

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 687**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/49** (2006.01)

**A61Q 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07766319 .3**

96 Fecha de presentación: **20.07.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2043592**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.04.2009**

54 Título: **Combinaciones para composiciones orales, su preparación y su utilización**

30 Prioridad:  
**20.07.2006 GB 0614353**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**11.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**11.07.2012**

73 Titular/es:  
**ORALDENT LIMITED  
UNIT 11 HARVARD INDUSTRIAL ESTATE  
KIMBOLTON  
CAMBRIDGESHIRE PE28 0NJ, GB y  
RICERFARMA SRL**

72 Inventor/es:  
**RIPLEY, Ian y  
THOMAS, H**

74 Agente/Representante:  
**Curell Aguilá, Mireia**

ES 2 384 687 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

Combinaciones para composiciones orales, su preparación y su utilización.

5 La presente invención se refiere a composiciones que contienen flavonoides y que comprenden una sal sódica de ácido hialurónico de peso molecular elevado para su utilización en la preparación de composiciones tales como cremas, geles, pastas de dientes, enjuagues dentales o lavados bucales. Particularmente, se refiere a composiciones, preferentemente orales, que comprenden una solución madre antibacteriana de bioflavonoides combinada con una sal sódica de ácido hialurónico de peso molecular elevado, a su preparación y a su utilización.

10 Son conocidas algunas composiciones que comprenden flavonoides con actividad antimicrobiana, particularmente antibacteriana y especialmente antivírica. Sin embargo, el término "flavonoide" comprende una gran variedad de compuestos diferentes que se pueden obtener por extracción de diversas fuentes naturales. En función de la fuente y de la naturaleza o el método de extracción, la composición química de la mezcla de flavonoides resultante puede variar mucho. La actividad biológica de los flavonoides individuales puede variar mucho (o pueden estar inactivos) en términos de toxicidad y de eficacia contra microbios tales como virus y bacterias. Por lo tanto, la actividad biológica de dichos flavonoides una vez combinados también puede variar.

20 Se ha puesto de manifiesto que la actividad biológica de determinadas combinaciones de flavonoides se puede aumentar, facilitar o incrementar de forma sinérgica mediante la adición de otros agentes a la composición de flavonoides. Por consiguiente, se ha dedicado mucho esfuerzo a encontrar una combinación adecuada de flavonoides, con o sin la adición de otro agente o agentes, que tenga la eficacia deseada contra determinados microbios pero cuya utilización no presente efectos tóxicos o desventajosos de otro tipo. Un ejemplo de una combinación de este tipo consiste en una combinación de extractos de naranja, conocidos como bioflavonoides, y ácidos frutales naturales, tal como la vitamina C, que se utiliza en la industria avícola para eliminar los microbios relacionados con los alimentos, tales como *E. coli* y *Salmonella*.

30 Sin embargo, hasta la presente invención no se ha propuesto la utilización de una combinación de bioflavonoide derivado de la naranja y ácido frutal en formulaciones destinadas a la higiene personal, por ejemplo de uso oral. Particularmente, las combinaciones conocidas son demasiado ácidas para su uso oral. Además, aunque se ha propuesto la utilización de flavonoides en composiciones como pastas de dientes y lavado bucal, no se han especificado sus componentes flavonoides y/o se han limitado a determinados flavonoides. Por ejemplo, la memoria de patente nº WO 02/47615 da a conocer una composición oral que comprende un vehículo organolépticamente adecuado y un terpenoide y/o un flavonoide dispersados en dicho vehículo; el documento DE-19949575 da a conocer una combinación de fluoruros y flavonoides para el tratamiento de trastornos dentales y la prevención de la caries; el documento WO 06/09210 da a conocer composiciones orales que contienen un flavonoide de anillo B libre, un flavano y un agente potenciador de la biodisponibilidad; el documento US 2.888.381 da a conocer composiciones que comprenden soluciones de compuestos bioflavonoides cítricos; el documento US 2002/155163 da a conocer combinaciones de vitaminas y minerales integradas que comprenden, entre muchos otros ingredientes, un complejo de bioflavonoide cítrico y un complejo de hesperidina para su utilización en el tratamiento complementario de las personas con asma; el documento WO 03/97078 da a conocer composiciones nutricéuticas que comprenden alcaloides cítricos; el documento WO 03/39452 da a conocer suplementos nutricionales para la prevención, reducción y tratamiento de las lesiones por radiación. Las composiciones pueden incluir además ingredientes opcionales, tales como flavonoides; el documento JP62051613 se refiere a una composición dentífrica que contiene entre el 0,001 y el 0,1% en peso de compuesto o compuestos flavonoides seleccionados entre flavonoles, crisina, hesperetina y hesperidina.

50 Ninguna de las formulaciones según la técnica anterior se refiere a una combinación de una composición de bioflavonoides (que a su vez comprende una combinación determinada de componentes flavonoides solubles en agua) y uno o más ácidos frutales solubles en agua en una cantidad y una forma adecuadas para la administración oral como solución y que presenta actividad antibacteriana.

55 El ácido hialurónico es el ácido mucopolisacárido no sulfurado de la materia fundamental del tejido conjuntivo más importante desde el punto de vista estrictamente bioquímico y desde el punto de vista fisiológico. En el ser humano, el ácido hialurónico está presente no sólo en el tejido conjuntivo, sino también en los líquidos biológicos importantes, tales como el humor vítreo, el humor acuoso, etc., y en el cordón umbilical. Tiene una toxicidad prácticamente nula y no se conocen contraindicaciones específicas para su uso en humanos.

60 Como otros componentes de sustancias naturales, el ácido hialurónico se puede obtener por extracción a partir de las correspondientes sustancias naturales, por ejemplo crestas de pollo, o por biotecnología. El ácido hialurónico presenta una amplia variedad de pesos moleculares, que pueden estar comprendidos entre 30.000 y más de 15.000.000, en función del tipo de procedimiento utilizado. Dicho ácido se ha venido utilizando durante un tiempo en forma de sal sódica tanto en procesos terapéuticos para el ser humano como en tratamientos cosméticos.

65 En este contexto, la aplicación exógena de ácido hialurónico tiene un efecto beneficioso porque favorece la organización conjuntiva y, además, actúa contra el proceso inflamatorio inducido por los gérmenes productores de la

hialuronidasa; facilita la descomposición de los componentes inflamatorios, reduce la permeabilidad capilar anormal, acelera los procesos de reparación de tejidos y ejerce una acción antiedematógena mediante la unión metabólica de agua libre a sus estructuras moleculares. Las indicaciones terapéuticas del ácido hialurónico son numerosas, e incluyen dermatopatías por abrasión o excoりación, úlceras derivadas de vasculopatías arterioscleróticas, úlceras varicosas, retardos en la cicatrización y extirpaciones quirúrgicas.

En el documento EP 0.444.492 A1 se da a conocer que el ácido hialurónico en forma de sal sódica y caracterizado por un peso molecular comprendido entre 800.000 y 4.000.000, preferentemente entre 1.000.000 y 2.000.000, se puede utilizar como principio activo en la preparación de composiciones farmacéuticas de administración tópica en el tratamiento y la profilaxis de afecciones inflamatorias de la cavidad bucal y para el tratamiento cosmético y la higiene de la misma.

Los intentos de preparar formulaciones, particularmente orales, que comprendan ácido hialurónico y otros agentes antibacterianos, tales como clorhexidina, han fracasado porque las formulaciones resultantes son inestables. En algunas combinaciones es necesario utilizar alcohol para preparar la formulación, lo que en general no resulta deseable. Se ha descubierto que las combinaciones de ácido hialurónico en forma de sal sódica con bioflavonoides se pueden formular para su aplicación tópica, preferentemente oral, y, particularmente, dichas composiciones no requieren alcohol.

Sin pretender vincularse a ninguna teoría en particular, se cree que la mezcla de bioflavonoides elimina bacterias y virus, dando lugar a un entorno óptimo para que el ácido hialurónico mejore y acelere la velocidad de curación de los tejidos mucosos y otros tejidos inflamados. Ventajosamente, todos los ingredientes se obtienen de forma natural y no se utilizan sustancias químicas fuertes o sintéticas en las preparaciones.

De este modo, la presente invención da a conocer una composición con un pH comprendido entre 3 y 8,5, preferentemente entre 3,5 y 8, preferentemente entre 4 y 7, más preferentemente entre 5 y 6,5, que comprende:

(a) una cantidad comprendida entre el 0,1% y < 10% p/p, sobre la base del peso total de la composición, de una solución madre que comprende entre el 0,45 y el 9% de una mezcla de bioflavonoides, en la que más del 75% de dichos bioflavonoides son naringina y neohesperidina, y ácidos frutales o sales de los mismos;

(b) hialuronato de sodio; y

(c) agua; y, opcionalmente,

(d) un vehículo farmacéuticamente aceptable para los mismos;

en la que el hialuronato de sodio tiene un peso molecular promedio comprendido entre 800.000 y 4.000.000; y

que puede comprender uno u otros ingredientes farmacéuticamente o farmacológicamente aceptables adecuados para la administración, preferentemente oral.

El peso molecular del hialuronato de sodio está comprendido entre 800.000 y 4.000.000, y de la forma más preferente entre 1.000.000 y 2.000.000, por ejemplo 1.500.000. Generalmente, las composiciones según la presente invención contienen entre el 0,005% y el 10% p/p, relativo al peso total de la composición, de hialuronato de sodio.

Generalmente, las composiciones según la presente invención para uso terapéutico contienen entre el 0,2 y el 10% p/p, relativo al peso total de la composición, y preferentemente entre el 0,2 y el 1% p/p, de hialuronato de sodio, por ejemplo el 0,4, el 0,6 o el 0,8%.

Las composiciones según la presente invención para el cuidado profiláctico, cosmético e higiénico de la cavidad bucal contienen entre el 0,005 y el 0,1% p/p, relativo al peso total de la composición oral, de hialuronato de sodio, por ejemplo el 0,01, el 0,02, el 0,05 o el 0,08%, y de la forma más preferente contienen el 0,01% p/p de hialuronato de sodio.

Preferentemente, la composición comprende en el intervalo de 0,1 y el 5% p/p de solución madre, más preferentemente entre el 0,1 y el 2% p/p, por ejemplo aproximadamente el 1%. De forma adecuada, la composición comprende entre el 20 y el 80% p/p de agua, más hacia el límite inferior de dicho intervalo si se trata de una pasta de dientes y más hacia el límite superior del mismo si se trata de una composición líquida, tal como un lavado/enjuague/spray bucal. Por ejemplo, una pasta puede comprender entre el 20 y el 45% p/p de agua, por ejemplo entre el 20 y el 30% p/p, particularmente si se incluye sílice en el componente (d), y una formulación líquida puede comprender entre el 60 y el 80% p/p de agua ( todos los p/p están basados en el peso total de la composición).

Resulta particularmente preferido que la solución madre se pueda preparar a partir de bioflavonoides solubles en agua combinados con un ácido frutal, tal como los ácidos cítrico, málico y ascórbico. Uno o más de los ácidos se

neutralizan preferentemente con una base adecuada, tal como una base de amonio cuaternario, por ejemplo una base de colina, tal como carbonato, bicarbonato o, preferentemente, hidróxido de colina. Más preferentemente, se utilizan conjuntamente ácido cítrico, málico y ascórbico en la preparación de la composición, y resulta particularmente preferente neutralizarlos todos completamente a fin de obtener las sales de citrato, malato y/o ascorbato. Resulta particularmente preferido el ascorbato de colina. De este modo, resulta preferente que la solución madre no contenga prácticamente ácidos frutales, lo que significa que su pH es aproximadamente neutro. Los intervalos de pH ejemplificativos para la solución madre son los valores comprendidos entre el 3 y el 8,5, entre el 3,5 y el 8,5, entre el 3,5 y el 8, entre el 4 y el 8, entre el 4 y el 7,5, entre el 4,5 y el 7,5, entre el 4,5 y el 7, entre el 5 y el 7, entre el 5 y el 6,5, entre el 5,5 y el 6,5 y entre el 5,5 y el 6, siendo por ejemplo dicho pH de aproximadamente 5, aproximadamente 5,5, aproximadamente 6, aproximadamente 6,5 o aproximadamente 7.

Sin pretender vincularse a ninguna teoría en particular, se cree que los ácidos frutales, además de tener un efecto quelante en agua dura, tienen un efecto sinérgico en la actividad biológica de los agentes activos, por ejemplo los bioflavonoides y el ascorbato de colina. De este modo, una solución madre preferente comprende bioflavonoides solubles en agua y ascorbato de colina (presente en forma de base de colina (por ejemplo, hidróxido) y ácido ascórbico, o en forma de la propia sal).

Preferentemente, la solución madre comprende además un disolvente no tóxico, tal como un disolvente miscible en agua o hidrófilo, y más preferentemente comprende agua y un codisolvente miscible en agua, tal como glicerina, un polialcohol o similares. Resulta particularmente preferido que el disolvente comprenda una mezcla de agua/glicerina, preferentemente en una relación comprendida entre 2:1 y 1:2 (agua:codisolvente). Más preferentemente, los componentes (c) y (d) (el resto comprende agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos) no contienen alcohol, particularmente etanol.

De este modo, la solución madre se puede preparar preferentemente a partir de:

Ingrediente	% (p/p) de ingrediente en la solución madre
Mezcla de bioflavonoides (45% de biomasa)	de 1 a 20, preferentemente de 2 a 15, más preferentemente de 3 a 15, por ejemplo 3, 4, o 15, de la forma más preferente 3,3.
Ácido cítrico	de 1 a 20, preferentemente de 4 a 15, por ejemplo 4, 5, 10 o 15, de la forma más preferente 4,5.
Ácido málico	de 1 a 20, preferentemente de 4 a 15, por ejemplo 4, 5, 10 o 15, de la forma más preferente 4,5.
Ácido ascórbico (vitamina C) *	de 1 a 20, preferentemente de 1 a 5*, por ejemplo 1, 2, 3, 4 o 5, de la forma más preferente 1,5.
Solución de hidróxido de colina (45% de agua)*	de 1 a 45, preferentemente de 4 a 20*, por ejemplo 5, 8, 10, 12, 15 o 18.
Glicerina/agua u otro disolvente o disolventes	el resto, q.v. hasta el 100%, preferentemente de 5 a 50*, por ejemplo 7, 10 o 15, de la forma más preferente 7,5.

\*El ácido ascórbico y el hidróxido de colina (u otra base de colina) se pueden sustituir por ascorbato de colina incrementando adecuadamente las cantidades de glicerina y agua (o disolvente o disolventes alternativos). Resulta preferente que el disolvente comprenda aproximadamente el mismo % de glicerina y agua, por ejemplo comprendido entre el 5 y el 25% cada uno de ellos, por ejemplo el 15% de glicerina y el 20% de agua (cuando la colina está presente en forma de solución de hidróxido), o por ejemplo del 25% de glicerina y el 25% de agua (cuando la colina y el ácido ascórbico están presentes en forma de ascorbato de colina al 5%).

De este modo, las composiciones según la presente invención se pueden preparar preferentemente (en cantidades relativas al peso de la composición) a partir de:

(a) (i) entre el 0,0002 y el 1,5% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa, que preferentemente contribuye en una cantidad adicional comprendida entre el 0,00024 y el 1,83% p/p];

(ii) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido cítrico;

(iii) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido málico;

(iv) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido ascórbico;

(v) entre el 0,00045 y el 2,03% p/p de base de colina; y

(b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

Más preferentemente, las composiciones según la presente invención se pueden preparar (en cantidades sobre la base del peso de la composición) a partir de:

(a) (i) entre el 0,00045 y el 0,9% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa, que preferentemente contribuye en una cantidad adicional comprendida entre el 0,00055 y el 1,1% p/p];

5 (ii) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido cítrico;

(iii) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido málico;

10 (iv) entre el 0,001 y el 2,0% p/p de ácido ascórbico;

(v) entre el 0,00045 y el 2,03% p/p de base de colina; y

(b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

15 En consecuencia, dado que las soluciones madre de la presente invención se pueden preparar más preferentemente a partir de los porcentajes indicados en la tabla anterior, las composiciones según la presente invención se pueden preparar más preferentemente a partir de:

20 (a) (i) entre el 0,000675 y el 0,675% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa];

(ii) entre el 0,015 y el 1,5% p/p de ácido cítrico;

25 (iii) entre el 0,015 y el 1,5% p/p de ácido málico;

(iv) entre el 0,005 y el 0,5% p/p de ácido ascórbico;

(v) entre el 0,015 y el 0,9% p/p de base de colina; y

30 (b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

35 Dado que las composiciones preferidas según la presente invención comprenden del orden del 1% p/p de la solución madre, en una forma de realización, las composiciones preferidas según la presente invención se pueden preparar a partir de:

(a) (i) del orden del 0,0675% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa];

40 (ii) del orden del 0,15% p/p de ácido cítrico;

(iii) del orden del 0,15% p/p de ácido málico;

(iv) del orden del 0,05% p/p de ácido ascórbico;

45 (v) del orden del 0,09% p/p de base de colina; y

(b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

50 En otra forma de realización, las composiciones más preferidas según la presente invención se pueden preparar a partir de:

(a) (i) del orden del 0,01485% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa];

55 (ii) del orden del 0,045% p/p de ácido cítrico;

(iii) del orden del 0,045% p/p de ácido málico;

60 (iv) del orden del 0,015% p/p de ácido ascórbico; y

(b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

65 En otra forma de realización, las composiciones más preferidas según la presente invención se pueden preparar a partir de:

(a) (i) del orden del 0,01485% p/p de bioflavonoides [excluida la biomasa];

(ii) del orden del 0,045% p/p de ácido cítrico;

70 (iii) del orden del 0,045% p/p de ácido málico;

(iv) del orden del 0,06% p/p de ascorbato de colina; y

5 (b), (c) y (d), con el resto comprendiendo agua, codisolvente o codisolventes y excipiente o excipientes y/o vehículo o vehículos.

Preferentemente, las composiciones según la presente invención son composiciones tópicas. Todas las composiciones a las que se hace referencia en la presente memoria se presentan en una forma adecuada para su administración tópica.

10 Más preferentemente, las composiciones según la presente invención son composiciones orales. Todas las composiciones a las que se hace referencia en la presente memoria se presentan más preferentemente en una forma adecuada para su administración tópica.

15 La solución madre se prepara mediante procedimientos conocidos por los expertos en la materia. Preferentemente, los codisolventes se mezclan con el agua a temperatura ambiente y a continuación se mezclan con el disolvente los ácidos que intervienen en los procesos de neutralización, como el ácido ascórbico, a una temperatura elevada que se mantiene lo suficientemente baja para asegurar que ningún ingrediente se degrade. En el caso de l ácido ascórbico, que se descompone térmicamente por encima de aproximadamente 55°C, la temperatura se mantiene aproximadamente entre 25 y menos de 55°C, y preferentemente se encuentra al rededor de los 50°C. Preferentemente, la neutralización comprende la adición de hidróxido de colina al ácido ascórbico en la mezcla (pH inicial = 1,2, pH final = 5,5 a 6,0), o se puede incorporar directamente ascorbato de colina (es decir, con el ácido ascórbico ya neutralizado).

25 A continuación, se incorporan los ácidos restantes (preferentemente, cítrico y málico), seguidos por los bioflavonoides, lo que da lugar a una solución con un pH comprendido aproximadamente entre 2,0 y 6,5, aunque típicamente está comprendido aproximadamente entre 2,2 y 3,5, particularmente entre 2,3 y 3,0. Los ácidos sin neutralizar restantes también se neutralizan esencialmente, por ejemplo con hidróxido de colina, a fin de obtener una solución esencialmente neutra con un pH comprendido, por ejemplo, entre 5 y 8,5, preferentemente entre 5,5 y 7, más preferentemente entre 5,5 y 6,5.

35 El efecto antimicrobiano indicado para las formulaciones según la técnica anterior que comprenden un bioflavonoide se basa en la inhibición por parte de dicho bioflavonoide de la absorción de aminoácidos esenciales en la membrana citoplasmática microbiana, por ejemplo mediante la inhibición de la neuramidasa de los virus. Sin embargo, se cree que las formulaciones según la presente invención son eficaces porque la combinación de los bioflavonoides solubles seleccionados con ascorbato de colina da lugar a la encapsulación del microbio, la descomposición de los componentes flavonoides y glucósidos en fragmentos independientes y la posterior desactivación del microbio por parte de los fragmentos flavonoides y el ascorbato de colina.

40 Preferentemente, la mezcla de bioflavonoides comprende bioflavonoides solubles en agua junto con biomasa procedente del proceso de extracción; de este modo, la mezcla de bioflavonoides puede estar asociada con una cantidad comprendida entre el 40 y el 60% p/p, preferentemente de aproximadamente el 55% p/p, de biomasa (sobre la base del peso de la mezcla de bioflavonoides). Preferentemente, los bioflavonoides son glucósidos, seleccionándose particularmente entre isocriocirina, isonaringina, naringina, hesperidina, neohesperidina, neodiosmina, naringenina, poncirina y rhiofolen, y más preferentemente todos ellos están presentes en la mezcla. La mayor parte de la mezcla de bioflavonoides comprende naringina y neohesperidina, comprendiendo más del 75% del componente bioflavonoide (excluida la biomasa). Adecuadamente, otros bioflavonoides (tales como flavonoles, crisina, hesperetina) no están esencialmente presentes en la mezcla de bioflavonoides y, por lo tanto, el componente bioflavonoide consiste esencialmente en los bioflavonoides solubles en agua mencionados anteriormente, aunque pueden estar presentes trazas de otros bioflavonoides. Resulta particularmente preferido que los bioflavonoides solubles en agua comprendan los siguientes porcentajes (en peso de bioflavonoide en el componente bioflavonoide total):

Bioflavonoide	% del componente bioflavonoide total
Isocriocirina	2,4
Isonaringina	2,7
Naringina	52,0
Hesperidina	3,1
Neohesperidina	27,8
Neodiosmina	3,1
Naringenina	3,4
Poncirina	4,4
Rhiofolen	1,1
Total	100%

En la presente memoria, una fuente adecuada de una mezcla de bioflavonoides solubles en agua de este tipo se denomina "HPLC 45", cuyo aproximadamente 45% (de la composición total HPLC 45) comprende dichos bioflavonoides, comprendiendo el resto (aproximadamente el 55%) biomasa, tal como pectinas, sacáridos y ácidos orgánicos menores. Tal como se ha mencionado anteriormente, resulta particularmente preferido que la mayor parte de la mezcla de bioflavonoides comprenda naringina y neohesperidina, por ejemplo estando presentes en una cantidad mayor del 35% del componente bioflavonoide en una mezcla con biomasa, por ejemplo HPLC 45. De este modo, preferentemente están presentes los siguientes bioflavonoides en los siguientes porcentajes relativos al peso de la composición total HPLC 45:

Bioflavonoide	% en HPLC 45 (componente bioflavonoide + biomasa)
Isocriocirina	1,1
Isonaringina	1,2
Naringina	23,4
Hesperidina	1,4
Neohesperidina	12,5
Neodiosmina	1,4
Naringenina	1,5
Poncirina	2,0
Rhiofolen	0,5
Total	45% de HPLC 45

La mezcla HPLC 45 está comercializada por Exquim (la rama alimenticia del Grupo Ferrer) como complejo de bioflavonoides cítricos 45% HPLC. Se obtiene a partir de una materia prima compuesta por la corteza blanca de naranjas amargas inmaduras (carne de color rojo/sangre), tales como naranjas de Sevilla clasificadas como "no comestibles" de las que se han eliminado mayormente las pepitas, la carne y la piel grasa, o que permanecen sin desarrollar. Esta materia prima se tritura en un disolvente iónico hidrófilo, tal como agua o mezclas de agua y alcohol, preferentemente de agua y etanol en una relación de aproximadamente 1:10-20 (disolvente: materia prima). La mezcla resultante se filtra para obtener una biomasa soluble en agua, que se reserva, y una biomasa insoluble, que se descarta. A continuación, la biomasa soluble en agua se somete a filtración fina, tras lo cual se somete a destilación súbita para obtener un polvo higroscópico de color marrón (HPLC 45).

Preferentemente, la mezcla de bioflavonoides para su utilización en las composiciones según la presente invención se distingue particularmente por que comprende glucósidos solubles en agua de la mezcla obtenida a partir de pomelo u otros cítricos u otras fuentes vegetales, que comprenden flavonoides insolubles en agua; y, más preferentemente, se distingue de la mezcla obtenida cuando en la materia prima están presentes cantidades sustanciales de semillas, pulpa y/o carne de dichas frutas, que comprenden particularmente componentes insolubles en agua. Además, es más probable que la materia prima más desarrollada/madura según la técnica anterior haya sido sometida a pesticidas y/o fertilizantes sintéticos, y por lo tanto es menos "orgánica" o pura en su origen que la mezcla de bioflavonoides de las soluciones según la presente invención.

Preferentemente, la solución madre comprende del 1 al 20%, preferentemente del 2 al 15%, más preferentemente del 3 al 15%, por ejemplo el 3, el 4 o el 15%, de la forma más preferente el 3,3% p/p de la HPLC 45. De este modo, la solución madre comprende del 0,45 al 9%, preferentemente del 0,9 al 6,75%, más preferentemente del 1,35 al 6,75%, por ejemplo el 1,35, el 1,8 o el 6,75%, de la forma más preferente el 1,485% p/p de la mezcla de bioflavonoides.

Preferentemente, la composición según la invención y, particularmente en ausencia de otros ingredientes excepto el agua, la solución madre, tiene un pH comprendido entre 3 y 8,5, más preferentemente entre 4 y 7,5, por ejemplo entre 5 y 7; resulta particularmente preferente un pH comprendido entre 5,5 y 6,5. Por lo tanto, de la forma más preferente, la composición no contiene sustancialmente iones hidrógeno, por ejemplo procedentes de los ácidos frutales, ya que se han neutralizado esencialmente los ácidos frutales utilizados en la preparación de la solución madre y/o la composición, preferentemente, tal como se ha descrito anteriormente, mediante la adición de una base a la solución madre. Por otro lado, cuando la composición comprende además un agente de tamponación, el pH de la solución madre puede variar fuera de estos intervalos, siempre que dicho agente de tamponación esté presente en una cantidad eficaz para proporcionar a la composición un pH comprendido dentro de dichos intervalos.

De este modo, el componente (d) de las composiciones según la presente invención puede comprender un agente de tamponación para regular o ajustar el pH de la composición final, tal como un hidróxido de metal alcalino o hidróxido de amonio o un fosfato monobásico, dibásico o tribásico, por ejemplo un fosfato de tri(metal alcalino). Dado que la cantidad de hidróxido es más difícil de medir que la de fosfato dibásico, resulta preferido utilizar fosfatos monobásicos y dibásicos. Otra alternativa consiste en utilizar una combinación de ácido fosfórico con un fosfato dibásico o tribásico, tal como de tri(metal alcalino). Los fosfatos se incorporan preferentemente en forma de sus sales de sodio, potasio o amonio; más preferentemente, se utilizan sales de sodio. Sin embargo, en los casos en los que se quieran evitar los efectos hipertensivos de los iones de sodio, se pueden utilizar los fosfatos de monopotasio

y dipotasio. Si el agente de tamponación es fosfato disódico, por ejemplo, el mismo puede estar presente en una cantidad de hasta aproximadamente el 5% p/p de la composición, preferentemente dentro del intervalo comprendido entre el 0 y el 0,5%, siendo por ejemplo de aproximadamente el 0,05% p/p.

5 Otro ingrediente opcional, el componente (d), puede comprender una fuente de fluoruro, tal como fluoruro de sodio o monofluorofosfato de sodio, en una cantidad de hasta aproximadamente el 0,5% p/p de las composiciones según la invención. La fuente de fluoruro está presente preferentemente en una cantidad comprendida entre el 0 y el 0,15%, por ejemplo de aproximadamente el 0,05% p/p en las composiciones líquidas, aunque más en las pastas de dientes, donde resulta adecuada una cantidad comprendida entre el 0 y el 0,3%, por ejemplo de aproximadamente el 0,24% p/p, o comprendida entre 0 y 1.500 ppm (en iones fluoruro).

15 En las composiciones según la invención pueden estar presentes otros aditivos, tales como agentes aromatizantes, edulcorantes o colorantes, o bien conservantes. Son ejemplos de agentes aromatizantes adecuados la menta, por ejemplo derivada de menta piperita o de hierbabuena, la canela, el eucalipto, los cítricos, la casia, el anís y el mentol. Los agentes aromatizantes están presentes en las composiciones orales preferentemente en una cantidad comprendida entre el 0 y el 3%; preferentemente de hasta el 2%, por ejemplo de hasta el 0,5%, preferentemente de aproximadamente el 0,2%, en las composiciones líquidas; aunque, opcionalmente, en una cantidad mayor en las pastas de dientes, preferentemente entre el 0,5 y el 2%, más preferentemente de aproximadamente el 1% p/p. Los edulcorantes incluyen agentes edulcorantes artificiales o naturales, tales como la sacarina de sodio, que pueden estar presentes en una cantidad comprendida entre el 0 y el 2%, preferentemente de hasta el 1% p/p, por ejemplo entre el 0,05 y el 0,3% p/p de la composición oral. Los agentes colorantes son colores naturales o sintéticos adecuados, tales como dióxido de titanio o CI 42090, o mezclas de los mismos. Los agentes colorantes están presentes en las composiciones preferentemente en una cantidad comprendida entre el 0 y el 3%; preferentemente de hasta el 0,1%, por ejemplo de hasta el 0,05%, preferentemente de aproximadamente el 0,005-0,0005%, en las composiciones líquidas; aunque, opcionalmente, en una cantidad mayor en las pastas de dientes, preferentemente de hasta el 1%, más preferentemente de aproximadamente el 0,5% p/p. Entre los conservantes habituales, resulta preferido el benzoato de sodio en concentraciones esencialmente insuficientes para alterar el pH de la composición; de lo contrario, puede ser necesario ajustar la cantidad de agente de tamponación a fin de alcanzar el pH deseado.

20 Otros ingredientes opcionales del componente (d) pueden ser otros agentes activos tales como agentes antiplaca y/o agentes antimicrobianos. Entre los agentes adecuados se incluyen compuestos de amonio cuaternario tales como bromuro de dimetilo, cloruro de cetilpiridinio (CPC), compuestos fenólicos, etanol y los conservantes mencionados anteriormente. Dichos agentes activos pueden estar presentes en una cantidad comprendida entre el 0 y el 4% p/p, pero pueden llegar al 70%, por ejemplo al 30%, en el caso del etanol. Por ejemplo, el CPC o similar está presente preferentemente en una cantidad de hasta el 2%, por ejemplo de aproximadamente el 0,05% p/p, particularmente en las composiciones líquidas según la presente invención. El etanol puede constituir hasta el 70%, preferentemente entre aproximadamente el 0 y el 30% p/p, en las composiciones líquidas de la invención, por ejemplo aproximadamente el 15% p/p en un spray bucal, pero son composiciones preferidas según la invención, particularmente las composiciones orales, aquellas en las que no se encuentra esencialmente presente el etanol ni ningún otro alcohol.

40 Otros ingredientes opcionales del componente (d) pueden ser agentes humectantes, tensioactivos (no iónicos, catiónicos o anfóteros), espesantes, gomas y aglutinantes. Los agentes humectantes adecuados incluyen glicerina, xilitol, glicerol y glicoles como el propilenglicol, que pueden estar presentes en una cantidad de hasta el 50% p/p cada uno de ellos, aunque preferentemente la cantidad total de humectante no es mayor de aproximadamente el 60-80% p/p de la composición. Por ejemplo, las composiciones líquidas pueden comprender hasta aproximadamente el 30% de glicerina más hasta aproximadamente el 5%, preferentemente aproximadamente el 2% p/p, de xilitol. Preferentemente, los tensioactivos son no aniónicos y pueden ser polisorbato 20 o cocoamidobetaína o similares en una cantidad de hasta aproximadamente el 6%, preferentemente comprendida entre el 1,5 y el 3% p/p de la composición.

45 Cuando las composiciones orales según la invención se presentan en forma de spray bucal, resulta preferente incluir un agente formador de película en una cantidad de hasta aproximadamente el 3% p/p de la composición oral, tal como comprendida entre el 0 y el 0,1%, preferentemente entre aproximadamente el 0,001 y el 0,01% tal como aproximadamente 0,005% p/p de la composición oral. Los formadores de película adecuados incluyen (además del hialuronato de sodio) los comercializados con el nombre comercial Gantrez.

50 Cuando las composiciones orales según la invención se presentan en forma de pasta de dientes, resulta preferido incluir gomas, aglutinantes y/o espesantes, tales como sílice coloidal, carragenina y derivados de la celulosa como la carboximetilcelulosa de sodio. Dichos ingredientes pueden estar presentes en una cantidad de hasta aproximadamente el 3% p/p de la composición oral, por ejemplo hasta aproximadamente el 2%, preferentemente entre aproximadamente el 0,5 y el 1% p/p de la composición oral.

55 Las composiciones de pasta de dientes según la presente invención también pueden comprender un agente abrasivo, tal como sílice hidratada, fosfato dicálcico o metafosfatos de metales alcalinos insolubles en agua, en una

cantidad de hasta aproximadamente el 25% p/p, y preferentemente comprendida entre aproximadamente el 10 y aproximadamente el 15% p/p de la composición oral.

Las composiciones según la presente invención se pueden administrar por vía tópica y presentarse en forma de cremas, geles, pastas, pastas de dientes y lavados bucales. En este caso, las composiciones farmacéuticas según la presente invención contienen generalmente excipientes convencionales, por ejemplo polialcoholes como sorbitol y/o maltitol, glicoles como polietilenglicol, espesantes como carboximetilcelulosa, conservantes como paraoxibenzoato de metilo o propilo, agentes aromatizantes como la menta, e dulcorantes como la sacarina y agentes colorantes.

Las composiciones según la presente invención se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica para la formulación de composiciones parecidas, tales como una pasta de dientes, un lavado o enjuague, un spray bucal o similares. Todos los métodos comprenden el mezclado físico íntimo de los componentes (a), (b) y (c) y, si está presente, (d).

Preferentemente, las composiciones se envasan en envases adecuados, por ejemplo tubos de plástico o metálicos, botellas, botes o dispensadores de plástico o de vidrio transparentes, translúcidos u opacos, con o sin pulverizador u otro medio aplicador, junto con instrucciones para su uso. Dicho envase puede estar a su vez envasado en una caja de cartón o recipiente adecuado de otro tipo, y las mismas u otras instrucciones de uso se pueden incluir en dicho envase o imprimirse sobre el mismo; de forma adecuada, dichas instrucciones pueden estar impresas en una hoja o prospecto del envase. Preferentemente, en el envase se enumeran los ingredientes activos de la composición, los principales o todos ellos. Las instrucciones pueden incluir las conocidas por el experto en la materia de las composiciones, particularmente las que corresponden a una aplicación antibacteriana. Así, en ellas se puede recomendar la aplicación de una cantidad de pasta de dientes equivalente a un guisante a la dentadura en intervalos regulares, de 2 a 3 veces diarias; que resulta recomendable enjuagar la cavidad bucal con una bocanada de lavado o enjuague bucal al menos una vez al día y preferentemente después de las comidas; y similares.

Por consiguiente, las composiciones orales de la presente invención pueden resultar útiles para el tratamiento, la prevención o el alivio de los efectos de una infección microbiana de la cavidad bucal, particularmente bacteriana, u otro trastorno periodontal; para la limpieza, desinfección o eliminación de los desechos de la cavidad bucal; para tonificar, refrescar, eliminar o mejorar el olor o el sabor en la cavidad bucal; y para mejorar en general la higiene, el aspecto y la sensación en la cavidad bucal. Así, la presente invención da a conocer además una solución madre que comprende una mezcla de bioflavonoides y ácidos frutales (tal como la mezcla descrita anteriormente) combinada con la sal sódica de ácido hialurónico de peso molecular elevado, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección bacteriana de la cavidad bucal, particularmente bacteriana; particularmente, en la que dicho medicamento contiene una cantidad comprendida entre el 0,1% y el 10% p/p (sobre la base del peso total de la composición oral) de la solución madre. Preferentemente, la presente invención da a conocer (a) una solución madre que comprende una mezcla de bioflavonoides y ácidos frutales junto con (b) hialuronato de sodio; en la que el hialuronato de sodio tiene un peso molecular promedio comprendido entre 80 0.000 y 4.000.000, y (d) otros ingredientes farmacéuticos o farmacológicamente aceptables adecuados para la administración oral (como los que se han descrito anteriormente), en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección microbiana de la cavidad bucal, particularmente bacteriana; particularmente, en la que dicho medicamento comprende una cantidad comprendida entre el 0,1% y el 10% p/p (sobre la base del peso total de la composición oral) de la solución madre.

Las composiciones según la presente invención para uso terapéutico se utilizan ventajosamente para afecciones gingivales caracterizadas por manifestaciones inflamatorias del tejido gingival, tales como gingivitis, estomatitis, irritaciones debidas a causas mecánicas como prótesis fijas o móviles, intervenciones quirúrgicas, etc. Las pastas gingivales según la presente invención también se pueden utilizar durante la etapa de dentición de los niños. Las composiciones orales según la presente invención resultan útiles para el tratamiento de mucositis, aftas, liquen plano, candidosis bucal, gingivitis, periodontitis, alvéolo seco. Las composiciones según la presente invención resultan útiles para el tratamiento de la piel infectada o potencialmente infectada y/o inflamada, por ejemplo acné, quemaduras y heridas.

Las composiciones según la presente invención resultan útiles en el tratamiento o prevención de infecciones, enfermedades o trastornos provocados por las bacterias siguientes: *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. intermedius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Eubacterium nodatum*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *C. albicans* y *C. tropicalis*.

En los ensayos biológicos, se puso de manifiesto que una solución madre (véase el ejemplo 1) utilizada en la preparación de las composiciones de la presente invención era inhibidora de todas las bacterias mencionadas anteriormente en una dilución de 1/10, y las bacterias no estreptocócicas mencionadas anteriormente también se inhibieron en una dilución de 1/100. En los ejemplos siguientes se facilitan otros datos biológicos.

A continuación, se ilustra la presente invención mediante los siguientes ejemplos.

**Ejemplo 1: preparación de la solución madre****(a) Preparación de HPLC 45**

5 La materia prima comprende la corteza blanca de naranjas amargas inmaduras (color sangre/rojo), tales como las naranjas de Sevilla clasificadas como "no comestibles" de las que se han eliminado mayormente las pepitas, la carne y la piel grasa. Dicha materia prima se muele y a continuación se tritura en agua o agua/etanol en una proporción de aproximadamente 1:10-20 (disolvente: materia prima). La mezcla resultante se filtra a fin de obtener una biomasa soluble en agua, que se conserva, y una biomasa insoluble, que se descarta. A continuación, la biomasa soluble en agua se somete a filtración fina, tras lo cual se somete a destilación súbita para obtener un polvo higroscópico de color marrón (HPLC 45). Alternativamente, dicha HPLC 45 se puede obtener a través de Exquim (Grupo Ferrer).

**(b) Composición de bioflavonoides de la HPLC 45**

15 El análisis de la HPLC 45 obtenida en la etapa (a) muestra que el 45% de la composición total de HPLC 45 comprende bioflavonoides, comprendiendo el resto (55%) pectinas, sacáridos y ácidos orgánicos menores. Están presentes los siguientes porcentajes (en peso de los bioflavonoides presentes en la HPLC 45) de los siguientes bioflavonoides:

20

Bioflavonoide	% de bioflavonoide en HPLC 45
Isocriocirina	2,4
Isonaringina	2,7
Naringina	52,0
Hesperidina	3,1
Neohesperidina	27,8
Neodiosmina	3,1
Naringenina	3,4
Poncirina	4,4
Rhiofolen	1,1
Total	100%

Correspondientemente, en peso de la composición total de HPLC 45, están presentes los siguientes bioflavonoides:

Bioflavonoide	% HPLC 45
Isocriocirina	1,1
Isonaringina	1,2
Naringina	23,4
Hesperidina	1,4
Neohesperidina	12,5
Neodiosmina	1,4
Naringenina	1,5
Poncirina	2,0
Rhiofolen	2,8

**(c) Preparación de la solución madre**

25

Ingrediente	% de solución madre
HPLC 45	15
Ácido cítrico	15
Ácido málico	15
Ácido ascórbico (vitamina C)*	5*
Solución de hidróxido de colina (45% de agua)*	15*
Glicerina	15*
Agua	20*
Total	100%

30 El agua, la glicerina y el ácido ascórbico se mezclan a temperatura ambiente y a continuación se aumenta la temperatura a 50°C. Se incorpora hidróxido de colina a fin de neutralizar el ácido ascórbico (pH inicial = 1,2; pH final = 5,5-6,0).

[\*El ácido ascórbico y el hidróxido de colina se pueden sustituir por ascorbato de colina al 5%, aumentándose la cantidad de glicerina y agua al 25% cada una]

A continuación, se añaden los ácidos restantes (cítrico y málico), se guidos de la HPLC 45, obteniéndose una solución madre con un pH comprendido entre 6,2 y 7,2, y que comprende un 6,75% de bioflavonoides (en p/p de la solución madre).

5

**Ejemplo 2A: spray bucal**

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Glicerina	10,000
Etanol	15,000
Xilitol	2,000
Polisorbato 20	1,500
Solución madre, pH ajustado a 6,44	1,000
Aroma	0,200
Sacarina sódica	0,080
Cloruro de cetilpiridinio	0,050
Fosfato disódico ·12H <sub>2</sub> O	0,075
Hialuronato de sodio	0,005
Agua	q.v. hasta el 100%

10 A. Muestra de laboratorio: Se preparó un spray bucal según la presente invención del modo siguiente utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato de sodio en agua con agitación para obtener una solución sin grumos. Se incorpora sacarina de sodio, cloruro de cetilpiridinio, fosfato disódico, xilitol y solución madre y se agita hasta que todos los ingredientes se disuelven completamente. Se añade la glicerina y se mezcla hasta homogeneidad. En un recipiente separado (B) se combinan el polisorbato 20, el aroma y el etanol. Se mezcla hasta que el aroma está totalmente dispersado. Se incorpora el contenido del recipiente (B) al  
15 recipiente (A) con agitación para obtener un líquido homogéneo.

20 B. Método (de preparación) alternativo: Se puede preparar un spray bucal según la presente invención del modo siguiente utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato de sodio en la glicerina. Se añade el agua con agitación a fin de obtener una solución sin grumos. Se añade xilitol, solución madre, sacarina de sodio, cloruro de cetilpiridinio y fosfato disódico, y se agita hasta que se han disuelto completamente todos los ingredientes. En un recipiente separado (B) se combinan el polisorbato 20, el aroma y el etanol. Se mezcla hasta que el aroma está totalmente dispersado. Se incorpora el contenido del recipiente (B) al  
25 recipiente (A) con agitación para obtener un líquido homogéneo.

**Ejemplo 2B: spray bucal**

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Glicerina	10,000
Etanol	15,000
Xilitol	2,000
Polisorbato 20	1,500
Solución madre, pH ajustado a 6,44	1,000
Aroma	0,200
Sacarina sódica	0,080
Cloruro de cetilpiridinio	0,050
Fosfato disódico ·12H <sub>2</sub> O	0,075
Hialuronato de sodio (peso molecular promedio 1.500.000)	0,01
Agua	q.v. hasta el 100%

Se puede preparar un spray bucal según la presente invención como se ha descrito utilizando los ingredientes mencionados anteriormente:

**Ejemplo 3: enjuague bucal**

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Glicerina	25,000
Etanol	0,000
Xilitol	2,000
Polisorbato 20	1,500
Solución madre (pH = 6,23 después de 6 meses a presión y temperatura ambientes)	0,500
Aroma	0,200
Sacarina sódica	0,050
Fluoruro de sodio	0,050
Fosfato disódico ·12H <sub>2</sub> O	0,050
CI 18965 (Amarillo 2G)	0,0009
CI 42051 (azul patente V)	0,0003
Hialuronato de sodio (peso molecular promedio 1.500.000)	0,01
Agua q.v. hasta el 100%	70,53

5 A. Muestra de laboratorio: Se puede preparar un enjuague bucal según la presente invención del modo siguiente utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato de sodio en agua con agitación para obtener una solución sin grumos. Se incorpora sacarina de sodio, fluoruro de sodio, fosfato disódico, colorante colorantes, xilitol y solución madre, y se mezcla hasta que todos los ingredientes se disuelven completamente. Se añade la glicerina y se mezcla hasta homogeneidad. En un recipiente (B) separado se combinan el polisorbato 20 y el aroma. Se mezcla hasta que el aroma está totalmente dispersado. Se incorpora el contenido del recipiente (B) al recipiente (A) con agitación para obtener un líquido homogéneo.

15 B. Método (de preparación) alternativo: Se puede preparar un enjuague bucal según la presente invención del modo siguiente utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato de sodio en agua con agitación para obtener una solución sin grumos. Se añaden humectante o humectantes, solución madre, sacarina de sodio, fluoruro de sodio, fosfato disódico y colorante. Se mezcla hasta que todos los ingredientes se disuelven completamente. En un recipiente separado (B) se combinan el polisorbato 20, el aroma y el etanol. Se mezcla hasta que el aroma está totalmente dispersado. Se incorpora el contenido del recipiente (B) al recipiente (A) con agitación para obtener un líquido homogéneo.

20 **Ejemplo 4: pasta de dientes**

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Glicerina	30,000
Sílice hidratada - abrasivo	12,000
Sílice hidratada - espesante	11,000
Xilitol	10,000
Cocamidopropilbetaína (30%)	3,000
Goma de xantano	1,000
Solución madre (pH = 6,68 después de 6 meses a presión y temperatura ambientes)	0,500
Hialuronato de sodio (peso molecular promedio 1.500.000)	0,1
Aroma	1,000
Sacarina sódica	0,260
Fluoruro de sodio	0,240
Dióxido de titanio	0,500
Agua	hasta el 100%

25 A. Muestra de laboratorio: Se puede preparar una pasta de dientes según la presente invención del modo siguiente utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato de sodio en agua con agitación para obtener una solución sin grumos y se añade la glicerina. Se agregan sacarina de sodio, fluoruro de sodio, solución madre y xilitol, y se agita hasta disolución. Se transfiere el contenido del recipiente A a un mezclador de vacío (recipiente B). Se premezclan los polvos (sílices hidratadas, goma de xantano y dióxido de titanio) en el recipiente C y se añade a la fase líquida del mezclador de vacío (B). Se mezcla en vacío hasta homogeneidad. Se incorpora el tensioactivo y el aroma al mezclador de vacío (B) y se mezcla en vacío a fin de obtener una pasta suave.

**Ejemplo 5: preparación de la solución madre**

Se preparó la siguiente solución madre de la forma descrita anteriormente:

	Mezcla de bioflavonoides	3,3%
	Ácido málico	4,5%
	Ácido cítrico	4,5%
5	Glicerina	7,5%
	Ácido ascórbico	1,5%
	Agua	78,6%
	pH de la solución	1,5 a 1,75

10 **Ejemplo 6: preparación de la solución madre**

Se preparó la siguiente solución madre de la forma descrita anteriormente:

	Mezcla de bioflavonoides	3,3%
15	Ácido málico	4,5%
	Ácido cítrico	4,5%
	Ascorbato de colina	6,0%
	alquil glucósido LFG61	13,3%
	Propilenglicol	7,5%
20	Agua	60,9%
	pH de la solución	1,5 a 1,75

Actividad antibacteriana

25 Se pueden llevar a cabo del modo siguiente pruebas para determinar si las composiciones según la presente invención son activas contra una serie de organismos anaerobios y bacterias facultativas implicados en trastornos periodontales.

Método y materiales

30 Las bacterias que se pueden utilizar incluyen *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus sanguinis*, particularmente las cepas de tipo ATCC. Todos los anaerobios se pueden cultivar en caldo anaeróbico exigente (FAB) a 37° C durante 24 h en una cámara anaeróbica Don Whitley (disponible a través de Don Whitley, Yorkshire, Reino Unido). Las bacterias facultativas se pueden cultivar en caldo nutriente con un 10% (v/v) de dióxido de carbono a 37° C durante 24 h. El cultivo de inicio es 1 ml de un crecimiento de un noche que contiene aproximadamente 10<sup>6</sup> cfu/ml. Los cultivos se complementan con composiciones según la presente invención en concentraciones de hasta sólo 1/10.000 (0,001%); siendo el diluyente el caldo apropiado. El crecimiento se puede estimar mediante el aumento espectrofotométrico de la absorción a 650 nm.

40 El crecimiento en placas de agar con sangre al 5% (v/v) se puede utilizar para evaluar la pasta de dientes y las composiciones de lavado bucal. Se pueden cortar pocillos con un diámetro de aproximadamente 0,5 cm en el agar y llenarse con diluciones de la composición respectiva; siendo el diluyente el caldo apropiado. Las placas se preinoculan con aproximadamente 0,2 ml de caldo que contiene 10<sup>6</sup> cfu/ml. La concentración inhibitoria mínima se toma como la concentración en el pocillo en el que no se observa inhibición del crecimiento.

Pruebas adicionales

50 Se sometieron a ensayo dos soluciones madre: ejemplo 5 y ejemplo 6. Se prepararon unas series de diluciones dobles para cada formulación, con un pH de 1,75 y 2,0, respectivamente, utilizando una infusión de cerebro y corazón (BHI) o caldo de Sabouraud como diluyente, obteniéndose soluciones con un intervalo de concentraciones (8% - 0,015625% de solución madre, v/v).

55 Se obtuvieron cepas de varias especies bacterianas y de *Candida* (véase tabla 1) y se cultivaron durante 48 h en las condiciones apropiadas. Se prepararon suspensiones de cada microorganismo en caldo (caldo BHI para las bacterias y caldo de Sabouraud para especies de *Candida*) hasta un nivel de turbidez aproximadamente igual al patrón 3,0 de McFarland.

Tabla 1. especies de microorganismos utilizados en el presente estudio

Bacterias aeróbicas	Bacterias anaeróbicas	Levaduras
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Candida dubliniensis</i>
	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Candida glabrata</i>
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Candida krusei</i>
	<i>Prevotella buccae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
	<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Candida tropicalis</i>

Se incorporó un volumen de 100 µl de cada suspensión microbiana a los pocillos de una placa de microtitulación. Se incorporó un volumen igual de la solución del ejemplo 5 o el ejemplo 6 ( que contiene el caldo emparejado) a cada pocillo, obteniéndose concentraciones finales de solución madre comprendidas entre el 4% y el 0,0078125% (v/v). También se prepararon pocillos sin solución madre y/o si ni ningún microorganismo para que se vieran como controles. Cada placa de microtitulación se incubó durante 24 h a 37°C en las condiciones atmosféricas apropiadas. Tras la incubación, se estimaron las cantidades relativas de cada especie microbiana midiendo la turbidez en cada pocillo con un espectrofotómetro que llevaba a cabo lecturas de absorbancia para una longitud de onda de 544 nm. Las lecturas de absorbancia se corrigieron con los controles en ausencia de microorganismos.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se definió como la concentración más baja de solución madre que dio lugar a una cantidad significativamente reducida de l microorganismo ( es decir, una reducción > 50% ) en comparación con los controles, donde el microorganismo se cultivó en ausencia de solución madre. Los experimentos se realizaron por triplicado y las CMI se determinaron para las formulaciones del ejemplo 5 y el ejemplo 6 en presencia de cada especie microbiana.

#### Resultados:

Los valores de CMI observados para los 13 microorganismos en respuesta a las dos formulaciones del ejemplo 5 y el ejemplo 6 se resumen en la siguiente tabla 2.

El crecimiento de todos los microorganismos estudiados fue inhibido por la dos formulaciones del ejemplo 5 y el ejemplo 6, a excepción de la *Candida glabrata*. No se observó ninguna inhibición del crecimiento de esta especie de levadura por parte de la formación del ejemplo 6, incluso cuando la misma estaba presente en una concentración del 8% (v/v), la más alta utilizada en este estudio.

La comparación de las CMI de las dos formulaciones del ejemplo 5 y el ejemplo 6 sugirió que el ejemplo 5 era más eficaz que el ejemplo 6 en la inhibición del crecimiento microbiano. La CMI para todos los microorganismos fue menor con el ejemplo 5 que con el ejemplo 6, a excepción de la *Porphyromonas gingivalis*, para la que ambas formulaciones presentaron un valor idéntico del 1%. Además, el ejemplo 5 inhibió el crecimiento de todos los microorganismos cuando se encontraba en una concentración del 1% (v/v), incluso aunque la reducción del crecimiento no fuera de l > 50% ( el criterio establecido en este estudio para definir la CMI). Esto respalda la utilización de un 1% (v/v) de la solución madre del ejemplo 5 como concentración de trabajo preferente en futuros productos e investigaciones.

Tabla 2. Valores de CMI observados en el presente estudio para cada microorganismo como respuesta a las formulaciones del ejemplo 5 y del ejemplo 6.

Microorganismo	CMI (% de solución madre, v/v)	
	Ejemplo 5	Ejemplo 6
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0,015625	2
<i>Actinomyces viscosus</i>	2	4
<i>Clostridium difficile</i>	1	2
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1	1
<i>Prevotella buccae</i>	2	4
<i>Prevotella intermedia</i>	2	4
<i>Streptococcus gordonii</i>	0,03125	2
<i>Streptococcus sanguinis</i>	0,03125	2
<i>Candida albicans</i>	0,125	8
<i>Candida glabrata</i>	0,0625	> 8*
<i>Candida krusei</i>	0,015625	2
<i>Candida parapsilosis</i>	0,03125	8
<i>Candida tropicalis</i>	0,0625	8

\* no se observa ninguna inhibición del crecimiento, incluso con la concentración más alta utilizada en este estudio

**REIVINDICACIONES**

1. Composición que presenta un pH en el intervalo de 3 a 8,5 y que comprende:
- 5 (a) en el intervalo de 0,1% a < 10% p/p, sobre la base del peso total de la composición, de una solución madre que comprende 0,45 a 9% de una mezcla de bioflavonoides, en la que más del 75% de los bioflavonoides son naringina y neohesperidina, y ácidos frutales o sales de los mismos;
- 10 (b) hialuronato de sodio; y
- (c) agua
- en la que el hialuronato de sodio presenta un peso molecular promedio de entre 800.000 y 4.000.000.
- 15 2. Composición según la reivindicación 1, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el peso molecular del hialuronato de sodio está comprendido entre 1.000.000 y 2.000.000.
- 20 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende 0,005 a 10% p/p, 0,2 a 10% p/p, 0,2 a 1% p/p, 0,005 a 0,1% p/p, o 0,01% p/p de hialuronato de sodio sobre la base del peso de la composición total.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la mezcla de bioflavonoides se obtiene a partir de la corteza blanca de naranjas amargas inmaduras.
- 25 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la mezcla de bioflavonoides está asociada con la biomasa.
7. Composición según la reivindicación 6, en la que la biomasa se encuentra en el intervalo de 40 a 60% p/p sobre la base del peso de la mezcla de bioflavonoides.
- 30 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende 0,00045 a 0,9% p/p de bioflavonoides, 0,001 a 2,0% p/p de ácido cítrico, 0,001 a 2,0% p/p de ácido málico, 0,001 a 2,0% p/p de ácido ascórbico y 0,00045 a 2,03% p/p de base colina.
- 35 9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una sal de un ácido frutal seleccionada de entre las sales de citrato, malato y ascorbato.
10. Composición según la reivindicación 9, en la que la sal es de una base de amonio cuaternario.
- 40 11. Composición según la reivindicación 10, en la que la base es la colina.
12. Composición según la reivindicación 11, en la que la sal de ácido frutal es el ascorbato de colina.
- 45 13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición presenta un pH en el intervalo de 3,5 a 8, de 4 a 7 o de 5 a 6,5.
14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende en el intervalo de 20 a 80% p/p agua sobre la base del peso de la composición.
- 50 15. Composición según la reivindicación 14, en la que la composición es una pasta de dientes que comprende 20 a 40% p/p de agua o una composición líquida que comprende 60 a 80% p/p de agua.
16. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende en el intervalo de 0 a 30% p/p alcohol, sobre la base del peso de la composición.
- 55 17. Composición según la reivindicación 16, en la que el alcohol es el etanol.
18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los bioflavonoides se seleccionan de entre isocitrina, isonaringina, naringina, hesperidina, neohesperidina, neodiosmina, naringenina, poncirina y rhiofolén.
- 60 19. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un vehículo seleccionado de entre agentes fluorantes, aromas, edulcorantes, colorantes y conservantes; agentes antiplaca y antimicrobianos; humectantes, tensioactivos, espesantes, gomas, aglutinantes y agentes abrasivos; y formadores de película.
- 65

20. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que resulta adecuada para el uso tópico u oral.
- 5 21. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que se encuentra en forma de pasta, crema, pomada, gel o líquido, preferentemente en forma de pasta de dientes, spray bucal, enjuague bucal o lavado bucal.
22. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para el tratamiento, la prevención o el alivio de los efectos de una infección microbiana de la cavidad bucal u otro trastorno periodontal.
- 10 23. Composición para su utilización según la reivindicación 22, en la que la infección es bacteriana.
24. Composición para su utilización según la reivindicación 22, para el tratamiento de mucositis, aftas, liquen plano, candidosis bucal, gingivitis, periodontitis, alvéolo seco, afecciones gingivales caracterizadas por manifestaciones inflamatorias del tejido gingival, tales como gingivitis o estomatitis, irritaciones debidas a causas mecánicas, como prótesis fijas o móviles o intervenciones quirúrgicas, y para la etapa de dentición en los niños.
- 15 25. Composición según las reivindicaciones 1 a 21 para el tratamiento de piel infectada, potencialmente infectada y/o inflamada, tal como acné, quemaduras y heridas, en la que opcionalmente la infección microbiana se selecciona de entre: *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. intermedius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Eubacterium nodatum*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *C. albicans* y *C. tropicalis*.
- 20 26. Utilización de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la limpieza, desinfección o eliminación de restos de la cavidad bucal; para tonificar, refrescar, eliminar o mejorar el olor o el sabor en la cavidad bucal; o para ocuparse de la higiene, el aspecto y la sensación en la cavidad bucal.
- 25 27. Procedimiento para la preparación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende someter a mezclado físico íntimo los componentes (a), (b), (c) y opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.