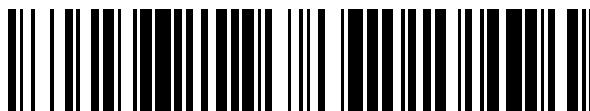


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 639**

51 Int. Cl.:
A61Q 11/00 (2006.01)
A61K 8/66 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04710173 .8**
96 Fecha de presentación: **11.02.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1603524**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.12.2005**

54 Título: **COMPOSICIÓN ORAL QUE CONTIENE ENZIMAS QUE TIENE ESTABILIDAD MEJORADA.**

30 Prioridad:
11.02.2003 US 364241

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.12.2011

73 Titular/es:
COLGATE-PALMOLIVE COMPANY
300 PARK AVENUE
NEW YORK, NY 10022-7499, US

72 Inventor/es:
MORGAN, Andre, M.;
SZELES, Lori, H.;
WILLIAMS, Malcolm;
HERLES, Susan, M.;
MACIAS, Chanda, L.;
D'AMBROGIO, Robert;
BOYD, Thomas, J. y
MASTERS, James, G.

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 370 639 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición oral que contiene enzimas que tiene estabilidad mejorada

Antecedentes de la invención

1. Campo de la invención

5 Esta invención se refiere generalmente a composiciones orales para mejorar la higiene oral, y más particularmente a composiciones orales que contienen enzimas que tienen estabilidad y efectividad antiplaca mejoradas.

2. Técnica anterior

10 Las composiciones orales tales como pastas dentífricas, geles y enjuagues bucales se diseñan para aflojar y retirar la placa junto con un régimen de cepillado de dientes regular. La placa dental está presente en ciertos grados, en forma de película, sobre virtualmente todas las superficies dentales. Es un subproducto del crecimiento microbiano, y comprende una capa microbiana densa que consiste en una masa de microorganismos embebidos en una matriz de polisacáridos. La Placa de adhiere por sí misma firmemente a las superficies dentales y se retira sólo con dificultad incluso mediante un régimen de cepillado riguroso. Además, la placa se vuelve a formarse rápidamente sobre la superficie dental después de ser retirada. La placa se puede formar sobre cualquier parte de la superficie de los dientes, y se encuentra particularmente en el margen gingival, en grietas en el esmalte, y en la superficie de cálculos dentales. El peligro asociado con la formación de placa sobre los dientes reside en la tendencia de la placa a acumularse y producir eventualmente gingivitis, periodontitis y otros tipos de enfermedades periodontales, así como caries dental y cálculos dentales.

20 Es conocido en la técnica el incorporar agentes antimicrobianos en composiciones orales en las que estos agentes destruyen o inhiben las bacterias orales. Se incorporan también otros agentes en la composición oral para mejorar la eficacia de los agentes antimicrobianos. Por ejemplo, se conoce la incorporación de enzimas tales como proteasas en las composiciones orales, las cuales afectan o interfiere en la formación de placa y la adherencia bacteriana a las superficies de los dientes.

25 Un problema encontrado con las enzimas preparadas comercialmente tales como proteasas, es que éstas a menudo contienen un amplio espectro de subproductos o impurezas no deseados que son difíciles de retirar durante la fabricación. Uno de dichos subproductos de las enzimas es la celulasa, una enzima que cataboliza la celulosa a azúcares sencillos mediante la hidrólisis de los enlaces β (1-4).

30 Los agentes espesantes usados convencionalmente en composiciones orales, tales como carboximetil-celulosa, sufren degradación en presencia de enzimas celulasas, lo cual afecta perjudicialmente a la reología del producto dentífrico. De este modo, un medio para inhibir la degradación de estos espesantes por la celulasa en un objetivo crítico para obtener formulaciones para el cuidado oral que contienen enzimas estables.

35 Los métodos típicos empleados en la técnica para la inhibir o aislar la celulasa no son prácticos para su uso en el campo de las composiciones orales. Los tratamientos para inhibir la celulasa tales como salar, tratamiento de calor, o ajuste de pH también comprometen la actividad de las enzimas. Los métodos clásicos de separación de enzimas basados en el tamaño, carga, solubilidad y lugares de unión de las enzimas tienen costes prohibitivos y son inefectivos debido a las similitudes entre ciertas celulasas y enzimas tales como amilasas. La inhibición de la actividad de la celulasa mediante el tratamiento con metales pesados o complejos de metales pesados tales como mercurio, plata y cloruro de paladio que se unen al sitio activo de la enzima también resultan inaceptables ya que estos materiales son tóxicos para los humanos y ciertamente no se pueden usar en un producto para el cuidado oral.

40 Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención se ha determinado inesperadamente que una pequeña pero efectiva cantidad de cloruro de cetil-piridinio y un agente reductor pueden proporcionar estabilidad y eficacia antiplaca mejoradas en composiciones orales que contienen enzimas.

45 La presente invención proporciona una composición para el cuidado oral según la reivindicación 1, y un método según la reivindicación 12 para la preparación de una composición acuosa para el cuidado oral que contiene un compuesto de enzima estable. Las características preferidas se definen en las reivindicaciones adjuntas.

Descripción de las realizaciones preferidas

Cloruro de cetil-piridinio

50 El cloruro de cetil-piridinio se incorpora en las composiciones para el cuidado oral de la presente invención preferiblemente en una concentración de 0,005 a 2% en peso, más preferiblemente aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1,0% en peso e incluso más preferiblemente aproximadamente 0,50 a aproximadamente 1,0% en peso de la composición para el cuidado oral.

Enzimas

Las enzimas útiles en la práctica de la presente invención incluyen carbohidrasas tales como glucoamilasa y enzimas extraídas de productos de frutas naturales tales como proteasas las cuales rompen o hidrolizan las proteínas.

- 5 La glucoamilasa es una glucoamilasa sacarificante de origen de *Aspergillus niger* cultivada por fermentación. Esta enzima puede hidrolizar tanto los puntos de ramificación alfa-D-1,6 glucosídicos y los enlaces alfa-1,4-glucosídicos de glucosil-oligosacáridos. Las carbohidrasas adicionales útiles según esta invención son alfa y beta-amilasa, dextranasa y mutanasa. La glucoamilasa es una enzima preferida y se incorpora en la composición oral de la presente invención en una concentración de aproximadamente 0,001 a 2% en peso y preferiblemente de

10 aproximadamente 0,01 a 0,55% en peso.

- Las enzimas proteasas útiles en la práctica de la presente invención incluyen las extraídas a partir de productos de frutas naturales. Las enzimas proteolíticas se obtienen a partir de fuentes naturales o mediante la acción de microorganismos que tienen una fuente de nitrógeno y una fuente de carbono. Ejemplos de enzimas proteolíticas útiles en la práctica de la presente invención incluyen las enzimas de origen natural papaína (procedente de la papaya), bromelaína (procedente de la piña), así como proteasas de serina tales como quimotripsina. Enzimas
- 15 adicionales incluyen ficina y alcalasa. La papaína es una enzima proteasa preferida para su uso en la práctica de la presente invención, la papaína que tienen una actividad de 150 a 939 MCU por miligramo como se determinó mediante el Test de Ensayo de Cuajo de Leche del Grupo Biddle Sawyer (véase J. Biol. Chem., vol. 121 páginas 737-745). Las enzimas proteasas están incluidas en las composiciones de la presente invención en una
- 20 concentración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3% en peso y preferiblemente aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2% en peso.

Las enzimas que se usan beneficiosamente en combinación con las enzimas proteicas y enzimas glucoamilasas incluyen carboxihidrasas tales como alfa-amilasa, beta-amilasa, tannasa y lipasas tales como lipasa vegetal, lipasa gástrica y lipasa pancreática.

- 25 La enzima lipasa procede de la cepa seleccionada de *Aspergillus niger*, que presentan rotura aleatoria de las posiciones 1,3, de grasas y aceites. La enzima tiene actividad lipolítica a PH 5,0 a 7,0 cuando se ensaya con aceite de oliva. La enzima tiene una actividad medida de 120.000 unidades de lipasa por gramo. La lipasa puede estar incluida en la composición dentífrica en una concentración de aproximadamente 0,010 a aproximadamente 5,0% en peso y preferiblemente aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,10% en peso.

- 30 La presencia de enzima tannasa puede ser adicionalmente beneficiosa en facilitar la eliminación de manchas extrínsecas. Las enzimas tannasas han sido purificadas a partir de *Aspergillus niger* y *Aspergillus allianceus* y son útiles en la hidrólisis de taninos, conocidos para decolorar la superficie de los dientes.

- Otras enzimas adecuadas que puede comprender la presente invención incluyen lizozima, procedente de la clara de huevo, que contiene una única cadena polipeptídica reticulada mediante cuatro enlaces disulfuro que tiene un peso
- 35 molecular de 14.600 daltons. La enzima puede presentar propiedades antibacterianas para facilitar la hidrólisis de las paredes celulares bacterianas rompiendo el enlace glicosídico entre el número de carbono 1 del ácido N-acetilmurámico y el número de carbono 4 de la N-acetil-D-glucosamina, los cuales in vivo, estos dos hidratos de carbono se polimerizan para formar el polisacárido de la pared celular. Adicionalmente, la pectinasa, una enzima que está presente en la mayoría de las plantas facilita la hidrólisis del polisacárido pectina en azúcares y ácido galacturónico. Finalmente, la glucanasa, que se puede utilizar para catalizar la ruptura de hidratos de carbono complejos a glucanos y la hidrólisis de beta-glucano a glucosa.
- 40

Agentes estabilizadores de enzimas

- Los agentes estabilizantes de enzimas que protegen la enzima de la inactivación quelando las impurezas metálicas presentes en la composición oral incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y gluconato sódico en
- 45 concentraciones entre 0,01 a 1% en peso, preferiblemente entre 0,1 y 0,5% en peso. Agentes que estabilizan la enzima frente a la oxidación incluyen agentes reductores tales como bisulfito sódico, galatos metálicos, estannato potásico, estannato sódico, sulfato amónico, 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno (BHT), Vitamina E (formas α , β y γ)/ acetato de Vitamina E y ácido ascórbico. El agente reductor en la presente invención es estannato potásico o sulfato amónico. El estannato potásico es un agente estabilizante de enzimas preferido para usar en la práctica de la
- 50 presente invención. El agente reductor está presente en la composición oral de la presente invención preferiblemente en una concentración entre 0,05 a 2,0% en peso de la composición, más preferiblemente entre aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,5% en peso, incluso más preferiblemente entre aproximadamente entre 0,1 a aproximadamente 0,75% en peso.

Mezcla previa

- 55 Cuando se incorpora cloruro de cetil-piridinio en la composición para el cuidado oral de la presente invención resulta ventajoso que el cloruro de cetil-piridinio y cualquier enzima que se vaya a añadir a la composición oral se mezclen primero previamente en una solución acuosa humectante de manera que el cloruro de cetil-piridinio se haga

interaccionar y se una e inactiva cualquier impureza presente en la enzima añadida a la composición oral.

El producto de mezcla previa estará compuesto normalmente de cuatro componentes los cuales son (1) cloruro de cetil-piridinio (2) una o más enzimas que se van a incorporar en la composición oral (3) un agente reductor, (4) el resto agua y un humectante.

5 Generalmente, la concentración del cloruro de cetil-piridinio presente en la mezcla previa estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 1,0% en peso de la mezcla previa y preferiblemente aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,6% en peso. La enzima está presente en la mezcla previa preferiblemente a una concentración de 0,1 a 10% en peso, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10,0% en peso de la mezcla previa e incluso más preferiblemente aproximadamente 0,75 a aproximadamente 8,0% en peso. Cuando una combinación de enzimas tales como glucoamilasa y papaína se incluye en la mezcla previa, la concentración de papaína estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 2 a aproximadamente 10% en peso y la concentración de glucoamilasa estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2% en peso.

15 Se incluye también preferiblemente un agente reductor tal como estannato potásico en la solución de mezcla previa a una concentración de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40% en peso, y preferiblemente aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3% en peso, sirviendo la presencia del agente reductor para mejorar adicionalmente la inhibición del cloruro de cetil-piridinio de la actividad de las impurezas de la enzima cuando se incorporan posteriormente en el vehículo de la composición oral.

20 El agua y el humectante son componentes adicionales de la mezcla previa. Las concentraciones estarán comprendidas en el intervalo de aproximadamente 85 a 95% en peso.

Para preparar la mezcla previa, se carga un reactor primero con una mezcla de agua y humectante seguido de la adición de una cantidad efectiva de cloruro de cetil-piridinio que se mezcla y disuelve en la misma y después se añaden a la solución las enzimas y el agente reductor. Estos ingredientes se mezclan juntos a una temperatura no superior a aproximadamente 40°C y preferiblemente aproximadamente 30°C. El pH se ajusta a un valor entre aproximadamente 1,5 a aproximadamente 8,0 y preferiblemente de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 7,5. La mezcla previa así preparada luego se guarda herméticamente en recipientes adecuados a la espera de mezclarla con el vehículo y otros ingredientes de la composición para el cuidado oral.

Composición para el cuidado oral

30 En la preparación de una composición oral, la mezcla previa se mezcla con los ingredientes del vehículo de la composición para el cuidado oral para preparar un producto en el que las enzimas permanecen estabilizadas de manera efectiva y que presentará actividad antiplaca y antigingivitis.

Vehículo del dentífrico

35 Vehículos oralmente aceptables usados para preparar composiciones dentífricas de la presente invención incluyen una fase acuosa, que contiene un humectante en la misma. El humectante es preferiblemente glicerina, sorbitol, xilitol y/o propilenglicol de peso molecular comprendido en el intervalo de 200 a 1000; pero también se pueden emplear también otros humectantes y mezclas de los mismos. La concentración de humectante totaliza típicamente de aproximadamente 5 a aproximadamente 70% en peso de la composición oral y preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60% en peso. El agua presente en el dentífrico estará comprendida en el intervalo de aproximadamente 10 a aproximadamente 30% en peso y preferiblemente de aproximadamente 15 a aproximadamente 25% en peso.

Abrasivos

45 En la preparación de una composición dentífrica, los abrasivos que se usan en al práctica de la presente invención incluyen abrasivos de sílice tales como sílices precipitadas que tienen un tamaño medio de partículas de hasta aproximadamente 20 micrómetros, tales como Zeodent 115, comercializado por J.M. Huber. Otros abrasivos dentífricos útiles incluyen metafosfato sódico, metafosfato potásico, fosfato tricálcico, fosfato dicálcico dihidratado, silicato de aluminio, alúmina calcinada, bentonita u otros materiales silíceos o sus combinaciones.

50 Materiales abrasivos preferidos útiles en la práctica de la preparación de composiciones dentífricas de acuerdo con la presente invención incluyen geles de sílice y sílice amorfa precipitada que tiene un calor de absorción de aceite de menos de 100 cc/ 100 g de sílice y preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 45cc/100g a menos de aproximadamente 70 cc/100g de sílice. Los valores de absorción de aceite se miden usando el ASTA Rub-Out Method D281. Estas sílices son partículas coloidales que tienen un tamaño medio de partículas de comprendido en el intervalo de aproximadamente 3 micrómetros a aproximadamente 12 micrómetros, y más preferiblemente entre aproximadamente 5 a aproximadamente 10 micrómetros y un intervalo de pH de 4 a 10, preferiblemente de 6 a 9 cuando se mide como una suspensión al 5% en peso.

55 Los abrasivos de sílice de baja absorción de aceite particularmente útiles en la practica de la presente invención se

comercializan bajo la denominación comercial Syldent XWA por Davison Chemical Division de W.R. Grace & Co., Baltimore, MD 21203. El Syldent 650 XWA, un hidrogel de sílice compuesto de partículas de sílice coloidales, que tiene un contenido de agua de 29% en peso, cuyos diámetros varían de aproximadamente 7 a aproximadamente 10 micrómetros, y que tiene una absorción de aceite de menos de 70 cc/100 g de sílice, es un ejemplo preferido de un abrasivo de sílice de baja absorción de aceite en la práctica de la presente invención. El abrasivo está presente en la composición dentífrica de la presente invención en una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 40% en peso y preferiblemente 15 a aproximadamente 30% en peso.

Agentes espesantes

Agentes espesantes usados en las composiciones dentífricas de la presente invención incluyen gomas naturales y sintéticas y los coloides incluyen espesantes de celulosa tales como carboximetil-celulosa, hidroxialquil-celulosas tales como hidroxipropil-celulosa, hidroxietil-celulosa, gomas tales como goma de xantano, poliglicoles de diversos pesos moleculares vendidos bajo la marca Polyox y polietilenglicol. Espesantes inorgánicos que se pueden usar en la práctica de la presente invención incluyen compuestos de sílice amorfa tales como sílices coloidales compuestos disponibles bajo la denominación comercial Cab-o-sil fabricado por Cabot Corporation y distribuido por Lenape Chemical, Bound Brook, New Jersey; Zeodent 165 de J.M. Huber Chemicals Division, Havre de Grace, Maryland 21078; y Syldent 15, disponible de Davison Chemical Division de W.R. Grace Corporation, Baltimore, MD 21203. Otros espesantes inorgánicos incluyen arcillas naturales y sintéticas, silicato de litio y magnesio (Laponita) y silicato de magnesio y aluminio (Veegum).

El agente espesante está presente en la composición dentífrica en cantidades de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% en peso, preferiblemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4,0% peso.

Tensioactivos

Los tensioactivos se usan en las composiciones orales de la presente invención para conseguir una acción profiláctica incrementada y hacer que las composiciones sean más cosméticamente aceptables. El tensioactivo es preferiblemente un material detergente que proporciona a la composición propiedades detergentes y de formación de espuma.

Los tensioactivos aniónicos tales como alquil-sulfatos superiores tales como laurel-sulfato sódico son tensioactivos efectivos en composiciones orales pero no son normalmente compatibles con las enzimas y promueven la desnaturalización de la enzima y su pérdida de actividad. Sin embargo, según la práctica de la presente invención, el mezclamiento previo de cantidades concentradas de enzimas tales como glucoamilasa con cloruro de cetil-piridinio, permite que el cloruro de cetil-piridinio interactúe y se una a cualquier impureza de celulosa presente en la glucoamilasa con lo que se evita la interacción de la celulosa con cualquier espesante a base de celulosa que se pueda usar en la preparación del dentífrico inhibiendo, además, la interacción con el tensioactivo aniónico. Se pueden usar también tensioactivos que son compatibles con las enzimas para proporcionar las características de formación de espuma requeridas en la composición oral. Ejemplos de tensioactivos compatibles con enzimas incluyen tensioactivos de polioxietileno no iónicos tales como Polioxámero 407, Plurónico 127, Polisorbato 20, y tensioactivos anfóteros tales como tauranol, cocamidopropil-betaína (tegobetaína) y lauril-glucósido de cocamidopropil-betaína. Los tensioactivos se incluyen en la composición oral de la presente invención en una concentración de aproximadamente 2 a aproximadamente 10% en peso y preferiblemente entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 5,0 % en peso.

Fluoruro y otros agentes activos

La composición oral de la presente invención puede contener también una fuente de iones fluoruro o un ingrediente que proporcione flúor, como agente anticaries en cantidades suficientes para suministrar aproximadamente 25 ppm, a 5.000 ppm de iones fluoruro e incluyen sales de fluoruro inorgánicas, tales como sales solubles de metales alcalinos. Fuentes de fluoruro preferidas que son compatibles como las enzimas incluyen fluoruro sódico, fluoruro potásico, fluorosilicato sódico, monofluorofosfato sódico (MFP), fluorosilicato amónico, así como fluoruros de estaño, tales como fluoruro estannoso y cloruro estannoso. Se prefiere fluoruro sódico o MFP.

Además de los compuestos de fluoruro, se puede incluir también en las composiciones orales de la presente invención agentes antisarro tales como sales de pirofosfatos que incluyen sales de pirofosfatos de metales dialcalinos o tetraalcalinos tales como $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_2\text{K}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, polifosfatos tales como tripolifosfato sódico, hexametáfosfato sódico y fosfatos cíclicos tales como tripolifosfato sódico y trimetáfosfato sódico. Estos agentes antisarro se incluyen en la composición dentífrica en una concentración de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 5,0% en peso.

Otros agentes activos útiles en las composiciones dentífricas de la presente invención son agentes antibacterianos, que pueden ser de 0,2 a 1,0 % en peso de la composición oral. Dichos agentes antibacterianos útiles incluyen agentes antibacterianos no catiónicos que están basados en compuestos fenólicos y bisfenólicos, tales como difenil-éteres halogenados tales como Triclosán (2, 4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil-éter).

Policarboxilato aniónico

Se pueden usar también policarboxilatos aniónicos sintéticos en las composiciones orales de la presente invención tales como un agente mejorador de la eficacia para cualquier agente antibacteriano, antisarro u otro agente activo dentro de la composición dentífrica. Dichos policarboxilatos aniónicos se emplean generalmente en forma de sus ácidos libres o sales de metales alcalinos (por ejemplo, potasio y preferiblemente sodio) o de amonio solubles en agua preferiblemente parcialmente o más preferiblemente totalmente neutralizadas. Se prefieren copolímeros 1:4 a 4:1 de anhídrido o ácido maleico con otro monómero etilénicamente insaturado polimerizable, preferiblemente metilvinil-éter/anhídrido maleico que tiene un peso molecular (P.M.) de aproximadamente 30.000 a aproximadamente 1.800.000, siendo lo más preferido de aproximadamente 30.000 a aproximadamente 700.000. Ejemplos de estos polímeros se encuentran disponibles en GAF Corporation bajo la marca comercial Gantrez, por ejemplo, AN 139 (P.M. 500.000), AN 119 (P.M. 250.000); S-97 de Calidad Farmacéutica (P.M. 700.000), AN 169 (P.M. 1.200.000-1.800.000), y AN 179 (P.M. por encima de 1.800.000); donde el copolímero preferido es S-97 de Calidad Farmacéutica (P.M. 700.000).

Cuando está presente, el policarboxilato aniónico se emplea en cantidades efectivas para conseguir la mejora deseada de la eficacia de cualquier agente antibacteriano, antisarro u otro agente activo dentro de la composición oral. Generalmente, el policarboxilato aniónico está presente en la composición oral en cantidades de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 4% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2,5% en peso.

Saborizante

La composición oral de la presente invención puede contener también un agente saborizante. Agentes saborizantes que se usan en la práctica de la presente invención incluyen aceites esenciales así como diversos aldehídos, ésteres, alcoholes saborizantes y materiales similares. Ejemplos de los aceites esenciales incluyen aceites de hierbabuena, menta, galuteria, sasafrás, clavo, salvia, eucalipto, mejorana, canela, limón, lima, pomelo y naranja. Son también útiles compuestos químicos tales como mentol, carvona, y anetol. De éstos, los más comúnmente empleados son los aceites de menta y hierbabuena.

El agente saborizante se incorpora en la composición oral en una concentración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5% en peso y preferiblemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 % en peso.

Otros ingredientes

Se pueden incorporar en las composiciones orales de esta invención otros materiales diversos que incluyen desestabilizantes, tales como nitrato potásico; agentes blanqueantes, tales como peróxido de hidrógeno, peróxido cálcico y peróxido de urea; conservantes; siliconas y compuestos de clorofila. Estos aditivos, cuando están presentes, se incorporan en las composiciones orales de presente invención en cantidades que no afectan de manera adversa a las propiedades y características deseadas.

Preparación de composiciones dentífricas

Para preparar una composición dentífrica de la presente invención, se dispersan en el agua generalmente los humectantes tales como glicerina, sorbitol en un mezclador convencional con agitación. Se añaden en la dispersión espesantes orgánicos, tales como carboximetil-celulosa; agentes antisarro tales como pirofosfato tetrasódico, tripolifosfato sódico y cualquier edulcorante. La mezcla resultante se agita hasta que se forma una fase de gel homogénea. Se añaden en la fase de gel un pigmento tal como TiO₂, y cualquier ácido o base requerida para ajustar el pH en el intervalo de 6,4 a 7,3. Estos ingredientes se mezclan hasta obtener una fase homogénea. Después, se añade una mezcla previa de cloruro de piridinio, enzima y un agente reductor tal como estannato potásico en una solución acuosa de humectante y se mezcla con la fase de gel homogénea. La mezcla resultante luego se transfiere a un mezclador de alta velocidad/vacío, en el que se añaden a la mezcla el espesante y los ingredientes tensioactivos. Después, se añade el abrasivo. Se disuelve en los aceites saborizantes que se van a incluir en la composición cualquier agente antibacteriano insoluble en agua, tal como Triclosán, y se añade la solución junto con los tensioactivos a la mezcla, la cual se mezcla luego a alta velocidad durante 5 a 30 minutos, en un vacío de aproximadamente 20 a 50 mm de Hg, preferiblemente aproximadamente 30 mm de Hg. El producto resultante es en cada caso una pasta o un producto de gel homogéneo, semisólido y extruible.

Preparación de composiciones orales líquidas

En el aspecto de la presente invención en el que la composición oral tiene un carácter sustancialmente líquido tal como un lavado o enjuague bucal, el vehículo es típicamente agua, humectante o una mezcla de alcoholes. El alcohol es un alcohol no tóxico tal como etanol o isopropanol. Puede estar presente un humectante tal como glicerina, sorbitol o un alquilenglicol tal como polietilenglicol o propilenglicol en una cantidad de aproximadamente 10 a 30% en peso, conteniendo el enjuague oral más de aproximadamente 45% de en peso de agua y preferiblemente aproximadamente 50 a 85% en peso de agua, aproximadamente 0 a 20% en peso de un alcohol no tóxico y aproximadamente de 10 a 40% en peso del humectante. Puede estar presente un espesante tal como un Plurónico en una concentración de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0% en peso, cloruro de cetil-piridinio en una concentración de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 1,0 % en peso, y un agente reductor tal como estannato potásico o sulfato amónico en una concentración de aproximadamente 0,05 a 1,0% en peso, una enzima

en una concentración de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,2% en peso y un ingrediente saborizante en una concentración de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0% en peso.

5 En la preparación de un enjuague oral, se dispersa una mezcla previa de enzima compuesta de cloruro de cetil-piridinio, agente reductor, agua, humectante y enzima en una mezcla de ingredientes de lavado bucal, por ejemplo, alcohol, humectantes, tensioactivos, y luego se añaden saborizantes y se mezclan. Los ingredientes luego se mezclan en vacío durante aproximadamente 15-30 minutos. El producto de enjuague oral resultante luego se envasa.

10 Un enjuague es un vehículo ventajoso para liberar agentes activos a la cavidad oral, debido a su capacidad para introducirse en zonas de difícil alcance de la boca, tales como regiones interproximales y hendiduras de la lengua. El reto en la incorporación de enzimas en un enjuague es mantener la estabilidad y actividad enzimática en niveles de agua por encima del 50%, convencionalmente no adecuados para composiciones que contienen enzimas. En la presente invención, se encuentra que la estabilidad de la enzima es aceptable y está inesperadamente optimizada cuando el contenido en agua del enjuague se mantiene por encima de 45% en peso de una de sus mezclas, y preferiblemente en aproximadamente 50% a aproximadamente 85% en peso se encuentra que la actividad de la enzima como un agente antiplaca aumenta, como se demostrará más adelante.

Los siguientes ejemplos describen adicionalmente y demuestran las realizaciones preferidas dentro del alcance de la presente invención. Los ejemplos se dan únicamente a modo de ilustración, y no se van a interpretar como una limitación de esta invención ya que muchas variaciones de la misma son posibles sin salirse de su contenido y alcance.

20 **Ejemplo 1**

Se preparó una composición dentífrica que contenía enzimas (papaína, glucoamilasa) que contenía una pequeña pero efectiva cantidad de cloruro de cetil-piridinio y agentes reductores (estannato potásico, sulfato amónico) añadida como mezcla previa de enzima y espesada con un espesante de celulosa (carboximetil-celulosa). Los ingredientes de esta composición, denominada "Composición A", se enumeran en la Tabla I siguiente.

25 Se prepararon composiciones dentífricas denominadas "B, C y D" siguiendo el procedimiento del Ejemplo I para fines comparativos. Todas las composiciones contenían las mismas enzimas que la Composición A, a saber, glucoamilasa y papaína. Las Composiciones B y C no contenían cloruro de cetil-piridinio.

30 La Composición B contenía el agente reductor sulfato amónico y el agente quelante de metales EDTA. La Composición C contenía el agente reductor estannato potásico y el conservante Nipastat. La composición D contenía cloruro de cetil-piridinio en la base de la composición dentífrica y no contenía un agente reductor y la Laponita se sustituyó por carboxilmetil-celulosa sódica como un agente espesante.

La crema dental comercial que no contenía cloruro de cetil-piridinio o enzimas denominada "Composición E" se usó como control.

TABLA I				
Ingredientes de la composición	A % en peso	B % en peso	C % en peso	D % en peso
Agua	18,5	17,75	18,25	18,25
Plurónico F127	1,5	1,5	1,5	0,75
Glicerina	20,0	20,0	20,0	22,0
Pirofosfato tetrasódico	2,0	2,0	2,0	--
Tripolifosfato sódico	3,0	3,0	3,0	--
Fosfato monosódico	0,026	0,026	0,026	--
Fosfato disódico	0,079	0,076	0,079	--
Carboximetil-celulosa sódica	0,65	0,65	0,65	--
Laponita	--	--	--	0,7
Goma de xantano	0,55	0,55	0,55	0,6
Monofluororofosfato sódico	0,76	0,76	0,76	0,76
Sacarina sódica	0,50	0,50	0,50	0,40
Sorbitol (solución al 70%)	18,9434	19,6999	19,2024	22,8049
Sílice XWA650	20,0	20,0	20,0	20,0
Zeodent 115	5,0	5,0	5,0	5,0
	2,25	2,0	2,0	2,25

TABLA I				
Ingredientes de la composición	A % en peso	B % en peso	C % en peso	D % en peso
Zeodent 165	0,40	0,40	0,40	0,50
Dióxido de titanio	0,50	0,50	0,50	--
Lauril-sulfato sódico	--	--	--	1,2
Tauranol	1,0	1,0	1,0	--
Betaína	3,0	3,0	3,0	3,0
PEG 600	0,10	0,10	0,10	0,10
Polioxómero 407	1,10	1,10	1,10	1,10
Saborizante	0,2266	0,2266	0,2266	0,2266
Papaína	0,044	0,044	0,044	0,044
Glucoamilasa	0,10	--	0,10	--
Estannato potásico	--	0,10	--	--
Sulfato amónico	0,015	--	--	0,3
Cloruro de cetil-piridinio	0,006	0,006	0,006	0,006
EDTA, dihidrato disódico	--	--	0,006	--
Nipastat	--	0,0025	--	0,0025
Benzoato sódico	--	0,006	--	0,006
Sorbato potásico				

La composición A se preparó mezclando previamente el agente reductor estannato potásico y un conservante (EDTA) con cloruro de cetil-piridinio a 23°C. Los ingredientes de la mezcla previa designada "Mezcla previa A1" se indican en la Tabla II siguiente a 23°C.

- 5 Las mezclas previas denominadas B1 y C1 se prepararon siguiendo el procedimiento usado para la mezcla previa A1 y se añadieron a las respectivas Composiciones dentífricas B y C. Se preparó también una mezcla previa para la composición D. Los ingredientes usados en la preparación de las composiciones de las mezclas previas para las Composiciones A, B y C se enumeran en la Tabla II siguiente

TABLA II			
Ingredientes de la mezcla previa			
Ingredientes de la Composición	A1 (% en peso)	B1 (% en peso)	C1 (% en peso)
Sorbitol	67,168	76,848	67,348
Agua	25	15	25
Papaína	4,532	4,532	4,532
Glucoamilasa	0,88	0,88	0,88
Estannato potásico	2,0	--	2,0
Sulfato amónico	--	2,0	--
Cloruro de cetil-piridinio	0,3	--	--
EDTA, dihidrato disódico	0,12	0,12	0,12
Nipastat	--	--	0,12
Benzoato sódico	--	0,5	--
Sorbato potásico	--	0,12	--

- 10 Las composiciones de las mezclas previas A1, B1 y C1 se añaden separadamente a una crema dental sin enzimas que contenía los ingredientes enumerados en la Tabla I en una relación 1:4 para observar los efectos sobre la actividad de la celulasa. Se controló la actividad de los celulasa mediante cambios tanto en la viscosidad como en el nivel de azúcar en las Composiciones dentífricas A, B y C a lo largo del tiempo.

En las medidas de viscosidad, se apreció mayor actividad de celulasa mediante una reducción más rápida en la viscosidad de la pasta de dientes ya que la celulasa catabolizó el espesante de carboximetil-celulosa usado para preparar las composiciones dentífricas. La viscosidad se midió en un viscosímetro Brookfield modelo RVDTV-11 con

un eje #95 a 5 rpm en centipoise por segundo (CPS). Las medidas se tomaron diariamente en cada muestra hasta que se observó una pérdida de viscosidad del 80%.

La concentración de subproducto de azúcar se controló usando un analizador digital de azúcar en sangre Accucheck. A medida que la celulasa actúa sobre la celulosa, se produce azúcar como un subproducto. Cuanto mayor es la actividad de la celulasa, mayor es la cantidad de azúcar producido. Ambos métodos para determinar el nivel de azúcar y la viscosidad se usaron para comparar los efectos del cloruro de cetil-piridinio, los agentes reductores sulfato amónico y estannato potásico y los agentes conservantes benzoato sódico, y los parabenos sobre la actividad de la celulasa. Los resultados de la viscosidad y la concentración de azúcar se muestran en la Tabla III siguiente.

5

Ingredientes de la composición	Viscosidad inicial (CPS)	Viscosidad final (CPS)	% de Pérdida de viscosidad (después de 14 días)	Conc. de azúcar (MG/DL) (después de 7 días)
A	25	17	32	28
B	20	10	50	62
C	20	5	75	62
D	30	15	50	62
E	28	32	0	0

10 Los resultados en la Tabla III muestra que la tendencia en la producción de azúcar es consistente con los resultados de pérdida de viscosidad. Ambos resultados indican que la Composición A formulada con una solución de mezcla previa de estannato potásico/cloruro de cetil-piridinio/enzima era la más efectiva en retrasar la actividad de la celulasa en la composición dentífrica.

Reducción de la microflora de la lengua

15 Se ensayaron varias composiciones para la reducción de la microflora de la lengua, centrándose en aquellas especies responsables de la generación del mal olor oral. Se raspó la lengua de pacientes para la recogida bacteriana en la línea base y cuatro horas después del tratamiento. Estas muestras se colocaron en un plato sobre un medio agar y se incubaron anaeróbicamente. Después de cuatro días, se enumeraron las unidades formadoras de colonias de las bacterias causantes del mal olor y también las bacterias totales de la lengua. Los resultados de los valores medios de las unidades formadoras de colonias se utilizaron para calcular el porcentaje de reducción a partir de la línea base.

20

25 Las Tablas IV y V representan un estudio de microflora de la lengua *in vivo* tomando muestras de bacterias en la línea base y cuatro horas después del cepillado con la Composición D. Para fines comparativos, se evaluaron también las Composiciones F y G para determinar la reducción del mal olor oral y de la microflora de la lengua. La Composición F era un dentífrico comercial que contenía cloruro de cetil-piridinio pero que no contenía enzimas y la composición G era una pasta de dientes con fluoruro comercial que no contenía cloruro de cetil-piridinio ni enzimas. La Tabla V muestra la mayor reducción de las bacterias causantes del mal olor oral por la combinación de enzimas con cloruro de cetil-piridinio presentes en la Composición D. La Tabla VI demuestra que esta mezcla previa de enzimas estabilizadas cuando se incorpora en sistemas de pastas de dientes proporciona un efecto antibacteriano in-vivo contra todo tipo de bacterias que existen en la lengua, incluyendo las especies causantes del mal olor. Después de cuatro horas de post tratamiento, la Formulación D que contenía cloruro de cetil-piridinio y enzimas, reducía significativamente más bacterias que los dentífricos comparativos F y G.

30

Composición	Colonias medias de la línea base	Colonias medias después de 4 horas	% reducción de colonias de bacterias del mal olor
D	$3,8 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^5$	63
F	$2,3 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^5$	0
G	$2,0 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^5$	0

TABLA V			
Reducción de las bacterias totales de la lengua 4 horas después del tratamiento			
Composición	Colonias medias de la línea base	Colonias medias después de 4 horas	% reducción de colonias de bacterias del mal olor
D	5,2*10 ⁵	2,4*10 ⁵	53
F	5,0*10 ⁵	3,1*10 ⁵	38
G	4,3*10 ⁵	3,9*10 ⁵	10

Ejemplo II

Se prepararon enjuagues orales denominados "Composiciones K y L" que tenían los ingredientes enumerados en la Tabla VI siguiente.

TABLA VI		
Ingredientes de la composición	K (% en peso)	L (% en peso)
Agua	57.8	70.3
Glicerina	16.25	10.0
Sorbitol	16.25	10.0
Etanol	5.00	5.00
Gantrez	1.92	1.92
Plurónico F127	0.75	0.75
Plurónico F108	0.75	0.75
Pirofosfato tetrasódico	0.45	0.45
Saborizante	0.30	0.30
Papaína	0.21	0.21
Estannato potásico	0.05	0.05
Sacarina sódica	0.070	0.070
Cloruro de cetil-piridinio	0.050	0.050
Nipastat	0.050	0.050
Fosfato monosódico	0.035	0.035
Butil-hidroxi-tolueno	0.015	0.015
Fosfato disódico	0.010	0.010
Ácido fosfórico	0.04	0.04
Total	100.0	100.0

5 Estabilidad de la papaína

Se controló la actividad de la papaína del enjuague usando el equipo de actividad de la proteasa PanVera. El equipo de actividad cuantifica la actividad de la proteasa usando un sustrato de fluoresceína-tiocarbamoilo (FTC)-caseína. La FTC-caseína es atacada por la proteasa, rompiendo la caseína en TC-péptidos. La cantidad de actividad de la proteasa se determina midiendo la fluorescencia de los péptidos de FTC generados. La Tabla VII siguiente compara el porcentaje de actividad y la fluorescencia de las Composiciones K y L, y de un placebo denominado "Composición N" que es idéntico a la Composición K, pero que no contiene enzimas. Los valores de fluorescencia se expresan en unidades relativas de fluorescencia RFU. El porcentaje de actividad se determina a partir de la fluorescencia, con respecto al placebo. A partir de las medidas de la actividad, por encima de 70% de la actividad de la enzima se mantuvo después de 4 semanas a temperatura ambiente.

10

TABLA VII			
ACTIVIDAD DE LA PROTEASA			
Enjuague oral	Fluorescencia inicial (RFU)	Fluorescencia después de 4 semanas (RFU)	% de reducción
K	25983	21518	74%
L	26548	21297	72%
N	10360	11563	0

15 **Eficacia de retirada de placa**

Para evaluar la capacidad de retirar la placa de las Composiciones K y K de enjuague con enzima papaína, se realizó un estudio de células del flujo salival en el que la placa se hacía crecer en una superficie modelo, tratando seguidamente dicha superficie con un enjuague y midiendo la reducción de la placa. En el estudio, se formó primero una biopelícula sobre prismas de germanio bombeando continuamente un medio de crecimiento de bacterias sobre los primas durante aproximadamente 18 horas. Luego, los prismas se trataron con una composición de enjuague, bombeando el enjuague sobre los prismas durante varios minutos, con el fin de facilitar la retirada de la placa. Se calculó un índice de placa, usando las intensidades de las bandas de absorción de espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier de Reflexión Total Atenuada (ATR FTIR) en 3300, 1650, 1545 y 1080 cm^{-1} a partir de los espectros de infrarrojo como sigue:

$$\text{Valoración de la placa} = \text{abs}_{3300} + \text{abs}_{1650} + \text{abs}_{1545} + \text{abs}_{1080}$$

en la que *abs* es la absorbancia máxima en los diversos números de onda. Los números de onda seleccionados representan la absorción por los componentes de la saliva y las bacterias sobre los primas de germanio transparentes al infrarrojo. Los índices de placa de los prismas tratados con enjuague se compararon después con una línea base (prismas aclarados sólo con solución salina), y se indicaron como porcentaje de reducción de la placa.

Los resultados presentados en la Tabla IX siguiente, comparan los rendimientos de reducción de la placa de las Composiciones de enjuague oral K y L de la presente invención frente a un enjuague comercial denominado Composición M que contenía 0,05% en peso de cloruro de cetil-piridinio pero que no contenía enzimas, y el placebo denominado "Composición N". El porcentaje de reducción de la placa del enjuague con un alto contenido de agua, enjuague L, era 17% mejor que el enjuague K. Los resultados indican que existe una mayor mejora en la liberación de compuestos activos a la superficie de la placa con una fórmula con alto contenido en agua menos viscosa aunque ambos enjuagues eran efectivos para reducir la placa a un nivel mayor que el de la Composición M de enjuague comercial cuando se comparó con la Composición N de placebo.

Los resultados se presentan en la Tabla IX siguiente

TABLA IX		
Composición	Índice de placa	% de reducción de la placa
K	2,320	20
L	1,832	37
M	2,864	1
N	2,529	13
Enjuagado sólo con solución salina	2,901	--

Inhibición de la formación de placa

Se evaluó la capacidad del enjuague con enzimas para inhibir la formación de placa usando las células del flujo salival, donde el estudio se realizó de forma similar a la descrita anteriormente para la retirada de placa, excepto que los prismas de germanio se trataron previamente con el enjuague durante varios minutos, seguido de un tratamiento posterior de 18 horas con un medio de crecimiento bacteriano para facilitar el crecimiento de una biopelícula de placa sobre la superficie de los prismas. La cantidad de placa formada sobre los prismas (índice de placa) se determinó nuevamente midiendo la absorción total de amida mediante ATR FTIR. El índice de placa de los prismas tratados con enjuague se compara con un placebo, Composición N, y se expresa como porcentaje de inhibición de placa.

La Tabla X compara el porcentaje de inhibición de placa de los enjuagues K y L con respecto al enjuague comercial M que contiene cloruro de cetil-piridinio pero no contiene enzimas, y con el placebo N que era idéntico a la Composición K excepto que no contenía enzimas. Los resultados presentados en la Tabla X indican que la Composición K de enjuague más viscosa, con menor contenido de agua es más efectiva para recubrir la superficie libre de placa, formando una mayor barrera protectora para inhibir la formación de placa que la Composición L.

TABLA X		
Enjuague oral	Índice de placa	% de inhibición de placa
K	0,683	35
L	0,801	24
M	0,968	8
N	1,053	--

Retirada de placa intradental

5 Se demostró la capacidad del enjuague con enzimas para retirar la placa intradental usando un modelo de limpieza in vitro. El modelo implicaba el tratamiento previo de dentaduras postizas con el enjuague, el crecimiento de placa sobre la superficie de la dentadura, seguido del tratamiento posterior de las dentaduras con el enjuague. En este modelo, las dentaduras postizas desmontables se pulieron primero con piedra pómez, se aclararon con agua, y se esterilizaron con etanol durante 10 minutos mediante una máquina de cepillado, con el fin de proporcionar una superficie de dentadura limpia. Luego, las dentaduras se sumergieron en una solución de enjuague y se incubaron durante toda la noche a temperatura ambiente. Después del tratamiento realizado durante la noche, las dentaduras se aclararon con agua y se sumergieron en un medio de crecimiento bacteriano durante 6 horas a 37°C. Finalmente, los modelos se aclararon brevemente con agua, seguido de aclarado breve con fórmulas de enjuague bucal. Las dentaduras luego se revelaron con solución reveladora durante 30 segundos, se aclararon brevemente con agua, y luego se valoraron con una puntuación de placa determinada usando el método Quieglely Hein Plaque.

15 El enjuague con un alto contenido en agua, Composición L se ensayó en el modelo de limpieza in vitro. Los resultados presentados en la Tabla XI indican que, en comparación con el enjuague comercial M que contenía cloruro de cetil-piridinio pero que no contenía enzimas y el enjuague placebo N, el enjuague con enzimas L redujo de manera significativa tanto la placa total como la interproximal un 67% lo que demuestra que la Composición L no sólo reduce de forma efectiva la placa proximal, sino que también es efectiva en limpiar las regiones interproximales, demostrando una acción de "tipo seda dental".

TABLA XI				
PLACA INTERDENTAL				
Enguague oral	Índice de placa (interproximal)	índice de placa (Total)	% de recucción de placa total	% de reducción de placa interproximal
L	1,00	1,50	67	67
M	3,00	4,58	--	--
N	3,00	4,58	--	--

20

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Una composición para el cuidado oral que tiene una estabilidad y efectividad antiplaca mejoradas, que comprende un vehículo oralmente aceptable que contiene una combinación de una enzima, cloruro de cetil-piridinio y un agente reductor, en el que el agente reductor es o bien estannato potásico ó sulfato amónico, y en el que el agente reductor estabiliza dicha enzima frente a la oxidación.
- 2.- La composición de la reivindicación 1, en la que la enzima es una enzima proteolítica, o glucoamilasa.
- 3.- La composición de la reivindicación 2, en la que la enzima proteolítica es papaína.
- 4.- La composición de la reivindicación 2 ó 3, en la que la papaína está presente en la composición en una concentración de 0,1 a 5,0% en peso de dicha composición.
- 10 5.- La composición de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el clorurote cetil-piridinio está presente en la composición en una concentración de 0,005 a 2% en peso.
- 6.- La composición de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el agente reductor está presente en la composición en una concentración de 0,05 a 2,0% en peso de la composición.
- 15 7.- La composición de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicha composición es un dentífrico o un enjuague bucal.
- 8.- La composición de la reivindicación 7, en la que dicha composición es un dentífrico espesado con un polímero de celulosa.
- 9.- La composición de la reivindicación 8, en la que el polímero de celulosa es carboximetil-celulosa.
- 20 10.- La composición de la reivindicación 7, en la que el enjuague bucal tiene una concentración de agua superior a 45% en peso de agua.
- 11.- La composición de la reivindicación 10, en la que la concentración de agua es de 50 a 85% en peso.
- 25 12.- Un método para la preparación de una composición acuosa para el cuidado oral que contiene un compuesto de enzima estable, que comprende disolver primero la enzima en una solución acuosa de cloruro de cetil-piridinio y un agente reductor, en la que el agente reductor es o bien estannato potásico o sulfato amónico, y en la que el agente reductor estabiliza dicha enzima frente a la oxidación o, preparar una mezcla previa y luego añadir dicha mezcla previa al vehículo de la composición para el cuidado oral.
- 13.-El método de la reivindicación 12, en el que la enzima está presente en la mezcla previa en una concentración de 0,1 a 10% en peso.
- 14.- El método de la reivindicación 12, en el que la enzima es glucoamilasa o papaína.
- 30 15.- El método de la reivindicación 12, en el que el agente reductor está presente en la composición para el cuidado oral en una concentración de 0,05 a 3% en peso.