalivación, bruxismo, hipersensibilidad de la dentina y/o erosión del diente, es decir, el sujeto con dientes desmineralizados puede ser un sujeto que tiene uno o más de estas enfermedades o trastornos. De preferencia, a través de la administración del

10 producto para cuidado dental de la invención, en estas enfermedades, una capa de péptido de autoensamblaje se forma en la superficie del diente que puede ser erosionado o desmineralizado, es decir, que actúa como una capa sacrificante antes de que el diente por sí mismo pueda ser dañado.

15 En una modalidad, el sujeto tiene xerostomía. La xerostomía es la sensación subjetiva de boca seca, que está frecuentemente (pero no siempre) asociada con hipofunción de las glándulas salivales. La xerostomía se puede asociar con un cambio en la composición de la saliva, o flujo de saliva

20 reducido, o no tiene causa identificable.

Este síntoma es muy común y es frecuentemente observado como un efecto secundario de muchos tipos de medicación. Es más común en la gente de edad avanzada (principalmente debido a que este grupo tiende a tomar varias

25 medicaciones) o en personas que abusan de drogas, por ejemplo,

usuarios crónicos de metanfetamina, o en personas quienes respiran a través de su boca. La deshidratación, la radioterapia que involucra las glándulas salivales, la quimioterapia y varias enfermedades pueden causar salivación
5 reducida (hiposalivación), o un cambio en la consistencia de la saliva y por consiguiente llegar a tener xerostomía. Algunas veces no hay causa identificable, y algunas veces puede ser una razón psicogénica para la enfermedad.

La hiposalivación es una diagnosis clínica que se
10 hace en base a la historia y el examen pero los gastos de flujo salivales reducidos se han dado en definiciones objetivas. La hipofunción de la glándula salival se ha definido como cualquier reducción objetivamente demostrable en los gastos de flujo de la glándula completa y/o individual. Un gasto de flujo
15 de saliva completo no estimulado en una persona normal es 0.3-0.4 ml por minuto, y abajo de 0.1 ml por minuto es significativamente anormal. Un gasto de flujo de saliva estimulado menor que 0.5 ml por glándula en 5 minutos o menor que 1 ml por glándula en 10 minutos es disminuido. El término
20 xerostomía subjetiva algunas veces se utiliza para describir el síntoma en la ausencia de cualquier evidencia clínica de sequedad. La xerostomía también puede resultar de un cambio en la composición de la saliva (de serosa a mucosa). La disfunción de la glándula salival es un término sobresaliente para la
25 presencia de xerostomía, hiposalivación de la glándula salival

e hipersalivación (<https://en.wikipedia.org/wiki/Xerostomia>).

De esta manera, en una modalidad, la xerostomía está asociada con hiposalivación, por ejemplo, con un gasto de flujo de saliva completo no estimulado abajo de 0.1 ml por minuto. El
5 sujeto puede tener hiposalivación sin una sensación subjetiva de boca seca.

La salivación reducida significativamente disminuye la tasa de remineralización de los dientes, y de esta manera desplaza el balance hacia la desmineralización. Sin los efectos
10 amortiguadores de la saliva, la caries del diente llega a ser una característica común y puede progresar mucho más agresivamente que sería de otra manera ("caries desenfrenada"). Ésta puede afectar las superficies del diente que normalmente no son afectadas, por ejemplo, caries cervical y caries de la
15 superficie de la raíz. Esto frecuentemente se observa en pacientes quienes han tenido radioterapia que involucra las glándulas salivales mayores, llamada caries inducida por radiación.

La salivación reducida puede ser debida a efectos
20 fisiológicos, por ejemplo, ansiedad o deshidratación, o debido a medicación xerogénica, por ejemplo, fármacos anticolinérgicos, simpaticomiméticos o diuréticos. La acción de fumar es otra causa posible. La administración de otras drogas recreativas tales como metanfetamina, cannabis, alucinógenos o
25 heroína, también puede conducir a xerostomía, y

desmineralización de los dientes. La xerostomía también puede ser causada por condiciones autoinmunes que dañan las células que producen saliva, tal como el síndrome de Sjogren, por ejemplo, síndrome de Sjogren primario o secundario. La xerostomía también puede ser asociada con la enfermedad celiaca. Los trastornos hormonales, tal como la diabetes pobremente controlada, la enfermedad de injerto contra hospedero crónica o la baja captación de fluido en personas que se someten a hemodiálisis para el deterioro renal también puede dar por resultado xerostomía, debido a la deshidratación. La xerostomía puede ser una consecuencia de la infección con el virus de la hepatitis C (HCV). Una causa rara de la disfunción de la glándula salival puede ser sarcoidosis. La infección con el Virus de Inmunodeficiencia Humana o Síndrome de inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) puede causar una enfermedad de la glándula salival relacionada conocida como Síndrome de Linfocitosis Infiltrativa Difusa (DILS).

En una modalidad, el sujeto tiene bruxismo, es decir, rechinar de los dientes o apretamiento de la mandíbula excesivo. Varios síntomas están comúnmente asociados con el bruxismo, que incluyen dientes hipersensibles, apretamiento de los músculos de la mandíbula, dolores de cabeza, desgaste de los dientes y daño a las restauraciones dentales (por ejemplo coronas y rellenos). En este contexto, el producto para cuidado dental de la invención no necesariamente reduce el

rechinarlos de dientes o apretamiento de la mandíbula, sino que funciona en prevenir o reducir la desmineralización adicional de los dientes.

El sujeto también puede tener hipersensibilidad de la dentina. La hipersensibilidad de la dentina está asociada con el dolor dental que es de carácter agudo y revelación corta, que surge de las superficies de la dentina expuestas en respuesta a estímulos, típicamente térmicos, evaporativos, táctiles, osmóticos, químicos o eléctricos; y que no pueden ser adjudicados a cualquier otra enfermedad dental. Un grado de la sensibilidad de la dentina es normal, pero el dolor no se experimenta usualmente en actividades diarias similar al beber una bebida enfriada.

El sujeto también puede tener erosión del diente. La erosión ácida es un tipo de desgaste del diente. Ésta se define como la pérdida irreversible de la estructura del diente debido a la disolución química por ácidos no de origen bacteriano. La erosión ácida comienza en el esmalte, ocasionando que se adelgace, y puede progresar en la dentina, dando al diente una apariencia amarilla opaca y que conduce a la hipersensibilidad de la dentina. La causa mucho más común de erosión es mediante alimentos y bebidas ácidas. En general, los alimentos y bebidas con un pH abajo de 2-3 se han mostrado que activan los efectos de erosión dental. La enfermedad de reflujo gastroesofágico también se puede asociar con la erosión.

De preferencia, el sujeto al cual el producto para cuidado dental se va a administrar tiene una escala de sequedad oral clínica de por lo menos 1, de preferencia por lo menos 4 o, mucho más de preferencia, por lo menos 7 en la Escala de Challacombe.

El producto para cuidado dental de la invención se puede administrar a la boca del sujeto y ser sometido a masticación. Ventajosamente, se va a mantener la boca por al menos 3 min. El producto para cuidado dental también se puede mantener en la boca por al menos 4 min, de preferencia, por al menos 5 min o al menos 10 min.

Los inventores han encontrado que esto permite una separación por lo menos parcial de las dos matrices del producto para cuidado dental, específicamente, la matriz de los péptidos de autoensamblaje ensamblados, que conduce a la formación de una capa protectora de péptidos de autoensamblaje ensamblados en la superficie del diente, y por ejemplo, la matriz de goma del producto para cuidado dental, que por ejemplo, contribuye a la limpieza de los dientes. La formación de la capa protectora del péptido de autoensamblaje reduce la desmineralización adicional. En contraste a una remineralización incrementada, este efecto no es dependiente de la presencia de saliva, y de esta manera se puede explotar en sujetos con salivación reducida o ausente.

Un producto para cuidado dental de la invención que

requiere o permite la masticación, tal como dulce, pastilla, goma de gelatina, caramelo, goma para mascar, galleta o juguete para masticar, en particular, tales formas asociadas con una larga (por ejemplo, 5 min o más) aplicación tal como la goma para mascar (para humanos) o juguete de masticación (para animales), están asociados con ventajas particulares, ya que su uso al mismo tiempo puede reducir la biopelícula o placa, y de esta manera facilita el acceso a las superficies del diente y lesiones potenciales. Tales productos también incrementan la salivación.

De esta manera, de preferencia, en la masticación del producto para cuidado dental de la invención, la base de goma limpia la superficie del diente (por ejemplo, reduce la presencia de película y/o biopelícula/y/o restos de alimento y/o cálculo y/o manchas, de preferencia, todo de éstos) y la matriz del péptido de autoensamblaje ensamblado proporciona una película en la superficie del diente que reduce o previene la desmineralización de la superficie del diente.

Es ventajoso si el producto para cuidado dental va a ser masticado, es decir, en masticación, por el sujeto. Los inventores han encontrado que, de preferencia, cinco minutos de masticación de un producto para cuidado dental de la invención incrementan el flujo salival por un factor de por lo menos 10.

Opcionalmente, los productos para cuidado dental además comprenden un sialogogo, por ejemplo, un fármaco

parasimpatomimético. De esta manera, el producto para cuidado dental, además puede reducir la desmineralización adicional, también reducir otros síntomas de xerostomía, en particular, la sensación de boca seca. Esto sin embargo no es requerido en el
5 contexto de la invención.

En comparación a otras formas galénicas de péptido de autoensamblaje, por ejemplo, pastas de dientes o geles, el producto para cuidado dental de la invención puede ser más fácilmente administrado por el sujeto, por ejemplo, se puede
10 administrar en el lugar de trabajo o mientras que está viajando, o no necesitan el uso de un recipiente de lavabo o agua. La facilidad de administración incrementa el cumplimiento de los sujetos. Otra ventaja comparada con las pastas de dientes es la ausencia de agentes abrasivos que están
15 típicamente contenidos en las pastas de dientes, que es especialmente beneficioso para sujetos que ya tienen dientes patológicamente desmineralizados. Además, la formulación esencialmente seca de un producto para cuidado dental de la invención incrementa la estabilidad del producto, que se puede
20 almacenar por un tiempo más largo.

El producto para cuidado dental de la invención, por ejemplo, se puede administrar por lo menos una vez al día, de preferencia, por lo menos dos veces al día. También se puede administrar por lo menos tres veces al día, cuatro veces al día
25 o cinco veces al día. Por ejemplo, se puede administrar cuando

el sujeto tiene una sensación incrementada de boca seca. El producto para cuidado dental también se puede administrar después de una comida o bocadillo, opcionalmente, en lugar de cepillar los dientes. El producto para cuidado dental también se puede administrar después de despertar para reducir la xerostomía. De preferencia, los sujetos aplican el producto para cuidado dental regularmente, de modo que la desmineralización adicional se pueda evitar mediante el uso del producto de la invención. Por ejemplo, el producto para cuidado dental se puede administrar por al menos dos días consecutivos, por al menos tres días consecutivos o por lo menos 5 días consecutivos. El producto de preferencia se administra por al menos una semana, al menos dos semanas, al menos tres semanas, al menos cuatro semanas, al menos un mes, al menos 2 meses, al menos 6 meses o al menos un año. El producto se puede administrar por el resto del tiempo de vida, por ejemplo, diariamente.

Ventajosamente, el producto para cuidado dental reduce la incidencia, y de preferencia, previene la caries, en particular, en sujetos con dientes desmineralizados. El producto para cuidado dental de la invención también puede reducir el dolor asociado con la hipersensibilidad de la dentina.

Como se utiliza en la presente, "sujeto" se refiere a cualquier sujeto que tiene dientes, por ejemplo, un mamífero

tal como un humano, un perro, un felino tal como un gato, un roedor tal como un ratón, rata, hámster, conejillo de Indias, una vaca, un caballo, un camello, una oveja, una cabra u otra mascota, animal de granja o de zoológico que tiene dientes. De
5 preferencia, el sujeto es un humano.

En el contexto de la invención, a menos que se mencione explícitamente o sea claro del contexto, "un" no se limita a lo singular, sino también puede significar "uno o más". Por ejemplo, la referencia a "un diente", a menos que se
10 mencione explícitamente de otra manera, incluye la referencia a más de un diente, en particular, a todos los dientes del sujeto.

Los siguientes ejemplos y modalidades se proponen para ilustrar, pero no para limitar la invención. Todas las
15 referencias citadas en la presente se incorporan completamente con ésta.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1: Flujo de Fabricación Genérica para la preparación de gomas para mascar recubiertas.

20 Fig. 2: Flujo de fabricación genérica para la producción de caramelos. La adición del material sensible a la temperatura puede ser después del mezclador en línea.

Fig. 3: Ejemplos de gomas para mascar de la invención.

25 Fig. 3A: Producto de goma para mascar que comprende

el péptido de autoensamblaje ensamblado y la base de goma, por ejemplo, chicle.

Fig. 3B: Goma para mascar A) Cubierta que comprende sabor B) Matriz que comprende el péptido de autoensamblaje
5 ensamblado y la base de goma, por ejemplo, chicle.

Fig. 3C: Goma para mascar recubierta: A) cubierta/recubrimiento que comprende el sabor y/o péptido de autoensamblaje. B) núcleo que comprende el péptido de autoensamblaje ensamblado y la matriz de base de goma.

10 Fig. 3D: Goma para mascar recubierta: A) cubierta que comprende el péptido de autoensamblaje ensamblado. B) Núcleo que comprende la base de goma, por ejemplo, chicle. La base de goma se puede hacer de goma comprimida.

Fig. 4: Ejemplo de una goma para mascar fabricada
15 final que comprende P11-4 ensamblado por goma comprimida en la descripción preparada de acuerdo con el Ejemplo 1B.

Fig. 5: Sección Transversal de un Caramelo que comprende P11-4 ensamblado preparado de acuerdo con el Ejemplo 1A con titulación.

20 Fig. 6: Imagen SEM para el ejemplo 2 con capa protectora. a) Esmalte humano intacto (cubierto con barniz durante el experimento y removido para inspección) b) esmalte humano expuesto con capa protectora después del experimento de erosión ácida que muestra la desmineralización reducida
25 comparada con la Fig. 7 que muestra el efecto protector del

tratamiento. Aumento: 1000 x, Señal: SE2, EHT: 10

Fig. 7: Imagen kVSEM para el ejemplo 2 sin capa protectora. a) Esmalte humano intacto (cubierto con barniz durante el experimento y removido para inspección) b) esmalte humano expuesto sin capa protectora después del experimento de erosión ácida que muestra la desmineralización severa. Aumento: 1000 x, Señal: SE2, EHT: 10 kV

Fig. 8: TEM de P11-4 ensamblado de Referencia, TEM, 50'000 x, 50 kV, AMT

Fig. 9: TEM de caramelo mascado-saliva artificialmente que muestra la agrupación de fibras distintas de P11-4, ver el ejemplo 3. TEM, 50'000 x, 50 kV, AMT

Fig. 10: Solución preparada de acuerdo con el Ejemplo 1 con pre-mezcla y titulación. El contenido es 35 mg*ml⁻¹

Fig. 11: Solución preparada de acuerdo con el Ejemplo 1 sin titulación que da por resultado una solución opaca, ligeramente amarillenta. El contenido es 35 mg*ml/L.

Fig. 12: Aparato para masticar artificialmente un producto para cuidado dental. Un aparato similar es la máquina para masticar dental de la Universidad de Minnesota, mostrada, por ejemplo, en <https://www.youtube.com/watch?v=LEJymW-g0B0>.

Fig. 13: Comparación del efecto protector del péptido de autoensamblaje monomérico y polimérico. **A** distribución de muestra en la rejilla de huevo. Izquierda superior la superficie no tratada, original protegida por barniz, derecha

superior: la muestra 1 con péptido de autoensamblaje polimerizado. Izquierda del fondo- muestra 2 con péptido de autoensamblaje monomérico, fondo derecho superficie no protegida. **B** huevo de pollo vacío con la rejilla retirada, recubierto el acabado exprés de Maybelline 40 s. El cuadro superior, indicado con una "V" se recubrió completamente con barniz de uñas para presentar una superficie natural, no alterada. Los tres cuadros restantes se mantienen en blanco para la siguiente investigación. **C** El huevo de pollo coloreado con la rejilla para la asignación de muestra, la apariencia ligeramente blanquecina en la izquierda superior es debido a la protección por el barniz y por lo tanto no da por resultado buena adhesión del color. **D** La incubación de la cáscara de huevo en Coca Cola® en una placa de cristalización. El sitio recubierto con las muestras se equilibró con 2 g de plomo para asegurar el equilibrio apropiado y el contacto completo al ácido del líquido. **E** El huevo 3 después de 5 min de incubación en Coca Cola® después de enjuagar con agua. Izquierda superior: área protegida con el Barniz "V", derecha superior: P11-4 "P" polimérico, izquierda del fondo: P11-4 "M" monomérico, derecha del fondo: control "C". **F** Ejemplo de una superficie convertida de negro a blanco que incluye el área que es analizada (línea delgada). **G** Resultados de "Analizar la Partícula" de la salida de ImageJ. Un alto porcentaje de superficie protegida se observa en el modelo de erosión con las muestras con el péptido

de autoensamblaje polimérico, y la protección intermedia con el péptido de autoensamblaje monomérico, y la mayoría de erosión se observa sin protección, es decir, con el control. Es de observar, que el color no se adhirió al barniz, que explica que
5 hay 0% de área negra mostrada para las muestras de barniz.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Preparación de un producto para cuidado dental de la invención

A) Preparación de un caramelo de la invención

10 Después de la provisión de material, un sistema de pesaje en base a computadora asegura que todos los ingredientes se pesan de manera precisa para el proceso de cocción subsecuente que genera la primera matriz. La cocción se realiza a 100-150°C bajo agitación.

15 En paralelo, se prepara la pre-mezcla. El péptido de auto-ensamblaje, por ejemplo, P11-4, se pesa en un recipiente adecuado. Luego el polvo se transfiere bajo agitación a otro recipiente que contiene un solvente básico, es decir agua con pH 8 ajustada con solución de NaOH 0.1 N. Después de la adición
20 del péptido de autoensamblaje, la solución se mantiene durante 5 min en pH básico para asegurar el péptido monomérico. Luego, con el ácido que es de preferencia ácido fosfórico o ácido cítrico 0.1 N, la solución se titula lentamente a pH 6 iniciando el autoensamblaje del péptido. Esto da por resultado
25 una solución ligeramente opaca. La concentración del péptido

puede estar, por ejemplo, entre 20 a 100 g/L.

Con el fin de cumplir los requerimientos del producto, la pre-mezcla se adiciona continuamente ya sea durante el mezclado en línea o directamente después del
5 mezclado en línea en el túnel de enfriamiento. De preferencia en la fase de enfriamiento con una temperatura máxima de 85°C. El caramelo crudo resultante se estira y se forma con un rodillo de cono en barras seguido por la formación de un rodillo de nivelación en una forma de barra. Después de esta
10 transformación de la forma, el caramelo ahora enfriado se corta y se envuelve en línea en un envolvedor. Los caramelos envueltos se pueden empaquetar o almacenar a granel esperando el empaquetamiento adicional.

Alternativamente, el producto a granel se puede
15 preparar como es seguido sin titulación:

Después de la provisión de material, un sistema de pesaje en base a computadora asegura que todos los ingredientes se pesan de manera precisa para el proceso de cocción subsecuente que genera la primera matriz. La cocción se realiza
20 en 100-150°C bajo agitación.

En paralelo, se prepara la pre-mezcla. El péptido de autoensamblaje, por ejemplo, P11-4, se pesa en un recipiente adecuado. Luego el polvo se transfiere bajo agitación en otro recipiente que contiene una solución ácida de preferencia ácido
25 fosfórico o ácido cítrico en pH 6. Si es requerido, el pH se

corrige con el ácido correspondiente. Esto da por resultado una solución viscosa amarillenta, opaca. La concentración del péptido puede estar, por ejemplo, entre 20 a 60 g/L.

Con el fin de cumplir los requerimientos del
5 producto, la pre-mezcla se adiciona continuamente durante el
mezclado en línea o directamente después del mezclado en línea
en el túnel de enfriamiento. De preferencia en la fase de
enfriamiento con una temperatura máxima de 85°C. El caramelo
crudo resultante se estira y se forma con un rodillo de cono en
10 barras seguido por un rodillo de nivelación en una forma de
barra. Después de esta transformación de la forma, el caramelo
ahora enfriado se corta y se envuelve en línea en un
envolvedor. Los caramelos envueltos se pueden almacenar a
granel esperando el empaquetamiento adicional, o se pueden
15 empaquetar.

B) Preparación de una goma para mascar de la invención

Antes de la provisión del material, se prepara la matriz de SAP. El péptido de autoensamblaje se pesa en un recipiente adecuado. Luego el polvo se transfiere bajo
20 agitación a otro recipiente que contiene un solvente básico, es decir, agua con pH 8 ajustado con solución de NaOH 0.1 N. Después de la adición del péptido de autoensamblaje, la solución se mantiene en un pH básico por 5 min para asegurar el péptido monomérico. Luego, con ácido, de preferencia ácido
25 fosfórico o ácido cítrico 0.1 N, la solución se titula

lentamente a pH 6, iniciando el autoensamblaje del péptido. Esto da por resultado una solución ligeramente opaca. La concentración del péptido puede estar, por ejemplo, entre 20 a 100 g/L. Esta solución luego se seca, por ejemplo, se seca por
5 congelación o se seca con rocío, conservando la estructura fibrilar de la matriz.

Después de la provisión del material, un sistema de pesaje en base a computadora asegura que todos los ingredientes se pesan de manera precisa para el procedimiento de mezclado
10 subsecuente. El agente de granulación, mucho más de preferencia sorbitol, el lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio o talco, etc. se adiciona, y luego se mezcla en una mezcladora. Posteriormente, se adiciona el polvo de péptido ensamblado, y el polvo de flujo libre directamente se dosifica en el equipo
15 de prensado.

Para incrementar la capacidad de utilización en términos de sabor, un recubrimiento se puede aplicar después de la preparación del producto a granel de recubrimiento, es decir en un recipiente separado. Para esto una solución de péptido se
20 puede preparar como es discutido en lo anterior. Esta solución luego se adiciona a los sabores, agentes colorantes, etc. mediante homogenización y se utiliza posteriormente para el recubrimiento con rocío de las gomas comprimidas.

Después del recubrimiento, las gomas se pueden
25 aplicar en ampollas directamente y sellar, y opcionalmente,

además empaquetar.

Ejemplo 2: Prueba de erosión ácida

Preparación de las muestras

Material

Descripción	Proveedor
Discos de Esmalte Humano	Tissue Bank
Tubo Falcon de 15 ml	Fisher Sci
Papel de pH	Merck
Cronómetro	--
Agitador	IKA
Plasma Escúter Polaron SC7620	Thermo VG Scientific (Au Plasma)
Cinta de carbono	Thermo
SEM SUPRA 40 VP Gemini	Cari Zeiss
Solución Salina Amortiguada de Fosfato	Sigma Aldrich
Ácido cítrico → solución de ácido cítrico 6% en agua	credentis
Amortiguador de remineralización: Ca(NO ₃) ₂ 2 mM KHPO ₄ 1.2 mM; Tris/HCl 60 mM. (pH ajustado a 7.4 con KOH 1 M)	credentis
Saliva Artificial	Sigma Aldrich
Papel secante	VWR
Coca Cola	Coca Cola

5 *Preparación del Disco de Esmalte*

- Remover el diente, de preferencia humano, del refrigerador.

o El diente debe tener superficie intacta

- Secarlo
- Recortar partes del esmalte
- Almacenar en la solución de PBS

Incubación

- 5 - Remover los cortes de la solución de PBS
- Enjuagar bajo agua potable
- Incubar durante 48 h en amortiguador de
remineralización
- Remover de la solución
- 10 - Aplicar el corte de esmalte a los dientes
artificiales del equipo de masticación artificial con pegamento
2K
- Masticar artificialmente el caramelo con o sin P11-4
ensamblado (33 mg/ml) con 3 mL de saliva artificial durante 5
15 min.
- o Remover la "saliva"
- o Incubar 1 pieza de esmalte en "saliva"
durante 5 min
- Remover el corte de esmalte del diente
- 20 - Incubar la sección de esmalte durante 30 min en coca
cola
- Colocar el papel secante
- Secar con aire durante 24 h

Preparación SEM

- 25 - Colocar las muestras en el soporte de muestra SEM en

cinta de carbono

- Chisporrotear la muestra durante 30 s en un Au-Plasma bajo Argón

o 8×10^{-2} Pa 30 s @ 20 mA de recubrimiento con Oro

Analizar la muestra en SEM "Carl Zeiss".

Los cortes de esmalte se masticaron artificialmente con un caramelo que comprende P11-4 ensamblado o el objetivo (saliva únicamente) como es descrito en anterior, luego, la erosión ácida se indujo mediante la incubación en coca cola durante 30 min. Las imágenes SEM de los cortes de esmalte representativos con o sin la capa protectora formada por la masticación del caramelo con P11-4 ensamblado se muestran en la Fig. 6 (no se formó capa protectora) y 7 (con P11-4, con capa protectora). Las muestras que tienen una capa de protección para ácido/sacrificante muestran menor erosión que aquellas que no tienen protección.

Ejemplo 3: Determinación de elución de fibras de la matriz

Material

- 20 - P11-4 ensamblado como control
- Muelle-Pipeta μ L Soccorex
- Plantillas Cu-TEM Malla 200 EMS 215-412-810
- Uranil acetato 3 % EMS 22400-2 Lote: 1B155953/131007
- M900 TEM Zeiss

25 Muestra:

- Colocar 1 caramelo con o sin P11-4 ensamblado (35 mg/ml) en 3 mL de saliva artificial (ver el Ejemplo 2)

- Masticar artificial durante 5 min en el equipo de masticación artificial

5 - Remover el sobrenadante (saliva)

TEM del Método

- Diluir la muestra (10 mg/mL) con H₂O en una relación de 1:63

10 - Colocar 1 µL de la solución de control en la muestra de rejilla de TEM

- Colocar 20 µL de agua en un parapelícula

- Colocar levemente la rejilla TEM con el sitio oscuro que enfrenta hacia arriba en la parapelícula, cerrar para la caída

15 - Aplicación de la muestra de 10 µL en rejillas recubiertas de carbono TEM (hexagonal)

- incubación de 10 min

- Remover la muestra no enlazada con un pañuelo de papel

- Colocar la rejilla en 20 µl de solución de Uranilacetato al 3%

20 - incubación de 40 seg

- Remover el uranil acetato no enlazado con un pañuelo de papel

- Lavar la rejilla 2 veces con agua destilada

o pipetear la gotita de 5 µL en la parte superior de la
25 rejilla y removerla

- Secarla durante 20 min a RT
- Introducir la muestra en el soporte de muestra para TEM
- Analizar @ 50 kV, Vacío por lo menos 9×10^{-6} hPa

La saliva artificial comprendió fibras ensambladas del péptido de autoensamblaje P11-4 después de la masticación de un caramelo de la invención, es decir, el péptido de autoensamblaje ensamblado mantiene su forma ensamblada después de la integración en la base del caramelo y después de una extracción del mismo mediante masticación. Esto permite la formación de la capa sacrificante protectora en el diente que lo protege de la erosión.

Ejemplo 4: Comparación de los efectos protectores del péptido de autoensamblaje monomérico y ensamblado contra la erosión ácida

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto protector del péptido de autoensamblaje polimérico comparado con el péptido de autoensamblaje monomérico, en base al experimento ejemplar con caramelos.

Puesto que la disponibilidad de dientes humanos es limitada, un modelo alternativo se ha establecido al utilizar huevos de pollo como el reemplazo para esmalte humano para la prueba de erosión. Aunque los huevos de pollo se hacen de carbonato de calcio antes que de fosfato de calcio como los dientes humanos, el modelo es adecuado para mostrar un efecto protector contra el ataque ácido. La estructura de carbonato

de calcio del huevo de pollo con la estructura rodeada se asemeja a la estructura de cristal del fosfato de calcio en los dientes humanos. Además, los dientes humanos también contienen una parte de carbonato de calcio (~4%) (Klimuszek y colaboradores 2018 Odontology 106:369-376).

Un ataque ácido en la erosión del diente se puede causar por ácido acético, ácido fosfórico u otros ácidos orgánicos o inorgánicos. Para propósitos traslacionales, la Coca Cola® se utilizó, una de las bebidas ampliamente consumidas que disminuyen sustancialmente el pH oral- 1.7 billones de porciones de Coca Cola se utilizan diariamente a nivel mundial.

La hipótesis probada en este modelo de erosión con ácido semi-cuantitativa es si la cáscara de huevo es mejor protegida por el péptido de autoensamblaje polimérico o agregado P11-4 comparado con el péptido de autoensamblaje monomérico P11-4.

Para probar esta hipótesis, dos conjuntos de caramelos se crearon y se compararon. La formulación básica fue idéntica, sin embargo, el péptido se adicionó como un monómero a la forma monomérica y como un hidrogel en la forma polimérica. El material se adicionó durante el proceso de producción de caramelo después de la etapa de calentamiento, pero antes del uso de las barras de mezclado.

25 Material y métodos

Caramelos	Monoméricos	Credentis ag	194322-02
Curodont ^{MR}			(Monomérico)
Caramelos	Poliméricos	Credentis ag	194-PM-X
Curodont ^{MR}			(Polimérico)
			(todavía no comercialmente disponible)
Resto		Mettler Toledo	PM300
Rueda Giratoria		Snijders	Rotador 34528
Pipeta		Socroex	10-100 µL
Microscopio Digital			
Tubo de Centrifugación		VWR	
15 ml			
Disco de Cristalización		Duran	
300 ml			
NaCl Isotónico 0.9%		Labor Bichsel	L170192
Huevo de Pollo, frescos		Volg	
Colorante de Alimento		Dr. Octker	
Acabado Exprés Maibelin		Maybelline	
40 s			
Acetona		Sigma	
ImageJ		1.53c	

Los caramelos se cortaron y 4.2 g se pesaron en el tubo de centrifugación de 15 mL. 3 mL de solución de NaCl

isotónica, que imita la saliva natural y el volumen presente en la cavidad oral, se adicionaron y las muestras se colocaron durante la noche en una rueda giratoria.

Los huevos de pollo frescos se abrieron
5 cuidadosamente en un lado y se desechó la clara y yema del huevo. Los huevos de pollo vacíos luego se lavaron y se secaron. Después del secado, en dos lugares del huevo, una rejilla primero se retiró con una pluma fina y luego se recubrió con barniz de uñas, ver la Fig. 13B.

10 Después de que el barniz de uñas se ha secado, los huevos se colorearon con tinte de alimento azul "FCf de azul brillante" para mejor visibilidad al aplicar el color directamente en el huevo de pollo con una esponja. Una esponja limpia, el color en exceso luego se removi6, dando por
15 resultado la distribución uniforme del color, ver la Fig. 13C. los huevos parcialmente coloreados luego se secaron a 40°C durante 2 horas.

Después del secado, las muestras se asignaron como se define en la Fig. 13^a.

20 25 µL de la muestra extraída o control se colocó con una pipeta en la superficie del huevo seca y se dejó empapar. La etapa se repitió dos veces para asegurar la cobertura completa del cuadro.

Después del secado a 40°C durante 1 h, la cáscara de
25 huevo se colocó en Coca Cola (pura) de 21°C y se incubó durante

5, 10 y 20 min según la Fig. 13D.

Después de la incubación, la cáscara de huevo se removi6 (Fig. 13E), y se lav6 con agua, seguido por la remoci6n del barniz con acetona. La cáscara de huevo luego se sec6 con
5 aire.

Las áre6s donde las muestras se han aplicado luego se investigaron utilizando un microscopio USB digital para la distribuci6n del tinte. En las áre6s donde el líquido ácido erosion6 la cáscara de huevo, se encontr6 menos color en la
10 superficie, ya que el color se erosiona con la superficie de la cáscara.

Las imágenes se abrieron con ImageJ, cada imagen seleccionada y convertida a una imagen binaria, es decir, áre6s más oscuras de la cáscara con color azul intenso, donde la
15 cáscara se ha protegido, se convirtieron a negro, y las regiones más claras, donde la cáscara se ha erosionado se convirtieron a blanco. Una imagen ejemplar se muestra en la Fig. 13F. Dentro de las rejillas, los cuadros tan grandes como es posible se analizaron con la funci6n "Analizar Partículas".

20 Se debe observar que el barniz de uñas previene el acceso del tinte a la superficie de la cáscara del huevo, de modo que el color se pierde después del lavado aunque la cáscara se protege óptimamente bajo el barniz.

Resultados

25 **Tabla 2:** Datos de computadora obtenidos por el Análisis de

Partícula ImageJ. Según la definición de rejilla, la "V" establece para barniz (estructura nativa), "P" para el Péptido de Autoensamblaje polimérico, "M" para el Péptido de Autoensamblaje monomérico y "C" para superficie no protegida

ID	Conteo	Área Total	Tamaño Promedio	% de Área
12455_Heuvo3_5min (3)_V.jpg	18	102	5.667	0.007
12455_Huevo3_5min (4)_P_bw	741	1011800	1365.452	88.384
12455_Huevo3_5min (5)_M.jpg	310	130124	419.755	68.398
12455_Huevo3_5min_(6)_C_bw.tif	386	213628	553.44	67.561
12455_Huevo2_10min_(4)_V_bw	5	8	1.6	6.59E-04
12455_Huevo2_10min_(5)_P_BW	1450	580723	400.499	62.515
12455_Huevo2_10min_(7)_M_bw	3425	755952	220.716	57.699
12455_Huevo2_10min_(1)_C_bw	1587	461484	290.79	50.656
12455_Huevo4_20min - Barniz	perdido			
12455_Huevo4_20min (2)_P_bw	614	660990	1076.531	53.782
12455_Huevo4_20min (3)_M_bw	1450	546241	376.718	46.758
12455_Huevo4_20min (4)_C.jpg	6501	956391	147.114	39.988

5 Conclusiones

Los datos obtenidos confirman la hipótesis de que el

péptido de autoensamblaje polimérico P11-4 "P" conduce a mejor protección de la erosión comparado con el péptido de autoensamblaje monomérico P11-4 "M". El efecto es más alto con un tiempo corto de incubación de 5 min, donde el material polimérico protege aproximadamente 20% más del área comparada con la forma monomérica y el control "C", Fig. 13G. Con tiempos de incubación más largos, el efecto así como la diferencia entre los valores llega a ser más pequeño, pero el péptido de autoensamblaje polimérico todavía tiene un mejor efecto protector que el péptido de autoensamblaje monomérico, que es todavía más protector que el control.

MODALIDADES DE LA INVENCION

La invención proporciona

1. Un producto para cuidado dental que comprende
 - (i) péptidos de autoensamblaje que comprenden la secuencia de SEQ ID NO: 21, en donde los péptidos de autoensamblaje están esencialmente presentes en el producto para cuidado dental en forma ensamblada (en particular, por lo menos 80%, de preferencia por lo menos 90% o por lo menos 95%) y
 - (ii) una base farmacéuticamente aceptable,en donde el producto para cuidado dental es un producto esencialmente sólido seleccionado del grupo que consiste de goma para mascar, masticación blanda, goma de gelatina, dulce masticable, juguete para mascar, caramelo,

pastilla y tableta

y en donde el producto para cuidado dental no es abrasivo.

2. El producto para cuidado dental de la modalidad 1,
5 en donde los péptidos de autoensamblaje en forma ensamblada se incrustan en la base farmacéuticamente aceptable, de preferencia, en una base de goma.

3. El producto para cuidado dental de la modalidad 2,
en donde la base de goma comprende polímeros, plastificantes
10 y/o resinas.

4. El producto para cuidado dental de la modalidad 2,
en donde la base de goma comprende

a) ingredientes sintéticos seleccionados del grupo que consiste de caucho de butadieno-estireno, copolímero de
15 isobutileno-isopreno (caucho de butilo), parafina (producida por la vía del proceso de Fischer-Tropsch), cera de petróleo, cera de petróleo sintética, poliisobutileno acetato de polivinilo, poliisobutadieno y copolímeros de isobutileno-isopreno, elastómeros de bajo peso molecular tal como
20 polibuteno, polibutadieno y poliisobutileno, elastómeros poliméricos de vinilo tal como acetato de polivinilo, polietileno, elastómeros copoliméricos de vinilo tales como acetato de vinilo/laurato de vinilo, acetato de vinilo/estearato de vinilo, etileno/acetato de vinilo, alcohol
25 polivinílico o mezclas de los mismos y/o

b) ingredientes naturales seleccionados del grupo que consiste de chicle, chiquibul, goma de corona, gutta hang kang, massaranduba balata, massaranduba chocolate, níspero, rosdinha, chicle Venezolano, jelutong, leche saspí, pendare, perillo,
5 leche de vaca, niger gutta, tuno, childe y caucho natural.

5. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, que comprende gelatina, albumen, lecitina, pectina o almidón.

6. El producto para cuidado dental de cualquiera de
10 las modalidades precedentes, en donde la concentración de los péptidos de autoensamblaje es 0.1 - 500 mg/kg, de preferencia, aproximadamente 5-15 mg/kg.

7. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la
15 secuencia de SEQ ID NOs: 22.

8. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 23.

9. El producto para cuidado dental de cualquiera de
20 las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 24.

10. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 25.

25 11. El producto para cuidado dental de cualquiera de

las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NOs: 26.

12. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el péptido comprende la
5 secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-20.

13. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde los péptidos de autoensamblaje comprenden una secuencia que tiene por lo menos 80% de identidad de secuencia a una de las secuencias de SEQ ID
10 NOs: 1, 2 o 20, en donde el péptido de preferencia comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1.

14. El producto para cuidado dental de la modalidad 13, en donde los péptidos de autoensamblaje comprenden una secuencia que tiene por lo menos 80% de identidad de secuencia
15 a SEQ ID NO: 1, en donde el péptido de preferencia comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1.

15. El producto para cuidado dental de la modalidad 13, en donde los péptidos de autoensamblaje comprenden una secuencia que tiene por lo menos 80% de identidad de secuencia
20 a SEQ ID NO: 3, en donde el péptido de preferencia comprende la secuencia de SEQ ID NO: 3.

16. El producto para cuidado dental de la modalidad 13, en donde los péptidos de autoensamblaje comprenden una secuencia que tiene por lo menos 80% de identidad de secuencia
25 a SEQ ID NO: 20, en donde el péptido de preferencia comprende

la secuencia de SEQ ID NO: 20.

17. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-15, en donde el péptido es capaz de someterse al autoensamble en un pH abajo de 7.5.

5 18. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-6, 12 o 16, en donde el péptido es capaz de someterse al autoensamble en un pH arriba de 7.5.

19. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes no comprende 0.4% en peso o más de
10 partículas minerales que tiene un tamaño de por lo menos 0.1 μm .

20. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el producto para cuidado dental además comprende a) un poliol tal como xilitol,
15 eritritol o sorbitol, de preferencia, xilitol.

21. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el producto para cuidado dental además comprende b) un fosfato tal como fosfato de sodio fosfato de calcio, por ejemplo hidroxiapatita.

20 22. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el producto para cuidado dental además comprende c) un pirofosfato.

23. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el producto para cuidado
25 dental además comprende d) un agente controlador de pH tal como

bicarbonato de sodio o urea.

24. Un proceso para preparar un producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-23, que comprende las etapas de

5 a) proporcionar una matriz de péptido de autoensamblaje ensamblado

 b) proporcionar una base farmacéuticamente aceptable, de preferencia, una base de goma, en donde las etapas a) y b) se pueden llevar a cabo en cualquier orden y

10 c) homogenizar la matriz del péptido de autoensamblaje ensamblado y la base farmacéuticamente aceptable, de preferencia, la base de goma, opcionalmente, junto con otros ingredientes,

 d) formar el producto para cuidado dental y

15 e) opcionalmente, empaquetar el producto para cuidado dental.

25. El proceso de la modalidad 24, en donde la matriz de la etapa a se prepara al secar una solución que tiene un pH en el cual el péptido de autoensamblaje se ensambla (por
20 ejemplo, un pH abajo de 7.5 para un péptido de SEQ ID NO: 22), por ejemplo, mediante el secado con rocío, liofilización o evaporación.

26. El producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-23, se puede obtener por un proceso de
25 cualquiera de las modalidades 22 o 23.

27. Un producto para cuidado dental de cualquiera de las modalidades 1-23 o 26 para el uso en la reducción de desmineralización de una superficie del diente de un sujeto con dientes desmineralizados, de preferencia, para reducir la desmineralización adicional de una superficie del diente de un sujeto con dientes desmineralizados.

28. El producto para cuidado dental para uso de la modalidad 27, en donde el sujeto tiene una enfermedad o condición asociada con remineralización reducida de dientes.

29. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27 o 28, en donde el sujeto tiene xerostomía, hiposalivación, bruxismo, hipersensibilidad de la dentina y/o erosión del diente.

30. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-29, en donde el sujeto tiene xerostomía.

31. El producto para cuidado dental para uso de la modalidad 30, en donde la xerostomía está asociada con hiposalivación.

32. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-31, en donde el sujeto tiene hiposalivación.

33. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-32, en donde el sujeto tiene bruxismo.

34. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-33, en donde el sujeto tiene erosión del diente.

35. El producto para cuidado dental para uso de la
5 modalidad 34, en donde el sujeto tiene enfermedad de reflujo gastroesofágico.

36. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-35, en donde el sujeto tiene hipersensibilidad de la dentina.

10 37. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-36, en donde el sujeto tiene una escala de sequedad oral clínica de por lo menos 1, de preferencia, por lo menos 4 o por lo menos 7 en la Escala de Challacombe.

15 38. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-37, en donde el producto para cuidado dental se administra a la boca del sujeto, en donde el producto para cuidado dental de preferencia se va a mantener en la boca durante por lo menos 3 min.

20 39. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 26-37, en donde el producto para cuidado dental se va a masticar por el sujeto, en donde, de preferencia, cinco minutos de masticación incrementan el flujo salival por un factor de por lo menos 10.

25 40. El producto para cuidado dental para uso de

cualquiera de las modalidades 27-39, en donde, en la masticación, la base de goma limpia la superficie del diente, y la matriz del péptido de autoensamblaje ensamblado proporciona una película en la superficie del diente que reduce o previene la desmineralización adicional de la superficie del diente.

41. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-40, en donde el producto para cuidado dental se administra por lo menos una vez al día, de preferencia, por lo menos dos veces al día.

42. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-41, en donde el producto para cuidado dental se administra después de una comida o bocadillo, opcionalmente, en lugar de cepillar los dientes.

43. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-42, en donde el producto para cuidado dental se administra después de despertar para reducir la xerostomía.

44. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-43, en donde el producto para cuidado dental reduce la incidencia, y de preferencia, previene la caries.

45. El producto para cuidado dental para uso de cualquiera de las modalidades 27-44, en donde el producto para cuidado dental reduce el dolor asociado con la hipersensibilidad de la dentina.