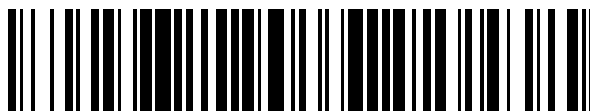


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 405**

51 Int. Cl.:

A61K 8/73 (2006.01)

A61K 8/365 (2006.01)

A61K 8/41 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 8/60 (2006.01)

A61K 8/67 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07766321 .9**

96 Fecha de presentación: **20.07.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2043593**

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

54 Título: **Composiciones orales, su preparación y su utilización**

30 Prioridad:
20.07.2006 GB 0614353

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.07.2012

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

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

74 Agente/Representante:
Curell Aguilá, Mireia

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).

ES 2 385 405 T3

DESCRIPCIÓN

Composiciones orales, su preparación y su utilización.

- 5 La presente invención se refiere a composiciones que contienen flavonoides para su utilización en la preparación de composiciones orales, tales como pasta de dientes, de lavado bucal o colutorios. En particular, se refiere a composiciones orales que incluyen una solución madre de bioflavonoides antibacterianos, su preparación y su utilización.
- 10 Son conocidas ciertas composiciones que comprenden flavonoides que muestran actividades antimicrobianas, antibacterianas y especialmente antivíricas. Sin embargo, el término "flavonoide" incluye una gran variedad de distintos compuestos, que pueden resultar disponibles mediante extracción a partir de distintas fuentes naturales. Dependiendo tanto del origen como de la naturaleza o del procedimiento de extracción, la composición química total de la mezcla flavonoide resultante, puede variar ampliamente en sí misma. Los flavonoides individuales pueden
- 15 variar mucho en su actividad biológica (o ser inactivos), tanto en términos de toxicidad como de efectividad contra microbios tales como virus y bacterias. Por tanto, combinados, dichos flavonoides pueden variar también en su actividad biológica.
- 20 Se ha descubierto que es posible sinergizar, potenciar o facilitar la actividad biológica de ciertas combinaciones de flavonoides añadiendo otros agentes a la composición flavonoide. Se han llevado a cabo, por tanto, muchos esfuerzos para descubrir una combinación apropiada de flavonoides, con o sin otros agentes, que proporcionarán la efectividad deseada contra ciertos microbios, pero sin que su uso acompañe de efectos tóxicos u otros no ventajosos. Un ejemplo de dicha combinación se encuentra en una de extractos de naranja, conocida como bioflavonoides y ácidos de frutos naturales tales como vitamina C, que se utiliza en la industria de las aves de corral
- 25 para eliminar los microbios relacionados con los alimentos tales como *E. coli* y *Salmonella*.
- Sin embargo, hasta la presente invención, no se había propuesto utilizar una combinación de ácido frutal/ bioflavonoide en formulaciones para la higiene personal, tales como la utilización oral. En particular, la combinación conocida será mucho más ácida para el uso oral. Además, aunque se ha sugerido que los flavonoides pueden
- 30 utilizarse en composiciones tales como pasta de dientes y de lavado bucal, éstas no se han especificado por sus componentes flavonoides y/o se han limitado a flavonoides específicos. Por ejemplo, la memoria de patente nº WO 02/47615 da a conocer una composición oral que incluye un portador organolépticamente apropiado y un terpenoide y/o un flavonoide disperso en el portador; el documento DE 19949575 da a conocer una combinación de fluoruros y flavonoides para el tratamiento de alteraciones dentales y la prevención de las caries; el documento JP62051613 se refiere a una composición dentífrica que contiene un porcentaje en peso del 0,001-0,1 de compuestos flavonoides seleccionados a partir de flavonol, crisina, hesperetina y hesperidina; el documento WO 06/09210 da a conocer composiciones para el cuidado de la boca que contienen un flavonoide de anillo B-libre, un flavano y un agente que potencia la biodisponibilidad; la patente US nº 2.888.381 da a conocer composiciones que incluyen soluciones de compuestos bioflavonoides cítricos; el documento US 2002/155163 da a conocer combinaciones integradas
- 35 multivitamínicas y minerales que comprenden entre otros muchos ingredientes un complejo bioflavonoide cítrico y uno hesperidínico, para utilizarlos en el cuidado complementario de individuos con asma; el documento WO 03/97078 da a conocer composiciones nutracéuticas que incluyen alcaloides cítricos; el documento WO 03/39452 da a conocer suplementos nutritivos para la prevención, reducción y tratamiento del daño producido por las radiaciones. Las composiciones pueden incluir además ingredientes opcionales como flavonoides.
- 40 Ninguna de las formulaciones de la técnica anterior dan a conocer una combinación de una composición bioflavonoide (que incluye en sí misma una combinación particular de componentes flavonoides hidrosolubles) con uno o más ácidos frutales hidrosolubles, en una cantidad y forma apropiadas para la administración oral como solución, y poseyendo actividad antibacteriana.
- 45 De acuerdo con esto, la presente invención proporciona una composición oral con un pH en el intervalo de 3 a 8,5, preferentemente de 3,5 a 8, preferentemente de 4 a 7, más preferentemente de 5 a 6,5, que incluye:
- 50 (a) en el intervalo de 0,1% al <10% peso/peso (basado en el peso total de la composición oral) de una solución de madre que comprende entre el 0,45 y el 3% de la mezcla de bioflavonoides en la que la naringina y la neohesperidina y sus ácidos frutales o sales, se encuentran en exceso en el 75%; y
- 55 (b) agua; y, opcionalmente,
- 60 (c) un portador farmacéuticamente aceptable, que puede incluir él mismo otro u otros ingredientes farmacéutica o farmacológicamente aceptables, apropiados para la administración oral.
- Preferentemente, la composición oral comprende un intervalo de entre el 0,1 al 5% peso/peso de la solución de madre, más preferentemente en el intervalo de entre el 0,1 al 2% peso/peso, tal como el 1% aproximadamente. De
- 65 forma apropiada, la composición oral incluye en el intervalo de entre el 20 al 80% peso/peso de agua, hacia el nivel más inferior de este intervalo en el caso de una pasta de dientes, y hacia el nivel más alto para una composición

líquida como un de lavado/colutorio/pulverización. Por ejemplo, una pasta puede incluir en el intervalo de entre 20 a 45% peso/peso de agua, tal como entre del 20 al 30% peso/peso, particularmente si se incluye la sílice entre los componentes (c), y una formulación líquida puede comprender en el intervalo de entre 60 al 80% peso/peso de agua (todos los peso/peso basados en el peso total de la composición oral). Resulta especialmente preferido cuando la solución de madre puede prepararse a partir de bioflavonoides hidrosolubles en combinación con un ácido frutal, tal como el cítrico, el málico y el ascórbico. Uno o varios ácidos son neutralizados preferentemente con una base apropiada, tal como una base de amonio cuaternario, por ejemplo una base de colina, tal como carbonato de colina, bicarbonato, o, preferentemente, hidróxido. Más preferentemente, todos los ácidos, cítrico, málico y ascórbico se utilizan en la preparación de la composición, siendo especialmente preferido cuando éstos son neutralizados para proporcionar las sales de citrato, malato y/o ascorbato. Especialmente preferida es el ascorbato de colina. De acuerdo con esto, es preferido que la solución madre esté sustancialmente libre de ácidos frutales, lo cual quiere decir que su pH sea aproximadamente neutro. Los intervalos del pH ejemplificativos para la solución madre son entre 3 al 8,5, 3,5 al 8,5, 3,5 al 8,4 al 7,5, 4,5 al 7,5, 4,5 al 7,5 al 6,5, 5,5 al 6,5 y 5,5 al 6, siendo el pH por ejemplo de aproximadamente 5, de aproximadamente 5,5, de aproximadamente 6, de aproximadamente 6,5 o de aproximadamente 7.

Sin pretender vincularse ninguna teoría en particular, se cree que, así como los ácidos frutales muestran un efecto quelante sobre el agua dura, dichos ácidos también sinergizan la actividad biológica de los agentes activos, por ejemplo, los bioflavonoides y el ascorbato de colina. De acuerdo con esto una solución madre preferida comprende bioflavonoides hidrosolubles y ascorbato de colina [presente como base de colina (por ejemplo hidróxido) y ácido ascórbico o como la sal *per se*].

La solución madre comprende además preferentemente un disolvente no tóxico, tal como un disolvente miscible en agua o hidrofílico, incluyendo más preferentemente agua y un codisolvente miscible en agua como la glicerina, un alcohol polihídrico o similar. Especialmente preferido es cuando el disolvente incluye una mezcla agua/glicerina, preferentemente en la proporción 2:1 – 1:2 (agua: codisolvente). Más preferentemente, los componentes (b) y (c) (incluyendo el equilibrio agua, codisolvente(s) y excipiente(s) y/o portador(es)) están libres de alcohol-especialmente de etanol.

Por lo tanto, la solución madre puede prepararse preferentemente a partir de:

Ingrediente	Porcentaje (peso/peso) del ingrediente en la solución madre
Mezcla de bioflavonoides (45% en biomasa)	1-20, preferentemente 2 a 15, más preferentemente 3 a 15, tal como 3,4, ó 15, muy preferentemente 3,3
Ácido cítrico	1-20, preferentemente 4 a 15, tal como 4, 5, 10 ó 15, muy preferentemente 4,5
Ácido málico	1-20, preferentemente 4 a 15, tal como 4, 5, 10 ó 15, muy preferentemente 4,5.
Ácido ascórbico (vitamina C)*	1-20, preferentemente 1 a 5*, tales como 1, 2, 3, 4 ó 5, muy preferentemente 1,5
Solución de hidróxido de colina (45% en agua)*	1-45, preferentemente 4 a 20*, tal como 5, 8, 10, 12, 15 ó 18
Glicerina/agua u otro disolvente	Equilibrio, qv hasta 100%, preferentemente 5-50*, tal como 7, 10 ó 15, muy preferentemente 7,5
El ácido ascórbico y el hidróxido de colina (u otra base de colina) pueden reemplazarse por ascorbato de colina, con cantidades de glicerina y agua (o de un disolvente o disolventes alternativos) apropiadamente aumentados. Resulta preferido cuando el disolvente comprende un porcentaje aproximadamente igual de ambos glicerina y agua, tal como de entre el 5% al 25% cada uno, tal como del 15% de glicerina y del 20% de agua (cuando la colina y el ácido ascórbico se encuentran como el 5% de ascorbato de colina).	

De acuerdo con esto, las composiciones orales de la presente invención pueden prepararse preferentemente a partir de (basadas en el peso de la composición oral):

(a)

(i) en el intervalo de entre el 0,0002 al 1,5% peso/peso de bioflavonoides [excluyendo la biomasa, que contribuye preferentemente otro 0,00024-1,83% peso/peso];

(ii) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido cítrico;

(iii) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido málico;

(iv) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido ascórbico;

(v) en el intervalo de entre el 0,00045 al 2,03% peso/peso de la base colina; y

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

5 Más preferentemente, las composiciones orales de la presente invención pueden prepararse a partir de (basado en el peso de la composición oral):

(a)

10 (i) en el intervalo de entre el 0,00045 al 0,9% peso/peso de bioflavonoides [limitando la biomasa, que contribuye preferentemente otro 0,00055-1,1% peso/peso];

(ii) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido cítrico;

15 (iii) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido málico;

(iv) en el intervalo de entre el 0,001 al 2,0% peso/peso de ácido ascórbico;

20 (v) en el intervalo de entre el 0,00045 al 2,03% peso/peso de la base colina; y

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

25 Ya que las soluciones madre de la presente invención pueden prepararse más preferentemente, por tanto, a partir de los porcentajes dados en la tabla anterior, las composiciones orales de la presente invención pueden prepararse más preferentemente a partir de:

(a)

30 (i) en el intervalo de entre el 0,000675 al 0,675% peso/peso de bioflavonoides [excluyendo la biomasa];

(ii) en el intervalo de entre el 0,015 al 1,5% peso/peso de ácido cítrico;

(iii) en el intervalo de entre el 0,015 al 1,5% peso/peso de ácido málico;

35 (iv) en el intervalo de entre el 0,005 al 0,5% peso/peso de ácido ascórbico;

(v) en el intervalo de entre el 0,015 al 0,9% peso/peso de la base colina; y

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

40 Ya que las composiciones orales preferidas de la presente invención incluyen en el intervalo del 1% peso/peso de la solución madre, en una forma de realización, las composiciones orales preferidas de la presente invención pueden prepararse a partir de:

45 (a)

(i) en el intervalo de 0,0675% peso/peso de bioflavonoides [excluyendo la biomasa];

(ii) en el intervalo de 0,15% peso/peso de ácido cítrico;

50 (iii) en el intervalo de 0,15% peso/peso de ácido málico;

(iv) en el intervalo de 0,05% peso/peso de ácido ascórbico;

55 (v) en el intervalo de 0,09% peso/peso de la base colina; y

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

60 En otra forma de realización, la mayoría de las composiciones orales preferidas de la invención pueden prepararse a partir de:

(a)

(i) en el intervalo de 0,01485% peso/peso de bioflavonoides [excluyendo la biomasa];

65 (ii) en el intervalo de 0,045% peso/peso de ácido cítrico;

(iii) en el intervalo de 0,045% peso/peso de ácido málico;

(iv) en el intervalo de 0,015% peso/peso de ácido ascórbico;

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

En otra forma de realización, la mayoría de las composiciones orales preferidas de la invención pueden prepararse a partir de:

(a)

(i) en el intervalo de 0,01485% peso/peso de bioflavonoides [excluyendo la biomasa];

(ii) en el intervalo de 0,045% peso/peso de ácido cítrico;

(iii) en el intervalo de 0,045% peso/peso de ácido málico;

(iv) en el intervalo de 0,06% peso/peso de ascorbato de colina;

(b) y (c) el equilibrio que incluye agua, codisolvente(es) y excipiente(es) y/o portador(es).

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 entonces, los ácidos implicados en los procesos de neutralización, tal como el ácido ascórbico, se mezclan junto con el disolvente a una temperatura aumentada, que se mantiene lo bastante baja para asegurar que ninguno de los componentes se degrade. En el caso del ácido ascórbico, que se degrada térmicamente aproximadamente por encima de los 55°C, la temperatura se mantiene en el intervalo de entre 25°C aproximadamente a por debajo de 55°C, siendo preferentemente en la región de 50°C. Preferentemente, la neutralización implica la adición de hidróxido de colina al ácido ascórbico en la mezcla (con un pH al comienzo de 1,2 y con uno de finalización de 5,5-6,0), o pudiendo añadirse el ascorbato de colina mismo (por ejemplo, donde el ascórbico ya está neutralizado).

Entonces, los ácidos restantes (preferentemente, cítrico y málico) se añaden, seguidos por los flavonoides, dando lugar a una solución con un pH en el intervalo de aproximadamente 2,0 a 6,5, pero que es típicamente de modo aproximado de entre 2,2 a 3,5, especialmente en el intervalo de 2,3 a 3,0. Los ácidos restantes no neutralizados son también sustancialmente neutralizados, por ejemplo, por el hidróxido de colina, para dar lugar a una solución sustancialmente neutra con un pH en el intervalo de, por ejemplo, de 5 a 8,5, preferentemente de 5,5 a 7, más preferentemente de 5,5 a 6,5.

El efecto antimicrobiano establecido de las formulaciones de la técnica anterior que comprenden un bioflavonoide, se sustenta en la inhibición por el bioflavonoide de la absorción de los aminoácidos esenciales en la membrana citoplásmica del microbio, tal como inhibiendo la neuroamidasa vírica. Sin embargo, se cree que las formulaciones de la presente invención son efectivas porque la combinación de los bioflavonoides solubles seleccionados con el ascorbato de colina, da lugar a la encapsulación del microbio, la fragmentación de los componentes flavonónicos y glucósidos en fragmentos independientes, y la subsiguiente desactivación del microbio por los fragmentos flavonónicos y el ascorbato de colina.

Preferentemente, la mezcla de bioflavonoides incluye bioflavonoides hidrosolubles asociados a la biomasa, que provienen del proceso de extracción; de acuerdo con esto, la mezcla de bioflavonoides puede estar asociada con hasta el 40-60% peso/peso, preferentemente con aproximadamente 55% peso/peso, de biomasa (basándose en el peso de la mezcla de bioflavonoides). Los bioflavonoides son preferentemente glucósidos, especialmente los seleccionados a partir de la isocriocirina, isonaringina, naringina, hesperidina, neohesperidina, neodionina, naringenina, poncirina y riosfolén, y más preferentemente, si cada uno de éstos se encuentra en la mezcla. La mayor parte de la mezcla de bioflavonoides incluye naringina y neohesperidina, comprendiendo éstos en exceso el 75% del componente bioflavonoico (excluyendo la biomasa). Apropriadamente, otros bioflavonoides (tales como flavonol, crisina, hesperetina) están sustancialmente ausentes de la mezcla de bioflavonoides, consistiendo esencialmente el componente bioflavonoide, por lo tanto, de los bioflavonoides hidrosolubles mencionados anteriormente en la presente memoria, aunque pueden encontrarse cantidades traza de otros bioflavonoides. Especialmente preferido es cuando los bioflavonoides hidrosolubles incluyen los porcentajes siguientes (en peso de bioflavonoide en el componente bioflavonoide total).

Bioflavonoide	Porcentaje del componente bioflavonoide total
Isocriocirm	2,4
Isonaringina	2,7
Naringina	52,0
Hesperidina	3,1
Neohesperidina	27,8
Neodionina	3,1
Naringenina	3,4
Poncirina	4,4
Riofolén	1,1
Total	100%

A una fuente apropiada de dicha mezcla hidrosoluble de bioflavonoides se hace referencia como "HPLC45" de la cual aproximadamente 45% (de la composición total de HPLC45), comprende dichos bioflavonoides, con el equilibrio (aproximadamente 55%) incluyendo biomasa tal como pectinas, azúcares y ácidos orgánicos menores. Tal como se ha establecido anteriormente, especialmente preferido es cuando la mayor parte de la mezcla bioflavonoide comprende naringina y neohesperidina, tal como cuando éstos comprenden un exceso el 35% del componente bioflavonoide en una mezcla con biomasa tal como HPLC45. De acuerdo con esto, los bioflavonoides siguientes, en peso de la composición total de HPLC45, están presentes preferentemente:

Bioflavonoide	Porcentaje en HPLC45 (componente bioflavonoide + biomasa)
Isocriocirm	1,1
Isonaringina	1,2
Naringina	23,4
Hesperidina	1,4
Neohesperidina	12,5
Neodionina	1,4
Naringenina	1,5
Poncirina	2,0
Riofolén	0,5
Total	45% de HPLC45

El PHLC45 está comercializado por Exquim (división de alimentación del Grupo Ferrer), como complejo 45% HPLC de bioflavonoides cítricos. Procede de un material inicial formado por el blanco de la cáscara de naranjas amargas (de color rojo sangre) e inmaduras, tal como las naranjas Sevilla que están clasificadas como no comestibles y de las cuales las pipas, la pulpa y la piel aceitosa se han sustancialmente eliminado o no se han desarrollado. Este material inicial se fragmentó finamente en un disolvente iónico hidrofílico tal como agua o en mezclas de agua/alcohol, preferentemente agua/etanol en una proporción de aproximadamente 1:10-20 (disolvente: material inicial). La mezcla resultante se filtra para dar lugar a una biomasa hidrosoluble, que es retenida, y a una biomasa insoluble, que se descarta. La biomasa hidrosoluble se somete entonces a una filtración fina, después de lo cual se destila instantáneamente para dejar un polvo higroscópico de color pardo (HPLC45).

Preferentemente, la mezcla bioflavonoide para utilizar en las composiciones orales de la presente invención, se distingue particularmente porque incluye glucósidos hidrosolubles procedentes de la mezcla obtenida a partir de las uvas o de los otros frutos cítricos o de otras fuentes vegetales, que comprenden flavonoides insolubles en agua, y, más preferentemente, se distingue de la mezcla obtenida cuando cantidades sustanciales de las semillas, de la pulpa y/o de la parte mollar de dichos frutos, forman parte del material inicial, que comprende particularmente componentes insolubles en agua. Además, el material inicial más maduro desarrollado de la técnica anterior es más probable que se haya sometido a pesticidas y/o medios fertilizantes sintéticos, y por tanto, son menos "orgánicos" o puros en su origen que la mezcla bioflavonoide de las soluciones de la presente invención.

Preferentemente, la solución madre comprende entre el 1 y el 20%, preferentemente entre el 2 y el 15%, más preferentemente entre el 3 y el 15%, tal como 3,4 o 15, muy preferentemente es el 3,3% peso/peso del HPLC45. De acuerdo con esto, la solución madre incluye entre el 0,45 y el 9%, preferentemente entre el 0,9 y el 6,75%, más preferentemente entre el 1,35 y el 6,75%, tal como 1,35, 1,8 o 6,75, muy preferentemente es 1,485% de la mezcla de bioflavonoides.

Preferentemente, la composición oral y, particularmente en ausencia de otros ingredientes excepto agua, la solución madre tiene un pH de entre 3 y 8,5 aproximadamente, más preferentemente entre 4 y 7,5 aproximadamente tal como aproximadamente 5 a 7; especialmente preferido es cuando el pH está entre 5,5 y 6,5. Muy preferentemente, por tanto, la composición oral está sustancialmente libre de iones hidrógeno, tal como de ácidos frutales, utilizándose éstos en la preparación de la solución madre y/o habiéndose neutralizado sustancialmente, por tanto la

composición oral, preferentemente tal como se ha descrito anteriormente, añadiendo una base a la solución madre. Por otra parte, cuando la composición oral incluye también un agente tampón, entonces, el pH de la solución madre puede variar por fuera de estos límites, siempre que el agente tampón se encuentre en una cantidad efectiva para proporcionar una composición oral con un pH dentro de estos límites.

De acuerdo con esto, el componente (c) de las composiciones orales de la presente invención puede incluir un agente tampón para regular o ajustar el pH de la composición final, tal como un hidróxido metálico alcalino o un hidróxido amónico o un fosfato mono-, di-, o tribásico tal como un fosfato tri(álcali metálico). Ya que es más difícil medir la cantidad de hidróxido que la de fosfato dibásico, es preferible utilizar fosfatos monobásicos y fosfatos dibásicos. Otra alternativa es utilizar una combinación de ácido fosfórico con fosfato dibásico o tribásico, tal como un fosfato tri(álcali metálico). Los fosfatos son preferentemente incorporados en forma de sus sales sódicas, potásicas o amónicas; más preferentemente, se utilizan sales sódicas. Sin embargo, en casos en los que los efectos hipertensivos de los iones sódicos están implicados, pueden utilizarse los fosfatos mono- y dipotásicos. Cuando el agente tampón es fosfato disódico, por ejemplo, puede encontrarse hasta el 5% peso/peso de la composición oral, preferentemente en el intervalo de entre 0 al 0,5%, tal como el 0,05% peso/peso aproximadamente.

Otro ingrediente opcional, componente (c), puede incluir una fuente de fluoruro, tal como el fluoruro sódico o el monofluorofosfato sódico, hasta aproximadamente 0,5% peso/peso de la composición oral. La fuente de fluoruro es preferentemente en el intervalo de entre 0 a 0,15%, tal como alrededor de 0,05% peso/peso en el caso de composiciones líquidas, pero más en el caso de pastas dentales, en las que son apropiados porcentajes de entre 0 al 0,3%, tales como alrededor del 0,24%, peso/peso o en el intervalo de entre 0 a 1.500 ppm (como iones fluoruro).

Otros aditivos pueden estar presentes en las composiciones orales de la invención, tales como saborizantes, endulzantes o agentes colorantes, o conservantes. La menta, tal como la menta piperita, la hierbabuena, canela, eucalipto, cítricos, cassia, anís y mentol constituyen ejemplos de agentes saborizantes apropiados. Los agentes saborizantes están presentes preferentemente en las composiciones orales en una cantidad en el intervalo de entre 0 al 3%; preferentemente, hasta el 2%, tal como hasta el 0,5%, preferentemente aproximadamente 0,2%, en el caso de composiciones líquidas; pero opcionalmente más en el caso de pasta de dientes, preferentemente de 0,5 al 2%, más preferentemente aproximadamente 1% peso/peso. Los endulzantes incluyen, agentes endulzantes naturales o artificiales, tales como sacarina sódica, que puede encontrarse en una cantidad en el intervalo de entre 0 al 2%, preferentemente hasta el 1% peso/peso, tal como 0,05 al 0,3% peso/peso de la composición oral. Los agentes colorantes son colores apropiados naturales o sintéticos, tales como el dióxido de titanio o el CI 42090, o sus mezclas. Los agentes colorantes se encuentran preferentemente en las composiciones orales en una cantidad en el intervalo de entre 0 a 1 3%; preferentemente hasta el 0,1%, tal como hasta el 0,05%, preferentemente aproximadamente 0,005-0,0005%, en el caso de composiciones líquidas; pero opcionalmente más en el caso de la pasta de dientes, preferentemente hasta el 1%, más preferentemente aproximadamente 0,5% peso/peso. De los conservantes habituales, se prefiere el benzoato sódico en concentraciones sustancialmente insuficientes para alterar el pH de la composición oral, pues, de otro modo, la cantidad del agente tampón puede que requiera ajustarse para llegar al pH deseado.

Otros ingredientes opcionales del componente (c) pueden incluir otros agentes activos tales como agentes antiplaca y/o agentes antimicrobianos. Los agentes apropiados incluyen compuestos amónicos cuaternarios como bromuro de domifeno, cloruro de cetil piridinio (CPC), compuestos fenólicos, etanol, y los conservantes anteriormente mencionados. Dichos agentes activos pueden encontrarse en una cantidad en el intervalo del 0 al 4% peso/peso, pero pueden estarlo en una cantidad tal como del 70%, que en el caso del etanol, puede ser de hasta el 30%. Por ejemplo, CPC o similar se encuentra preferentemente en una cantidad de hasta el 2%, tal como del 0,05% peso/peso aproximadamente, especialmente en composiciones orales líquidas de la invención. El etanol puede incluir una cantidad tal como el 70%, preferentemente de alrededor de entre 0 y 30% peso/peso en composiciones líquidas de la invención, tales como el 15% aproximadamente peso/peso en un espray bucal, pero las composiciones orales preferidas de la invención, son aquellas en las que el etanol o cualquier otro alcohol está sustancialmente ausente.

Otros ingredientes opcionales del componente (c) pueden incluir humectantes, surfactantes (no iónicos, catiónicos o anfotéricos), engrosantes, gomas y agentes de cementación. Los humectantes apropiados incluyen glicerina, xilitol, glicerol y glicoles tales como propilenglicol, que pueden estar presentes en una cantidad de hasta el 50% peso/peso cada uno, pero es preferible que los humectantes totales se encuentran en un porcentaje total no superior a alrededor del 60-80% peso/peso de la composición oral. Por ejemplo, las composiciones líquidas orales pueden incluir hasta alrededor de un 30% aproximadamente de glicerina más hasta un 5% aproximadamente, preferentemente hasta un 2% peso/peso aproximadamente de xilitol. Los surfactantes son preferentemente no aniónicos y pueden incluir polisorbato 20 o cocoamidobetaína o similares en una cuantía de hasta el 6% aproximadamente, preferentemente de aproximadamente entre 1,5 al 3%, peso/peso, de la composición oral.

Cuando las composiciones orales de la invención están en forma de un espray bucal, se prefiere incluir un agente que forme una película hasta alrededor del 3% peso/peso de la composición oral, tal como en el intervalo de entre 0 y 0,1%, preferentemente entre 0,001 y 0,01%, tal como aproximadamente 0,005% peso/peso de la composición oral. Los formadores de películas apropiados incluyen hialuronato sódico y los que se venden bajo la marca Gantrez.

Cuando las composiciones orales de la invención están en forma de pasta de dientes, se prefiere incluir gomas, cementantes y/o engrosantes, tales como sílice coloidal, carrageenina y derivados celulósicos tales como carboximetilcelulosa sódica. Dichos ingredientes pueden encontrarse en una cantidad de hasta aproximadamente 3% peso/peso de la composición oral, tal como hasta aproximadamente 2%, preferentemente de entre el 0,5 al 1%, peso/peso, aproximadamente, de la composición oral.

Las composiciones de pasta de dientes de la presente invención pueden incluir también un agente abrasivo, tal como sílice hidratada, fosfato dicálcico, o metafosfatos alcalinos metálicos insolubles en agua, hasta aproximadamente 25% peso/peso y preferentemente en el intervalo de entre 10 a 15% aproximadamente peso/peso de la composición oral.

Las composiciones orales de la presente invención pueden prepararse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica para la formulación de composiciones similares, tales como pasta de dientes, de lavado bucal o colutorios, espray bucal, o similares. Todos los procedimientos comprenden los componentes (a) y (b) y, si se encuentra presente el (c) mezclarlos conjuntamente con éste de forma físicamente íntima.

Preferentemente, las composiciones están envueltas en contenedores apropiados tales como plásticos o tubos metálicos, plásticos o vidrios transparentes, recipientes opacos o translúcidos, jarras o dispensadores, con o sin esprays u otros medios de aplicación, junto a instrucciones para el uso. Dichos contenedores pueden estar ellos mismos envueltos a su vez en una caja de cartón o en otro contenedor apropiado y las mismas u otras instrucciones para el uso pueden insertarse o inscribirse en él; de modo apropiado, dichas instrucciones pueden inscribirse en un encarte o un folleto del contenedor. Éste expone en una lista, preferentemente, los principales o la totalidad de los principios activos de la composición. Las instrucciones pueden incluir las ya conocidas por el experto en la materia de las composiciones orales, particularmente las que son para la utilización antibacteriana. De acuerdo con esto, las instrucciones pueden recomendar que una cantidad del tamaño de un guisante de la pasta de dientes se aplique en los dientes a intervalos regulares, 2-3 veces al día; que se lleve a cabo un enjuague total de la cavidad bucal o se rocíe ésta al menos una vez al día y preferentemente después de las comidas; y similares.

Las composiciones orales de la presente invención pueden, por tanto, ser útiles para tratar, prevenir o mejorar los efectos de una infección microbiana, especialmente bacteriana, en la cavidad oral, u otra enfermedad periodontal; para limpiar, desinfectar o eliminar residuos de la cavidad oral; para refrescar, eliminar o mejorar el olor o el sabor en la cavidad oral; y para atender, de modo general, la higiene, apariencia y sensibilidad de la cavidad oral. De acuerdo con esto, la presente invención proporciona además una solución madre que comprende una mezcla de bioflavonoides y ácidos frutales (tales como la mezcla descrita anteriormente en la presente Memoria) en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección microbiana, especialmente bacteriana, en la cavidad oral; en particular, en la que el medicamento comprende en el intervalo de entre 0,1 al 10% peso/peso (basado en el peso total de la composición oral) de la solución madre. Preferentemente, la presente invención proporciona (a) una solución madre que comprende una mezcla de bioflavonoides y ácidos frutales junto con (c) otros principios activos farmacéutica o farmacológicamente aceptables, apropiados para la administración oral (tales como los descritos anteriormente en la presente Memoria), en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una infección microbiana, especialmente bacteriana en la cavidad oral; en particular, en la que el medicamento comprende en el intervalo de entre 0,1 a 10% peso/peso (basado en el peso total de la composición oral) de la solución madre.

Las composiciones orales de la presente invención son útiles en el tratamiento o prevención de infecciones, enfermedades o situaciones que provienen de 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, una solución madre (véase Ejemplo 1) utilizada en la preparación de las composiciones orales de la invención, se encontró que inhibía todas las bacterias anteriormente mencionadas a una dilución del 1/10, siendo también inhibidas a una dilución del 1/100 las bacterias no estreptocócicas antes mencionadas. En los ejemplos proporcionados a continuación en la presente memoria, se proporcionan otros datos biológicos. La presente invención se ilustrará a continuación mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplo 1 – Preparación de la solución madre

(a) Preparación de HPLC45

El material de partida comprende el blanco de la cáscara de naranjas amargas (de color rojo sangre), inmaduras, tales como las naranjas de Sevilla que se clasifican como "no comestibles" y de las que las pepitas, pulpa y la piel aceitosa se han sustancialmente eliminado. El material inicial se muele y se fractura entonces en agua o agua/etanol en una proporción de aproximadamente 1:10-20 (disolvente: material inicial). La mezcla resultante se filtra para obtener una biomasa hidrosoluble, que se retiene, y una biomasa insoluble, que se descarta. La biomasa hidrosoluble se somete entonces a una filtración fina, después de lo cual es destilada instantáneamente para

obtener un polvo higroscópico de color pardo (HPLC45). Alternativamente, el HPLC45 está disponible en Exquim (Grupo Ferrer).

(b) Composición Bioflavonoide de HPLC45

El análisis del HPLC45 obtenido en la etapa (a) muestra que el 45% de la composición total del mismo incluye bioflavonoides, con un equilibrio (55%) que comprende pectinas, azúcares y ácidos orgánicos menores. El porcentaje (en peso de bioflavonoides en el HPLC45) de los bioflavonoides se expresa en la siguiente tabla:

Bioflavonoide	Porcentajes de los bioflavonoides en HPLC45
Isocriocirm	2,4
Isonaringina	2,7
Naringina	52,0
Hesperidina	3,1
Neohesperidina	27,8
Neodimina	3,1
Naringenina	3,4
Poncirina	4,4
Riofolén	1,1
Total	100%

De acuerdo con esto, se encuentran los siguientes bioflavonoides, en peso, de la composición total de HPLC45:

Bioflavonoide	Porcentajes HPLC45
Isocriocirm	1,1
Isonaringina	1,2
Naringina	23,4
Hesperidina	1,4
Neohesperidina	12,5
Neodimina	1,4
Naringenina	1,5
Poncirina	2,0
Riofolén	2,8

(c) Preparación de la solución madre

Ingredientes	Porcentajes de la solución de almacenamiento
HPLC45	15
Ácido cítrico	15
Ácido málico	15
Ácido ascórbico (vitamina C)*	5*
Solución de hidróxido de colina (45% en agua)*	15*
Glicerina	15*
Agua	20*
Total	100%
[*El ácido ascórbico y el hidróxido de colina pueden ser sustituidos mediante ascorbato de colina al 5%, con cantidades de glicerina y agua aumentadas cada una un 25%]	

El agua, glicerina y el ácido ascórbico se mezclan juntos a temperatura ambiente y se aumenta ésta entonces a 50°C. Se añade el hidróxido de colina para neutralizar el ácido ascórbico (empezando con un pH de 1,2 y acabándolo con 5,5-6,0).

[*El ácido ascórbico y el hidróxido de colina pueden reemplazarse por el ascorbato de colina al 5% con cantidades de glicerina y agua aumentadas cada una al 25%].

Entonces, los ácidos restantes (ácidos cítrico y málico) se añaden, seguido por el HPLC45, dando lugar a una solución madre con un pH de entre 6,2 a 7,2, y que comprende 6,75% de bioflavonoides (peso/peso de la solución madre).

Ejemplo 2: espray bucal

INGREDIENTES	PORCENTAJES
Glicerina	10,000
Etanol	15,0
Xilitol	2,0
Polisorbato 20	1,5
Solución madre, pH ajustado a 6,44	1,0
Aroma	0,20
Sacarina sódica	0,08
Cloruro de cetil piridinio	0,05
Fosfato disódico.12 H ₂ O	0,075
Hialuronato sódico	0,005
Agua	Hasta completar 100%

A. Muestra de laboratorio. Se preparó un espray bucal según la invención de la forma siguiente, utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en el recipiente (A) se dispersó el hialuronato sódico en agua, agitando para obtener una solución libre de partículas. Se añadió la sacarina sódica, el cloruro de cetil piridinio, el fosfato disódico, el xilitol y la solución madre, agitando hasta que todos los ingredientes estuvieron completamente disueltos. Se añadió la glicerina y se mezcló todo hasta alcanzar la homogeneidad. En un recipiente separado (B), se combinó el polisorbato 20, el aroma y el etanol. Se mezcla hasta que el aroma se dispersó completamente. Se añadió el contenido del recipiente (B) al recipiente (A), agitando hasta obtener un líquido homogéneo.

B. Procedimiento (de producción) alternativo. Un espray bucal según la invención puede prepararse de la forma siguiente, utilizando los ingredientes anteriormente mencionados: en el recipiente (A) se dispersa el hialuronato sódico en la glicerina. Agitando, se añade agua para obtener una solución sin partículas. Se añade xilitol, la solución madre, la sacarina sódica, el cloruro de cetil piridinio y el fosfato disódico, y se agita 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 se dispersa completamente. Se añade el contenido del recipiente (B) al recipiente (A) con agitación, para obtener un líquido homogéneo.

Ejemplo 3: Enjuague bucal

INGREDIENTES	PORCENTAJES
Glicerina	25,000
Etanol	0,000
Xilitol	2,000
Polisorbato 20	1,500
Solución madre (pH = 6,23 después de 6 meses en RTP)	0,500
Aroma	0,200
Sacarina sódica	0,050
Fluoruro sódico	0,050
Fosfato disódico. 12 H ₂ O	0,050
CI 18965 (amarillo 2G)	0,0009
CI 42051 (Patente Azul V)	0,0003
Agua hasta completar volumen 100%	70,53

A. Muestra de laboratorio: Se preparó un enjuague oral según la invención, de la forma siguiente, utilizando los ingredientes anteriormente mencionados; en el recipiente (A) de mezcla se combinaron agua, sacarina sódica, fluoruro sódico, fosfato disódico, colorante o colorantes, xilitol y solución madre, mezclando hasta que todos los ingredientes se disolvieron completamente. Se añadió la glicerina y se mezcló hasta homogeneidad. En un recipiente separado (B), se combinó el polisorbato 20 y el aroma. Se mezcló hasta que el aroma se dispersó completamente. Se añadió el contenido del recipiente (B) al recipiente (A), agitando hasta obtener un líquido homogéneo.

B. Procedimiento (de producción) alternativo: Se preparó un enjuague oral según la invención de la forma siguiente, utilizando los ingredientes antes mencionados: en el recipiente (A) de mezcla, se combinaron agua, humectantes, solución madre, sacarina sódica, fluoruro sódico, fosfato disódico y colorante. Se mezcló hasta que todos los ingredientes se disolvieron completamente. En un recipiente separado (B), se combinaron el polisorbato 20, el aroma y el etanol. Se mezcló hasta que el aroma se dispersó completamente. Se añadió el contenido del recipiente (B) al recipiente (A), con agitación para obtener un líquido homogéneo.

Ejemplo 4: Pasta de dientes

INGREDIENTES	PORCENTAJES
Glicerina	30,000
Sílice hidratada – abrasivo	12,000
Sílice hidratada – grosor	11,000
Xilitol	10,000
Betaina cocamidopropilo (30%)	3,000
Goma xantan	1,000
Solución madre (pH = 6,68 después de 6 meses con RTP)	0,500
Aroma	1,000
Sacarina sódica	0,260
Fluoruro sódico	0,240
Dióxido de titanio	0,500
Agua	Hasta 100%

A. Muestra de laboratorio: Una pasta de dientes según la invención se preparó de la forma siguiente, utilizando los ingredientes mencionados anteriormente. Se combinaron agua y glicerina en el recipiente A. A esto se le añadió la sacarina sódica, el fluoruro sódico, la solución madre y el xilitol, agitándose hasta su disolución. Se transfirió el contenido del recipiente A a un mezclador al vacío (recipiente B). Se premezclaron los polvos (sílices hidratados, goma xantan y dióxido de titanio) en el recipiente C y se añadieron a la fase líquida en el mezclador al vacío (B). Se mezclaron al vacío hasta homogeneidad. Se añadió el surfactante y el aroma al mezclador al vacío (B), y se mezcló al vacío para formar una pasta suave.

B. Procedimiento (de producción) alternativo: Se preparó una pasta de dientes según la invención de la forma siguiente, utilizando los ingredientes mencionados anteriormente: en un mezclador al vacío, se dispersó la goma xantán en la glicerina, con agitación. Se añadió el agua a la dispersión y se mezcló hasta que la goma xantán se hidrató completamente, y la mezcla estuvo libre de partículas. Se añadió la solución madre, agua y humectante(es) en un mezclador al vacío. Se añadieron las sales solubles (es decir, sacarina sódica, fluoruro sódico) a la fase líquida. Se mezclaron los polvos (es decir, sílice y dióxido de titanio) y se añadieron al mezclador. Se agitó para formar una dispersión uniforme. Se añadió el surfactante y el aroma, y se mezcló al vacío para formar una pasta suave.

Ejemplo 5 – Preparación de la solución madre

Se preparó la siguiente solución madre como anteriormente:

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

Ejemplo 6 – Preparación de la solución madre

Se preparó la siguiente solución madre como anteriormente:

Mezcla de bioflavonoides	3,3%
Ácido málico	4,5%
Ácido cítrico	4,5%
Ascorbato de colina	6,0%
LFG61 alquil glucósido	13,3%

Propilenglicol	7,5%
Agua	60,9%
pH de la solución	de 1,5 a 1,75

Ejemplo 7 – Datos biológicos – Actividad antibacteriana

- Se llevaron a cabo ensayos para determinar si las composiciones orales de la invención eran activas contra bacterias anaeróbicas y facultativas que están implicadas en las enfermedades periodontales.

Materiales y Métodos

- Las bacterias utilizadas fueron *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus sanguinis*. Todas eran cepas de tipo ATCC.

Todos los anaerobios se desarrollaron en caldo de cultivo “exigente” para anaerobios (FAB), a 37°C durante 24 horas en una cámara anaeróbica Don Whitely (disponible en Don Whitely, Yorkshire, Reino Unido). Las bacterias facultativas se desarrollaron en caldo de cultivo nutritivo, en dióxido de carbono al 10% (vol/vol), a 37°C durante 24 horas. El cultivo inicial de 1 ml de crecimiento nocturno, contenía aproximadamente 10^6 cfu/ml. Los cultivos se suplementaron con la solución madre de la invención en concentraciones inferiores a 1/10.000 (0,001%); el diluyente fue el caldo de cultivo apropiado. El crecimiento se calculó mediante un aumento espectrofotométrico en la absorción a 650 nm. El crecimiento en placas de sangre agar al 5% (vol/vol), se utilizó para evaluar las composiciones de pasta de dientes y de lavado bucal. Los pocillos de 0,5 cm aproximadamente de diámetro se cortaron en el agar y se rellenaron con diluciones de la composición respectiva; el diluyente fue el caldo de cultivo apropiado. Las placas se pre-inocularon con 0,2 ml aproximadamente de caldo de cultivo que contenía 10^6 cfu/ml. La concentración inhibitoria mínima se estimó como la concentración de los pocillos a la que no se apreció inhibición del crecimiento.

Resultados de los Experimentos de Crecimiento

Los porcentajes se refieren a los de la solución madre presente en las formulaciones respectivas.

Tabla 1: Pasta de dientes respecto a los cultivos

Organismo	0,5%	1%
<i>A viscosus</i>	1/5000	1/5000
<i>A odontolyticus</i>	1/1000	1/1000
<i>P gingivalis</i>	1/5000	1/5000
<i>P intermedia</i>	1/1000	1/1000
<i>P buccae</i>	1/5000	1/5000
<i>P denticola</i>	1/5000	1/5000
<i>S gordonii</i>	1/1000	1/1000
<i>S sanguinis</i>	1/1000	1/1000

Tabla 2: Lavado bucal respecto a los cultivos

Organismo	0,5%	1%
<i>A viscosus</i>	1/10,000	1/10,000
<i>A odontolyticus</i>	1/5000	1/5000
<i>P gingivalis</i>	1/10,000	1/5000
<i>P intermedia</i>	1/1000	1/1000
<i>P buccae</i>	1/1000	1/5000
<i>P denticola</i>	1/5000	1/5000
<i>S gordonii</i>	1/5000	1/5000
<i>S sanguinis</i>	1/5000	1/5000

Tabla 3: Pasta de dientes respecto a difusión de los pocillos

Organismo	0,5%	1%
<i>A viscosus</i>	1/10,000	1/10,000
<i>A odontolyticus</i>	1/5000	1/5000
<i>P gingivalis</i>	1/10,000	1/10,000
<i>P intermedia</i>	1/1000	1/1000
<i>P buccae</i>	1/1000	1/1000
<i>P denticola</i>	1/5000	1/5000
<i>S gordonii</i>	1/5000	1/5000
<i>S sanguinis</i>	N/A	N/A

Tabla 4: Lavado bucal respecto a difusión de pocillos

Organismo	0,5%	1%
<i>A viscosus</i>	1/10,000	1/10,000
<i>A odontolyticus</i>	1/5000	1/5000
<i>P gingivalis</i>	1/10,000	1/10,000
<i>P intermedia</i>	1/1000	1/1000
<i>P buccae</i>	1/1000	1/1000
<i>P denticola</i>	1/5000	1/5000
<i>S gordonii</i>	1/5000	1/5000
<i>S sanguinis</i>	N/A	N/A

- 5 **Conclusión:** Los lavados bucales, las pastas de dientes y la solución madre fueron notablemente equipotentes respecto al orden de bacterias ensayadas. Además, no se detectó diferencia en la potencia entre las versiones al 0,5% y al 1,0% de la solución madre de las pastas de dientes y de los lavados bucales.

- 10 En ensayos similares (cultivos) utilizando la solución madre, se encontró que también era inhibitoria a una dilución del 1/100 contra *S oralis*, *S sobrinus*, *S mutans* y *S intermedius*; y una dilución del 1/10 contra *Lactobacillus acidophilus*, *Eubacterium nodatum*, *Actinomyces israelii* y *Actinomyces naeslundii*; and undiluted against *C albicans* and *C tropicalis*.

Ensayos adicionales

- 15 Se ensayaron dos formulaciones: Ejemplo 5 y Ejemplo 6. Para cada formulación, se prepararon diluciones dobles, con un pH de 1,75 y 2,0, respectivamente, utilizando la Infusión Sangre-Corazón (BHI o el caldo de cultivo de Sabouraud como diluyente, que dieron lugar a soluciones con un intervalo de concentraciones (8% - 0,015625% de la Solución Madre, vol/vol).

- 20 Cepas de varias especies bacterianas y candidiásicas (véase Tabla 1), se obtuvieron y cultivaron durante 48 horas bajo condiciones apropiadas. Se prepararon suspensiones de cada microorganismo en caldo de cultivo (caldo de cultivo BHI para bacterias, caldo de cultivo Sabourand para *Candida* spp.) a un nivel de turbidez aproximadamente igual al estándar 3,0 de MacFarland.

- 25 **Tabla 1: Especies de microorganismos utilizados en este 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>

- 30 Un volumen de 100 µl de cada suspensión microbiana se añadió a los pocillos de una placa de microtitulación. A cada pocillo se le añadió un volumen idéntico de la solución del Ejemplo 5 o del Ejemplo 6 (que contenía el caldo de cultivo pareado), dando lugar a concentraciones finales de la solución madre de 4% - 0,0078125% (vol/vol). También se prepararon pocillos que no contenían solución madre y/o no microorganismos, para que actuaran como controles. Cada placa de microtitulación se incubó durante 24 horas a 37°C bajo las condiciones atmosféricas apropiadas. Después de la incubación, las cantidades relativas de cada especie microbiana se estimaron midiendo la turbidez en cada pocillo, utilizando un espectrofotómetro lector de la absorbancia a una longitud de onda de 544 nm. Las lecturas de la absorbancia se refirieron a la disolución que contiene la matriz de la muestra utilizando los controles con una ausencia de microorganismos.

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

Resultados

Los valores MIC observados para los 13 microorganismos en respuesta a ambas formulaciones del Ejemplo 5 y del Ejemplo 6, se suman a continuación en la Tabla 2.

El desarrollo de cada uno de los microorganismos estudiado fue inhibido por ambas formulaciones del Ejemplo 5 y del Ejemplo 6, con la excepción de *Candida glabrata*. El crecimiento de esta especie de levadura no pareció ser inhibido en absoluto por el Ejemplo 6, incluso cuando se encontraba a una concentración del 8% (vol/vol), la superior que se utilizó en el presente estudio.

La comparación de las MIC de las dos formulaciones de los Ejemplos 5 y 6, sugirió que el Ejemplo 5 fue más efectivo que el 6 en la inhibición del crecimiento microbiano. La MIC para cada microorganismo fue más baja con el Ejemplo 5 que el Ejemplo 6, con la excepción de *Porphyromonas gingivalis* para la cual ambas formulaciones tenían un valor idéntico del 1%. Además, el Ejemplo 5 inhibía el crecimiento de cada microorganismo cuando se encontraba a una concentración del 1% (vol/vol), incluso si la reducción del crecimiento no era del todo superior al 50% (el criterio fijado en este estudio para definir la MIC). Esto soporta la utilización del 1% (vol/vol) de la solución madre del Ejemplo 5 como la concentración de trabajo preferida en los productos futuros y en la investigación.

Tabla 2: Valores MIC observados en este estudio para cada microorganismo en respuesta a las formulaciones del Ejemplo 5 y del Ejemplo 6.

Microorganismo	MIC (porcentaje de la solución de almacenamiento, vol/vol)	
	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

* Aparente no inhibición del crecimiento, incluso con la concentración más alta utilizada en este estudio.

REIVINDICACIONES

1. Composición apropiada para la utilización oral que presenta un pH en el intervalo de 3 a 8,5 y comprende:
 - 5 (a) en el intervalo de 0,1% a <10% peso/peso, sobre la base del peso total de la composición, una solución madre que comprende 0,45 a 9% de una mezcla de bioflavonoides, en la que en exceso de 75% de los bioflavonoides se encuentran la naringina y la neohesperidina, y ácidos frutales o sus sales; y
 - 10 (b) agua.
2. Composición según la reivindicación 1, que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que la mezcla de bioflavonoides se obtiene a partir del blanco de la cáscara de naranjas amargas inmaduras.
- 15 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la solución madre comprende 0,9 a 6,75% de la mezcla de bioflavonoides.
- 20 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende 0,00045 a 0,9% peso/peso de bioflavonoides, 0,001 a 2,0% peso/peso de ácido cítrico, 0,001 a 2,0% peso/peso de ácido málico, 0,001 a 2,0% peso/peso de ácido ascórbico, 0,00045 a 2,03% peso/peso de base de colina y comprendiendo el equilibrio agua, codisolvente(s), y excipiente(s) y/o portador(es).
- 25 6. Composición según la reivindicación 5, que comprende 0,000675 a 0,675% peso/peso de bioflavonoides 0,015 a 1,5% peso/peso de ácido cítrico, 0,015 a 1,5% peso/peso de ácido málico, 0,005 a 0,5% peso/peso de ácido ascórbico, 0,015 a 0,9% peso/peso de base de colina y comprendiendo el equilibrio agua, codisolvente(s) y excipiente(s) y/o portador(es).
- 30 7. Composición según las reivindicaciones 1 a 4, que comprende una sal de un ácido frutal seleccionado de entre sales de citrato, de malato y de ascorbato.
8. Composición según la reivindicación 7, en la que la sal es de una base amónica cuaternaria.
9. Composición según la reivindicación 8, en la que la base es la colina.
- 35 10. Composición según la reivindicación 7, en la que la sal de ácido frutal es el ascorbato de colina.
11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición oral presenta un pH en el intervalo de 3,5 a 8, de 4 a 7 o de 5 a 6,5.
- 40 12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la mezcla de bioflavonoides se encuentra en asociación con la biomasa.
13. Composición según la reivindicación 12, en la que la biomasa se encuentra en el intervalo de 40 a 60%, peso/peso, sobre la base del peso de la mezcla de bioflavonoides.
- 45 14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los bioflavonoides son seleccionados de entre isocriocirm, isonaringina, naringina, hesperidina, neohesperidina, neodiosmina, naringenina, poncirina y riofolén.
- 50 15. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende alcohol en el intervalo de 0 a 30% peso/peso, sobre la base del peso de la composición oral.
16. Composición según la reivindicación 15, en la que el alcohol es el etanol.
- 55 17. Composición según la reivindicación 2, en la que el portador se selecciona de entre agentes de fluoración, aromas, edulcorantes, colorantes y conservantes; agentes antimicrobianos y antiplaca; humectantes, surfactantes, espesantes, gomas, aglutinantes y agentes abrasivos, y formadores de película.
- 60 18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende agua en el intervalo de 20 a 80% en peso sobre la base del peso de la composición.
19. Composición según la reivindicación 18, en la que la composición es una pasta de dientes que comprende 20 a 40% peso/peso de agua o una composición líquida que comprende 60 a 80% peso/peso de agua.
- 65 20. Composición según la reivindicación 19, en la que la composición es un spray bucal, un colutorio o de lavado

bucal.

5 21. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su utilización en el tratamiento, la prevención o la mejora de los efectos de una infección microbiana en la cavidad oral o de otra enfermedad periodontal.

22. Composición para su utilización según la reivindicación 21, en la que la infección es bacteriana.

10 23. Utilización de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para limpiar, desinfectar o eliminar los restos de la cavidad oral; para refrescar, renovar, eliminar o mejorar el olor o el sabor en la cavidad oral, o para ocuparse de la higiene, apariencia y sensación de la cavidad oral.

15 24. Procedimiento para la preparación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende llevar a cabo una mezcla física íntima de los componentes (a), (b) y opcionalmente de un portador farmacéuticamente aceptable.

20 25. Composición para su utilización según la reivindicación 21, en la que 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*.