

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 758**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/522** (2006.01)  
**A61K 31/52** (2006.01)  
**A61K 31/437** (2006.01)  
**A61K 31/66** (2006.01)  
**A61K 33/42** (2006.01)  
**A61K 33/10** (2006.01)  
**A61K 33/06** (2006.01)  
**A61P 1/02** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.02.2011 PCT/US2011/024734**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2011 WO2011100671**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2011 E 11742948 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2533786**

54 Título: **Composiciones que comprenden teobromina para la prevención de caries**

30 Prioridad:

**12.02.2010 US 303774 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.06.2017**

73 Titular/es:

**THEOCORP HOLDING CO., LLC (100.0%)**  
**3512 8th Street**  
**Metairie, Louisiana 70002, US**

72 Inventor/es:

**SADEGHPOUR, ARMAN y**  
**NAKAMOTO, TETSUO**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 617 758 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

Composiciones que comprenden teobromina para la prevención de caries

## 5 ANTECEDENTES

## 1. Campo

La presente solicitud se refiere a composiciones para prevenir la caries dental. En particular, la presente solicitud se refiere a composiciones acuosas para mejorar la resistencia mecánica de los dientes.

## 2. Descripción de la técnica relacionada

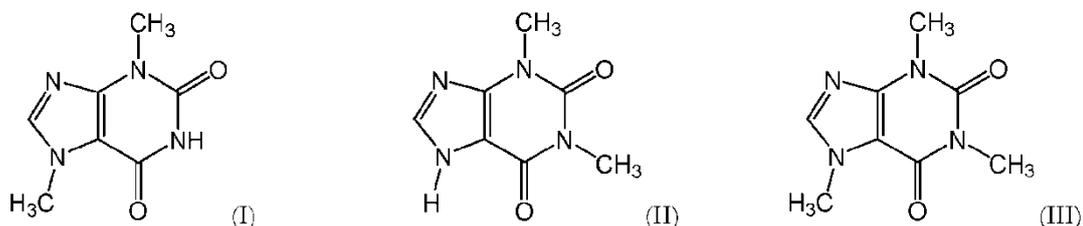
Las caries dentales son una de las enfermedades prevenibles más comunes que aquejan a seres humanos y animales no humanos en todo el mundo. La caries dental (deterioro dental, cavidad) está causada por procesos bacterianos que dañan la estructura dental dura (p.ej., esmalte, dentina y cemento). Estas estructuras dentales se descomponen progresivamente, produciendo orificios en los dientes (caries dental). Dos grupos de bacterias, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp., producen ácido láctico en presencia de carbohidratos fermentables tales como sacarosa, fructosa y glucosa, y son responsables en gran medida de iniciar las caries. Los dientes, que están compuestos principalmente por minerales, están constantemente sometidos a desmineralización y remineralización entre los dientes y la saliva circundante.

El hidroxiapatito, un fosfato de calcio cristalino, es el mineral primario de la superficie del esmalte dental y tiene la fórmula general  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ , pero se escribe habitualmente  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  para denotar que la celda unitaria cristalina comprende dos entidades. Cuando el pH en la superficie dental cae por debajo de 5,5, la desmineralización procede más rápido que la remineralización (es decir, aparece una pérdida neta de hidroxiapatito sobre la superficie dental). Esta pérdida de estructura mineral da como resultado el deterioro dental. Si se deja sin tratar, la enfermedad puede conducir a dolor, pérdida de dientes, infección y, en casos extremos, la muerte.

Para prevenir la caries dental, los dentistas profesionales recomiendan cepillarse los dientes al menos dos veces al día con un dentífrico que contenga fluoruro, que retira las placas bacterianas. El fluoruro ayuda a la prevención de la caries al unirse a las superficies de hidroxiapatito en el esmalte dental, formando fluoroapatito, y haciendo al esmalte más resistente a la desmineralización (y por tanto más resistente al deterioro). El fluoruro se añade también comúnmente a los suministros de aguas municipales para prevenir el deterioro dental, aunque el National Research Council (que oficia bajo los auspicios de la National Academy of Sciences, la National Academy of Engineering y el Institute of Medicine) concluyó recientemente que los niveles de fluoruro encontrados en los suministros de agua municipales y los niveles de fluoruro conocidos por causar efectos tóxicos están peligrosamente cercanos entre sí.

Ha habido poca o ninguna innovación en las pastas de dientes comerciales desde mediados del siglo XX. El ingrediente anticaries activo en todas las pastas de dientes comerciales es fluoruro de sodio al 0,24 % (NaF, ion fluoruro al 0,15 % p/v) o monofluorofosfato de sodio al 0,76 % ( $\text{Na}_2\text{FPO}_3$ , ion fluoruro al 0,14 % p/v). Las recientes innovaciones en el mercado de la pasta de dientes comercial están dirigidas a aromas, abrasivos o blanqueantes, en lugar de a la actividad de lucha contra las cavidades.

La teobromina (nombre IUPAC: 3,7-dimetil-2,3,6,7-tetrahidro-1H-purin-2,6-diona; también conocida como 3,7-dimetilxantina) es un polvo cristalino blanco (o incoloro) de sabor amargo con un punto de sublimación de 290-295 °C, un punto de fusión de 357 °C y un peso molecular de 180,16 g/mol. La solubilidad de la teobromina en agua es de 1,0 g/2 l; en agua hirviendo, es de 1,0 g/150 ml y en etanol al 95 % es de 1,0 g/2,2 l. La teobromina está relacionada químicamente con cafeína y teofilina, y se encuentra en numerosos alimentos incluyendo chocolate, cacao, hojas de té y bayas de asaí. Las estructuras químicas de teobromina, teofilina (1,3-dimetilxantina) y cafeína (1,3,7-trimetilxantina) se dan a continuación como las fórmulas I, II y III, respectivamente.



- La teobromina se encuentra naturalmente en los granos de cacao (*Theobroma cacao*) a una concentración de aproximadamente 1,5 % a aproximadamente 3 %, y en la cáscara del grano a una concentración de aproximadamente 0,7 % a aproximadamente 1,2 %, o de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 g/kg (Winholdz, 1983). Aunque parte de la misma familia química, deben distinguirse los efectos estimulantes de la teobromina de los de la cafeína. La cafeína actúa relativamente rápido, y su efecto principal sobre los seres humanos es una alerta mental aumentada; el efecto de la teobromina es más sutil, y causa una elevación del ánimo que es más leve y duradera que la de la cafeína. La semivida plasmática de la teobromina ( $t_{1/2}$ ) en la corriente sanguínea es de 6 horas, mientras que la de la cafeína es de solo 2 horas. Es otra diferencia que la teobromina no es fisiológicamente adictiva, no produciendo síntomas de abstinencia después de un consumo regular prolongado, mientras que la cafeína se ha probado que es fisiológicamente adictiva y está ligada a muchos casos de abstinencia probada.
- 15 Dos estudios independientes realizados en los 1980 encontraron que el nivel medio de teobromina es 8 variedades de polvo de cacao comercial era de un 1,89 % (Shively y Tarka, 1984 y Zoumas y col., 1980). Son de particular relevancia los niveles normales de teobromina encontrados en comestibles disponibles comercialmente, mostrados a continuación en la TABLA 1.

Tipo de alimento	Contenido de teobromina
Bebidas de chocolate caliente	65 mg/ración de 5 oz
Leche con chocolate (a partir de polvo de cacao instantáneo o edulcorado)	58 mg/ración
Cacao caliente (media de 9 mezclas comerciales)	62 mg/ración
Cereales de cacao*	0,695 mg/g
Productos de pastelería de chocolate *	1,47 mg/g
Espolvoreado de chocolate *	1,95 mg/g
Bebidas de cacao *	2,66 mg/g
Helado de chocolate *	0,621 mg/g
Leche con chocolate *	0,226 mg/g
Pudín de chocolate *	74,8 mg/ración
Productos de algarroba*	0-0,504 mg/g

Fuentes: Zoumas, y col., 1980; Blauch y Tarka, 1983; Shively y Tarka, 1984; Craig y Nguyen, 1984.  
 \*Contenido de teobromina determinado por HPLC/cromatografía en columna de fase inversa. El chocolate negro contiene los niveles máximos de teobromina por ración de cualquier tipo de chocolate, pero las concentraciones tienden a variar entre aproximadamente 0,36 % y aproximadamente 0,63 %. Para poner esto en perspectiva con los comestibles mencionados en la TABLA 1, una barra de una onza de chocolate negro contiene aproximadamente 130 mg de teobromina, mientras que una barra de una onza de chocolate con leche contiene aproximadamente 44 mg de teobromina. Por tanto, la concentración de teobromina es una barra de una onza de chocolate negro es aproximadamente dos veces la cantidad en una taza de 5 onzas de chocolate caliente. Para que un ser humano de 143 libras consiga un nivel tóxico de teobromina en su sangre, tendría que ingerir aproximadamente 86 barras de chocolate con leche de una onza en una sesión.

20

La teobromina puede también aislarse o producirse como una sal amina (p.ej., la sal de etilendiamina de la misma) o

una sal doble de la misma (p.ej., con sales de metales alcalinos o sales de metales alcalinotérreos de ácidos orgánicos, por ejemplo sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de ácido acético, glucónico, benzoico o salicílico). Las sales dobles pueden prepararse para hacer la teobromina más hidrosoluble o para hacer complejos insolubles.

5

En 1966, Strålfors reseñó una reducción de la caries dental en hámsteres que se alimentaron con dietas ricas en chocolate. El estudio de Strålfors examinó el efecto sobre la caries del hámster comparando polvo de cacao, polvo de cacao desgrasado y grasa de cacao. El polvo de cacao puro inhibía la caries dental un 84 %, 75 %, 60 % y 42 % cuando el polvo de cacao comprendía un 20 %, 10 %, 5 % y 2 % de la dieta del hámster, respectivamente. El cacao desgrasado mostraba un efecto anticaries significativamente mayor que el polvo de cacao que contenía grasa, pero la manteca de cacao sola (que comprende un 15 % de la dieta del hámster) aumentaba significativamente la caries dental (Strålfors A. "Effect on Hamster Caries by Dialyzed, Detanned or Carbon-treated Water-Extract of Cocoa" Arch Oral Biol. 1966; 11: 609-15.

15 En un estudio de seguimiento, Strålfors estudió las porciones no grasas del polvo de cacao y demostró que el polvo de cacao lavado con agua poseía considerablemente menos efecto anticariogénico que el polvo de cacao no lavado. No obstante, Strålfors seguía observando un considerable efecto anticaries en el grupo de polvo de cacao lavado, "indicando la existencia de un factor cariostático no hidrosoluble" y aludió a la existencia de "dos sustancias inhibidoras de la caries en el cacao: una hidrosoluble y otra que es escasamente soluble en agua" (Strålfors, A., 20 1966).

Estudios posteriores sugirieron que los cristales de apatito crecidos *in vitro* en presencia de teobromina eran significativamente mayores que aquellos crecidos en ausencia de teobromina (véanse, p.ej., las patentes de EE.UU. nº 5.919.426 y 6.183.711, cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad). La ingestión de teobromina por ratas lactantes se correlacionaba con un tamaño aumentado de cristallitos de hidroxiapatito (mayor 25 cristalinidad) en todos los primeros molares de las crías amamantadas expuestas a teobromina frente a controles, así como una resistencia aumentada a la disolución ácida (véase *id.*). Los fémures de las crías hembras amamantadas expuestas a teobromina demostraban una mayor cristalinidad y eran más resistentes y sólidos que los controles de género coincidente; los fémures de las crías macho, sin embargo, no mostraban esta relación (véase 30 *id.*).

La relación de Hall-Petch, sin embargo, dicta que la resistencia de un material sólido ante deformación permanente (p.ej., su dureza de indentación) aumenta a medida que disminuye el tamaño de partícula. Por consiguiente, la cristalinidad aumentada del hidroxiapatito observada después de exposición a teobromina, sumada a la relación de Hall-Petch, sugiere que la resistencia de hueso y dientes a la indentación y la deformación permanente debería 35 disminuir tras exposición a teobromina debido al mayor tamaño de cristal. Esta sugerencia encuentra apoyo en un trabajo reciente, que demuestra que "la dureza [del hidroxiapatito] sigue la relación de Hall-Petch a medida que disminuye el tamaño de grano desde submicrómetros a nanómetros" (Wang J. y col. "Nanocrystalline hydroxyapatite with simultaneous enhancements in hardness and toughness" Biomaterials. 2009; 30: 6565-72). Otro estudio sugiere 40 que la "dureza" del hidroxiapatito tiene poco que ver con el tamaño de partícula, no mostrando casi cambios en la dureza al disminuir el tamaño de grano, aunque demuestra que la "tenacidad de fractura" del hidroxiapatito aumenta al disminuir el tamaño de partícula (Mazaheri M, y col. "Effect of a novel sintering process on mechanical properties of hydroxyapatite ceramics." J. Alloys Compd. 2009; 471: 180-4). Un estudio de dientes adultos y primarios (de leche) humanos demostró que "cuando se compara con el diente adulto, el esmalte del de leche era más fino, más 45 blando, con mayor tendencia a la fractura y poseía mayores granos [de hidroxiapatito]" (Low IM, y col. "Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth." Mater Sci Eng C Mater Biol App. 2008; 28: 243-47).

El documento US 2005/0054682 se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden cacao, fosfato de 50 tricalcio, fosfato de dipotasio y bicarbonato de sodio, para el suministro de inhibidores de bomba de protón para el tratamiento de trastornos relacionados con el ácido gástrico.

Debido a dichos resultados conflictivos y paradójicos, no pueden extrapolarse las características y respuestas conocidas del hidroxiapatito ante factores ambientales para predecir un resultado fiable o exacto simplemente 55 evaluando la técnica anterior y extrapolando un resultado.

## BREVE RESUMEN

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición para uso en la prevención de caries dental,

comprendiendo la composición de 0,01 % a 5 % en peso de teobromina, o una sal o sal doble de la misma, al menos una fuente de calcio, al menos una fuente de fosfato y un pH de 5 a 10. La al menos una fuente de calcio puede seleccionarse de entre el grupo consistente en cloruro de calcio, carbonato de calcio, gluconato de calcio, fosfato de calcio y combinaciones de los mismos. La al menos una fuente de fosfato puede seleccionarse de entre el grupo  
 5 consistente en dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio, fosfato de tripotasio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, fosfato de trisodio y combinaciones de los mismos. La composición puede comprender además al menos un agente isotónico. El agente isotónico puede ser un alcohol polihidroxiílico. El alcohol polihidroxiílico puede seleccionarse de entre el grupo consistente en xilitol, sorbitol, manitol, maltitol, lactitol, isomaltitol, eritritol, arabitol, glicerol y combinaciones de los mismos. La composición puede comprender además al  
 10 menos un espesante. El espesante puede seleccionarse de entre el grupo consistente en metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y combinaciones de los mismos. La composición puede comprender además un agente antibacteriano. El agente antibacteriano puede ser triclosán, peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 4-hidroxibenzoato de metilo, aceite de clavo, cloruro de benzalconio o combinaciones de los mismos.

15

En un aspecto de esta realización, se proporciona una composición para mejorar la dureza de al menos un diente, donde dicha composición mejora dicha dureza más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 1,1 % de cualquiera de fluoruro de sodio o monofluorofosfato de sodio. En un aspecto relacionado, la composición mejora dicha dureza más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,5 % de fluoruro de sodio o de 0 a  
 20 aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto relacionado, la composición mejora dicha dureza más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,25 % en peso de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % en peso de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto relacionado, la composición mejora dicha dureza más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,15 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio.

25

En una realización, la presente divulgación proporciona una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en un procedimiento de tratamiento de superficies dentales en un mamífero necesitado de ello, comprendiendo dicho procedimiento:

30 Proporcionar una composición que comprende de 0,01 % a 5 % en peso de teobromina, sal de teobromina o sal doble de teobromina, al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, donde el pH de dicha composición es de 6,0 a 8,5; y administrar dicha composición a dicho mamífero. La al menos una fuente de calcio puede seleccionarse de entre el grupo consistente en cloruro de calcio, carbonato de calcio, gluconato de calcio, fosfato de calcio y combinaciones de los mismos. La al menos una fuente de fosfato puede seleccionarse de entre el  
 35 grupo consistente en dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio, fosfato de tripotasio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, fosfato de trisodio y combinaciones de los mismos. La composición de dicho procedimiento puede comprender además al menos un agente isotónico. El agente isotónico puede ser un alcohol polihidroxiílico. El alcohol polihidroxiílico puede seleccionarse de entre el grupo consistente en xilitol, sorbitol, manitol, maltitol, lactitol, isomaltitol, eritritol, arabitol, glicerol y combinaciones de los mismos. La  
 40 composición de dicho procedimiento puede comprender además al menos un espesante. El espesante puede seleccionarse de entre el grupo consistente en metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y combinaciones de los mismos. La composición puede comprender además un agente antibacteriano, un agente antimicrobiano o combinaciones de los mismos. El agente antibacteriano puede seleccionarse de entre el grupo consistente en triclosán, peróxido de hidrógeno, 4-hidroxibenzoato de metilo, aceite de clavo y combinaciones de los  
 45 mismos.

En un aspecto de esta realización, se proporciona una composición para tratar una superficie dental de al menos un diente, donde dicha composición trata dicha superficie dental mejor que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 1,1 % de cualquiera de fluoruro de sodio o monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho  
 50 procedimiento, la composición trata dicha superficie dental mejor que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,5 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho procedimiento, la composición trata dicha superficie dental menor que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,25 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho procedimiento, la composición trata dicha superficie dental  
 55 mejor que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,15 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto, dicha superficie dental está rayada, astillada, erosionada, desgastada, picada o dañada por caries dental y/o dañada por otro traumatismo. En una realización, la presente divulgación proporciona una composición para uso en un procedimiento de mejora de la dureza de indentación de al menos un diente, comprendiendo dicho procedimiento proporcionar una composición

que comprende de 0,01 % a 5 % en peso de teobromina, sal de teobromina o sal doble de teobromina, al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, donde el pH de dicha composición es de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,5; y administrar dicha composición a dicho mamífero. La al menos una fuente de calcio puede seleccionarse de entre el grupo consistente en cloruro de calcio, carbonato de calcio, gluconato de calcio, fosfato de calcio y combinaciones de los mismos. La al menos una fuente de fosfato puede seleccionarse de entre el grupo consistente en dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio, fosfato de tripotasio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, fosfato de trisodio y combinaciones de los mismos. La composición de dicho procedimiento puede comprender además al menos un agente isotónico. El agente isotónico puede ser un alcohol polihidroxílico. El alcohol polihidroxílico puede seleccionarse de entre el grupo consistente en xilitol, sorbitol, manitol, maltitol, lactitol, isomaltitol, eritritol, arabitol, glicerol y combinaciones de los mismos. La composición para uso en dicho procedimiento puede comprender además al menos un espesante. El espesante puede seleccionarse de entre el grupo consistente en metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y combinaciones de los mismos. La composición para uso en dicho procedimiento puede comprender además un agente antibacteriano, un agente antimicrobiano o combinaciones de los mismos. El agente antibacteriano puede seleccionarse de entre el grupo consistente en triclosán, peróxido de hidrógeno, 4-hidroxibenzoato de metilo, aceite de clavo y combinaciones de los mismos. La mejora puede comprender además la deposición de hidroxiapatito y/o fosfato de calcio nuevos sobre dicho diente.

En un aspecto de esta realización, se proporciona una composición para uso en un procedimiento de mejora de la dureza de indentación de al menos un diente, donde dicha composición mejora dicha dureza de indentación más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 1,1 % en peso de cualquiera de fluoruro de sodio o monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho procedimiento, la composición mejora dicha dureza de indentación más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,5 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho procedimiento, la composición mejora dicha dureza de indentación más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,25 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio. En un aspecto de dicho procedimiento, la composición mejora dicha dureza de indentación más que un dentífrico que contenga de 0 a aproximadamente 0,15 % de fluoruro de sodio o de 0 a aproximadamente 0,76 % de monofluorofosfato de sodio.

### 30 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para una comprensión adicional de la naturaleza, objetos y ventajas divulgados por la presente solicitud, debería hacerse referencia a la siguiente descripción detallada, leída junto con los siguientes dibujos, donde los números de referencia similares designan elementos similares.

La FIG. 1 muestra indentaciones en el esmalte dental después de la prueba de microdureza. La línea discontinua indica la longitud (L) de la diagonal larga, usada en el cálculo del índice de dureza de Knoop (HK).

La FIG. 2 muestra micrografías de barrido electrónico de un diente de control a diferentes aumentos.

La FIG. 3 muestra indentaciones en el esmalte dental de un diente expuesto a NaF al 0,15 % (750x aumentos).

La FIG. 4 muestra indentaciones en el esmalte dental de un diente expuesto a NaF al 0,25 % (750x aumentos).

La FIG. 5 muestra indentaciones del esmalte de un diente expuesto a teobromina 5 mg/l (750x aumentos).

La FIG. 6 muestra indentaciones del esmalte de un diente expuesto a teobromina 10 mg/l (250x aumentos).

La FIG. 7 muestra indentaciones del esmalte de un diente expuesto a teobromina 200 mg/l (750x aumentos).

La FIG. 8 muestra indentaciones del esmalte de un diente expuesto a teobromina 500 mg/l (250x aumentos). El recuadro discontinuo en la FIG. 8 indica el área mostrada en la FIG. 9 a 750x aumentos.

La FIG. 9 muestra el área limitada por el cuadrado discontinuo en la FIG. 8 y muestra indentaciones del esmalte de un diente expuesto a teobromina 500 mg/l (750x aumentos).

La FIG. 10 es una gráfica de barras que muestra los efectos de diferentes concentraciones de NaF y teobromina sobre la microdureza.

La FIG. 11 es un gráfico de dispersión semilogarítmico que muestra los efectos de diferentes concentraciones de NaF y teobromina sobre la microdureza.

La FIG. 12 muestra tres micrografías de barrido electrónico de tres muestras dentales diferentes rayadas con un punzón de diamante. La FIG. 12A muestra dicho diente incubado en una solución de control (saliva artificial); la FIG. 12B muestra dicho diente incubado en una solución que contiene NaF al 0,25 % y la FIG. 12C muestra dicho diente incubado en una solución que contiene teobromina 200 mg/l.

La FIG. 13 es una gráfica de barras que muestra el cambio de microdureza de Vickers de muestras dentales

sometidas a un modelo de caries e incubadas entonces durante 14 días en saliva artificial, pasta de dientes con 0,25 % de NaF o teobromina 200 mg/l.

La FIG. 14 es una gráfica de barras que muestra el cambio de microdureza de Vickers de muestras dentales sometidas a un modelo de erosión e incubadas entonces durante 14 días con saliva artificial, pasta de dientes con 0,25 % de NaF o teobromina 200 mg/l.

5

### DESCRIPCIÓN DETALLADA

En la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen la referencia plural a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende habitualmente por un especialista en la materia a la que pertenece el tema de la presente solicitud.

10

La presente divulgación comprende teobromina para uso en la prevención de caries dental, para uso en el tratamiento de desgaste dental o para uso en la mejora de la resistencia mecánica de dientes para administración a un mamífero necesitado de ello.

15

La teobromina de la presente composición puede aislarse o producirse en forma de una sal amina (p.ej., la sal de etilendiamina de la misma) o una sal doble de la misma (p.ej., con sales de metales alcalinos o sales de metales alcalinotérreos de ácidos orgánicos, por ejemplo sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de ácido acético, glucónico, benzoico o salicílico). Las sales dobles pueden prepararse para hacer la teobromina más hidrosoluble o para hacer complejos insolubles. Las sales de adición de ácido adecuadas de la teobromina incluyen las sales de adición de ácido que incluyen sales inorgánicas farmacéuticamente aceptables tales como sulfato, nitrato, fosfato, borato, clorhidrato y bromhidrato y sales de adición de ácido orgánico farmacéuticamente aceptables tales como acetato, tartrato, maleato, citrato, succinato, benzoato, ascorbato, metanosulfonato,  $\alpha$ -cetoglutarato,  $\alpha$ -glicerofosfato y glucosa-1-fosfato. Preferiblemente, la sal de adición de ácido es una sal clorhidrato. La química, propiedades físicas, producción, uso, aparición, metabolismo, toxicidad, análisis y carcinogenicidad de las metilxantinas se han revisado por un grupo de trabajo de la International Agency for Research on Cancer (World Health Organization, “Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal”, Monografía de la IARC sobre la evaluación de riesgos carcinogénicos para seres humanos, vol. 51 (1991).

20

25

30

Los compuestos de la composición de teobromina están preferiblemente en forma farmacéuticamente aceptable. Se entiende por forma farmacéuticamente aceptable, entre otros, un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y vehículos, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Un nivel farmacéuticamente aceptable de pureza será generalmente de al menos un 50 %, excluyendo aditivos farmacéuticos normales, preferiblemente de 75 %, más preferiblemente de 90 % y aún más preferiblemente de 95 %.

35

La concentración de teobromina puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000, de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 900, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 800, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 700, de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 600, de aproximadamente 1 a aproximadamente 500, de aproximadamente 5 a aproximadamente 500, de aproximadamente 10 a aproximadamente 450, de aproximadamente 25 a aproximadamente 400, de aproximadamente 50 a aproximadamente 350, de aproximadamente 100 a aproximadamente 300, de aproximadamente 150 a aproximadamente 250, de aproximadamente 175 a aproximadamente 225 y preferiblemente de aproximadamente 200 mg/l.

40

45

Por consiguiente, la presente divulgación proporciona una composición de teobromina que comprende teobromina aislada, o una sal o sal doble de la misma, al menos una fuente de calcio y al menos una fuente de fosfato, donde el pH de la composición es de 5 a 10, de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 9,5, de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 9,0, de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,5, de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5, de aproximadamente 6,8 a aproximadamente 8,2, de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 8,0, de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 7,8, y preferiblemente de aproximadamente 7,4 a aproximadamente 7,6.

50

55

La composición de teobromina se formula para administración oral u oral tópica, y puede formularse para liberación lenta o rápida de los ingredientes activos. Por ejemplo, la composición de teobromina puede estar en forma de comprimidos (incluyendo comprimidos de disgregación oral), gomas (p.ej., goma de mascar), saquitos, polvos, gránulos, pastillas, polvos reconstituibles y preparaciones líquidas, en gel o en pasta tales como soluciones o

- suspensiones orales. Se conciben también formulaciones orales tópicas, cuando sean apropiadas (p.ej., pasta de dientes, colutorio, hilo dental, férulas sin receta, tiras recubiertas, barnices ortodóncicos y pediátricos, cementos o adhesivos dentales, pastas de pulido, agentes blanqueantes dentales y materiales y resinas de relleno de cavidades (tanto reactivas a UV como no reactivas a UV)), así como la incorporación de la composición de teobromina a
- 5 comestibles (p.ej., productos de pastelería, bebidas, etc.) y materiales endodóncicos (p.ej., gutapercha, etc. que contienen la composición de teobromina), todos los cuales pueden usarse con o sin grabado ácido previo de una superficie dental (véase, p.ej., el EJEMPLO 4 siguiente). Para obtener consistencia se prefiere, pero no es necesario, proporcionar la composición como una dosis unitaria.
- 10 Las formulaciones pueden contener excipientes convencionales tales como aglutinantes (p.ej., jarabes tales como jarabe de maíz, goma arábica, gelatina, sorbitol, tragacanto, polivinilpirrolidona, polietilenglicoles (PEG), ceras y otras grasas, manteca de cacao, sustitutos de manteca de cacao, sebo hidrogenado, aceites vegetales hidrogenados, aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de nuez de palma, aceite de soja, ésteres de estanol, ésteres de glicerol, ésteres de polialcohol, ésteres de polioxietileno de restos hidrófilos e hidrófobos de 0,5 a
- 15 más de 20 y polietilenglicoles, monosacáridos, oligosacáridos (dextrosa, dextrosa monohidratada, lactosa, manosa, fructosa y derivados y mezclas de los mismos), polisacáridos, soluciones de goma, hidrolizados de almidón hidrogenado, glicerina y mezclas de los mismos; cargas (p.ej., dióxido de silicio, azúcares, almidones, lactosa, sacarosa, sorbitol, fructosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio, eritritol, xilitol, manitol, maltitol, isomaltitol, dextrosa, maltosa, lactosa, celulosas microcristalinas, almidón de maíz, glicina y mezclas de los mismos);
- 20 lubricantes (p.ej., estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, almidones, dióxido de silicio y mezclas de los mismos); disgregantes (p.ej., almidón, polivinilpirrolidona, glicolato sódico de almidón, celulosa microcristalina y mezclas de los mismos); agentes adhesivos (p.ej., polietilenglicoles en forma sólida, monoglicéridos (40-90 % de glicéridos de grasas vegetales o animales); monoglicéridos acetilados, gomas hidrocoloidales, otros emulsionantes o grasas y mezclas de los mismos); o agentes humectantes farmacéuticamente aceptables (p.ej., laurilsulfato de
- 25 sodio).
- Pueden prepararse composiciones orales sólidas, oralmente disgregables o masticables mediante procedimientos convencionales de combinación, relleno, formación de comprimidos, empapado o similares, y pueden estar en forma de, por ejemplo, comprimidos (incluyendo comprimidos oralmente disgregables), gomas, saquitos, polvos, gránulos,
- 30 pastillas, polvos reconstituibles, preparaciones de líquido, en gel o en pasta tales como soluciones o suspensiones orales y alimentos tales como mentas, gomas, caramelos y productos de panadería. Pueden usarse operaciones de combinación repetidas para distribuir el agente activo por aquellas composiciones que emplean grandes cantidades de cargas. Las composiciones masticables u oralmente disgregables pueden producirse, entre otros, sometiendo una materia prima que contiene un material portador a procesamiento de flujo rápido, produciendo así una matriz en
- 35 forma cizallada o "hilo", como se enseña en la técnica anterior. La matriz de forma cizallada puede mezclarse entonces mediante técnicas convencionales con ingredientes activos (p.ej., teobromina aislada, una fuente de calcio y una fuente de fosfato). La gutapercha, el material predominante usado para obturar el espacio dentro de un diente después de terapia endodóncica (p.ej., después de endodoncia), puede impregnarse (p.ej. mediante inmersión) con una composición de teobromina de la presente divulgación. Las preparaciones orales líquidas pueden estar en forma
- 40 de, por ejemplo, emulsiones, jarabes, colutorios (enjuagues) o elixires, o pueden presentarse como producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso (p.ej., como bebida para deportistas). Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio, grasas comestibles hidrogenadas; agentes emulsionantes, por ejemplo, lecitina, monooleato de sorbitán o goma arábica;
- 45 vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos tales como ésteres de glicerina, propilenglicol o alcohol etílico; conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo o propilo o ácido sórbico y, si se desea, agentes aromatizantes o colorantes convencionales.
- 50 Las formulaciones orales tópicas pueden presentarse como, por ejemplo, pomadas, cremas, lociones, apósitos impregnados, geles, barras de gel, pulverizadores y aerosoles, y pueden contener aditivos convencionales apropiados tales como conservantes y/o disolventes para ayudar a la penetración del fármaco y emolientes en pomadas y cremas. Las formulaciones pueden contener vehículos convencionales compatibles, tales como bases de crema o pomada y etanol o alcohol oleico para lociones.
- 55 Las composiciones y formulaciones de teobromina pueden contener de 0,01 % a 0,1 %, a 1,0 %, a 2,5 % o a 5 % en peso, preferiblemente de 0,01 % a 0,1 %, a 1,0 %, a 2,5 % o a 5 % en peso, y más preferiblemente de 0,1 % a 0,1%, a 1,0 %, a 2,5 % o a 5 % de teobromina aislada, dependiendo de la formulación.

- Es importante señalar que la resistencia de un material sólido ante la deformación depende de su microdurabilidad (módulo de cizalladura a pequeña escala) en cualquier dirección, y no de las propiedades de rigidez o solidez tales como el módulo de compresibilidad o módulo de Young. Los observadores a menudo confunden solidez y dureza. Por ejemplo, informes ocasionales describen materiales que son más duros que el diamante, pero no son adecuados por la anisotropía de las celdas sólidas de los materiales (los diferentes valores de propiedades medidas cuando se miden en direcciones diferentes). Este inadecuación es por de la tendencia de los materiales reseñados a desconcharse y exfoliarse en hábitos escamosos o aciculares en otras dimensiones (p.ej., el osmio es más sólido que el diamante, pero solo tan duro como el cuarzo).
- 10 La relación de Hall-Petch describe la relación entre el tamaño de partícula de un material sólido y su resistencia a la deformación permanente (p.ej., su dureza de indentación) y predice que el límite elástico aumenta a medida que disminuye el tamaño de partícula. La relación está basada en la observación de que los límites de grano, las interfaces entre granos en un material policristalino, desestabilizan el movimiento de las dislocaciones a través de un material y de que el número de dislocaciones en un grano afecta a la facilidad con que las dislocaciones atraviesan los límites de grano y viajan de grano a grano. Por tanto, modificar el tamaño de grano (p.ej., mediante tratamiento térmico o alterando la velocidad de solidificación) puede influir en el movimiento de dislocación y el límite elástico. Con tamaños de partícula menores de aproximadamente 10 nm, sin embargo, el límite de elasticidad permanece constante o disminuye al disminuir el tamaño de partícula.
- 20 Estudios anteriores indicaban que los cristales de apatito crecidos *in vitro* demuestran una cristalinidad mejorada (tamaño de grano aumentado) cuando crecen en presencia de teobromina. El resultado *in vitro* se refleja en los resultados de experimentos que se alimentaron ratas hembra lactantes con teobromina y se midió la cristalinidad del hidroxiapatito de dientes y fémures de las crías amamantadas. Los fémures de crías hembra mostraron límites elásticos aumentados, pero los fémures de crías macho mostraron límites elásticos disminuidos. Por tanto, el tamaño de grano aumentado observado después de la exposición a teobromina sugiere un límite elástico reducido, especialmente en vista del trabajo de Wang y col., que demuestra que "la dureza [del hidroxiapatito] sigue la relación de Hall-Petch a medida que disminuye el tamaño de grano desde submicrómetros a nanómetros". El límite elástico aumentado en los fémures de ratas hembra, pero no de ratas macho, sugiere la posible implicación, para los huesos, de un factor de confusión (p.ej., un factor que mejoraba el límite elástico reducido frente a un tamaño de grano aumentado en hembras pero no en machos).

Sin desear ligarse a teoría alguna, la solicitante cree que el grabado de la superficie dental mejora la deposición de fosfato de calcio y/o hidroxiapatito nuevos. Puede emplearse un proceso de grabado de una etapa usando cualquier ácido inorgánico incluyendo, pero sin limitación, HCl (ácido clorhídrico), HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ácido sulfúrico) y/o H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (ácido fosfórico) y/o cualquier ácido orgánico incluyendo, pero sin limitación, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido glicólico, ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido cianoacético, ácido tartárico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido citracónico, ácido orto-ftálico, ácido meta-ftálico, ácido para-ftálico, ácido cítrico, ácido tricarbálico, ácido 1,3,5-pentanotricarboxílico, ácido trimelítico, ácido 2-acrilamido-2-metilpropanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido bromoacético, ácido 10-canforquinosulfónico, ácido 10-canforsulfónico, ácido dibromoacético, 2,4-dinitrofenol, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenon-5-sulfónico, ácido maleico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido nítrico, ácido oxálico, p-nitrofenol, fenol, ésteres de ácido fosforoso (tales como difosfonato de 2,2'-bis(a-metacriloxi-b-hidroxipropoxifenil)propano (difosfonato de bis-GMA), fosfito de dibutilo, fosfato de di-2-etilhexilo, fosfito de di-2-etilhexilo, monofosfato de hidroxietilmetacrilato, fosfato de glicerildimetacrilato, 2-fosfato de glicerilo, ácido glicerofosfórico, fosfato de metacriloxietilo, monofosfato de pentaeritroltriacrilato, monofosfato de pentaeritroltrimetacrilato, monofosfato de dipentaeritrolpentaacrilato y monofosfato de dipentaeritrolpentametacrilato), ácido toluenosulfónico, ácido tribromoacético, ácido trifluoroacético, ácido trifluorometanosulfónico y/o ácido trihidroxibenzoico) y mezclas de los mismos. Puede usarse también un proceso de grabado de dos etapas, como se describe en el EJEMPLO 4, usando cualquiera de los ácidos anteriormente mencionados. La concentración de dicho ácido o ácidos puede ser (independientemente) de aproximadamente 0,01 M a aproximadamente 2 M, de aproximadamente 0,025 M a aproximadamente 1,5 M, de aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 0,075 M a aproximadamente 0,75 M, de aproximadamente 0,085 M a aproximadamente 0,5 M, de aproximadamente 0,09 M a aproximadamente 0,4 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 0,3 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 0,25 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 0,2 M y preferiblemente de aproximadamente 0,1 M. Preferiblemente, se emplea un proceso de grabado en dos etapas que comprende irrigación/inmersión/exposición durante aproximadamente 15 segundos en/a HCl 0,1 M, aclarado con agua destilada y después irrigación/inmersión/exposición durante aproximadamente 15 segundos a una solución de ácido oxálico 0,1 M y después aclarado una vez más con agua destilada.

Los solicitantes presentan aquí el resultado inesperado y sorprendente de que los dientes humanos expuestos a una composición de teobromina demuestran una dureza de indentación significativamente mejorada a pesar del aumento de tamaño de grano simultáneo. Los solicitantes presentan también el resultado inesperado y sorprende adicional de que dicha exposición produce una deposición significativa de nuevo hidroxiapatito/fosfato de calcio sobre las superficies dentales, y que dicha deposición es un grado mayor que la observada en situaciones de control o con NaF. Este descubrimiento representa un avance significativo en la prevención de lesiones dentales incluyendo fracturas de dientes (en general), fracturas del esmalte, astillado y caries.

### EJEMPLO 1

10

#### Prueba de fluoruro frente a teobromina

Usando una sierra de baja velocidad Buehler isomet equipada con una hoja de diamante de serie 15HC, se cortaron cada uno de 13 dientes humanos en cuatro secciones aproximadamente iguales, proporcionando por tanto 13 grupos que contienen 4 muestras en cada grupo. Se alisó por molienda el lado posterior (la superficie de corte) de cada muestra y se fijó a una caperuza de compresión de bronce con un adhesivo, dejando la superficie externa original del diente expuesta y disponible para experimentación. Se usó una muestra de cada grupo (es decir, una muestra de cada diente) para cada una de las tres condiciones experimentales, reservando una muestra por grupo (es decir, reservando una muestra por diente) en el caso de que no estuvieran disponibles zonas planas adecuadas para pruebas de microdureza.

Se sumergieron las muestras en cualquiera de solución de control (saliva artificial, como se muestra en la TABLA 2), solución de control que contiene NaF o solución de control que contiene teobromina, durante 30 minutos al día. Después de este régimen de inmersión diaria, se aclararon las muestras con agua destilada y se pusieron en solución de control (saliva artificial) durante el resto del periodo de 24 horas. La única excepción a este régimen de aclarado apareció el octavo día, cuando se omitió la etapa de aclarado para evitar desestabilizar las superficies de esmalte antes de someter la muestra a microscopia de barrido electrónico (SEM).

TABLA 2		
Reactivo	Cantidad	Cantidad preferida
Carboximetilcelulosa	0 – 9,0 g	9,0 g
KCl	0 – 1,2 g	1,2 g
NaCl	0 – 0,84 g	0,84 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0 – 0,06 g	0,06 g
Mg-Cl <sub>2</sub>	0 – 0,0281 g	0,0281 g
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,1 – 1,0 g	0,32 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1 – 1,0 g	0,34 g
Solución de sorbitol (al 70 %, acuosa)	0 - 50 g	42,80 g
Xilitol	0 – 3,0 g	3,0 g
Aceite de limón	0 – 0,4 g	0,4 g
4-Hidroxibenzoato de metilo	0 – 3,0 g	2,0 g
Triclosán	0 – 1,5 g	1,5 g
Agua destilada	hasta 1000 mL	hasta 1000 ml
pH	6 – 8,5	6 – 8,5

30 Se examinó fluoruro de sodio a concentraciones de 0,15 % (aproximadamente 35,7 mM), 0,25 % (aproximadamente 59,5 mM), 0,5 % (aproximadamente 119 mM) y 1,1 % (aproximadamente 262 mM), representando tanto el extremo inferior de las concentraciones de fluoruro de sodio comercialmente disponibles (sin receta) como el nivel de concentración de prescripción del 1,1 %. Se estudiaron los efectos de la teobromina a concentraciones de 1 mg/l (aproximadamente 0,006 mM), 5 mg/L (aproximadamente 0,028 mM), 10 mg/l (aproximadamente 0,056 mM), 25

mg/l (aproximadamente 0,139 mM), 50 mg/l (aproximadamente 0,278 mM), 100 mg/l (aproximadamente 0,556 mM), 200 mg/l (aproximadamente 1,11 mM) y 500 mg/l (aproximadamente 2,78 mM). Se usó un intervalo de dosis más amplio de teobromina porque la dosificación eficaz era desconocida. La dosis más alta de teobromina, 500 mg/l, corresponde al nivel medio de teobromina encontrado en polvo de cacao comercial (aproximadamente un 1,89 %), como se menciona anteriormente, y representa el límite superior de solubilidad de teobromina en agua. La teobromina 500 mg/l se elaboró mezclando 1890 mg (1,89 g) de teobromina por litro de saliva artificial.

El hidroxiapatito puro tiene una relación de calcio a fósforo (Ca:P) de 1,67 a 1. El fosfato de tricalcio  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , o "TCP," es la impureza mayor encontrada en el hidroxiapatito y puede detectarse mediante difracción de rayos X como una desviación de la relación de Ca:P de la relación diana de 1,67:1. La formación de fosfato de tricalcio se minimiza fácilmente asegurando la presencia de suficiente calcio (p.ej., como cloruro de calcio) en la saliva artificial (Van Der Bijl y De Waal (1993), Kelly y col. (2004)). La formulación de los solicitantes se desvía de la bibliográfica en que la solución de saliva artificial contiene el doble de la cantidad habitual de cloruro de calcio (0,32 g/l de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) para minimizar la formación de TCP. La adición de un nivel umbral efectivo de calcio es también una preocupación particular para el desarrollo del dentífrico de los solicitantes.

## EJEMPLO 2

### Ensayo de microdureza de Knoop

Se efectuaron pruebas de microdureza de Knoop en cada muestra, cada día durante 8 días, usando un probador de microdureza Buehler Micromet-1 adaptado con una punta indentadora en forma de diamante alargado. Las medidas del día 1 representan la dureza basal para cada muestra. Debido a que cada diente se cortó en cuatro muestras diferentes, los solicitantes fueron capaces de comparar diferentes condiciones experimentales en básicamente las mismas superficies de esmalte. Para los grupos en que los 4 especímenes seccionados de un diente tenían superficies planas que eran adecuadas para el ensayo de microdureza de Knoop, se examinaron las dosificaciones de teobromina adicionales, puesto que había más valores de comparación examinados en el grupo experimental de teobromina.

Se bajó la punta de diamante de Micromet-1 para hacer contacto con la superficie de esmalte de cada espécimen de diente. Una vez se realizó el contacto, el indentador de microdureza aplicó 50 gramos de fuerza a la superficie de esmalte de cada muestra durante 5 segundos. La fuerza aplicada era básicamente perpendicular a la superficie del esmalte. Al terminar, se retrajo automáticamente la punta de diamante y se midió la longitud de la diagonal larga de indentación visible sobre la superficie de esmalte de cada muestra mediante microscopía de barrido electrónico (véase, p.ej., la FIG. 1). Se usaron las longitudes de indentación para calcular los valores de microdureza (el índice de dureza de Knoop, o "HK") de acuerdo con la Fórmula 1:

$$HK = \frac{\text{carga}}{\text{área}} = \frac{P}{C_p L^2} \quad \text{Fórmula 1}$$

donde los valores de HK oscilan típicamente de 100 a 1000 pascales (Pa, o  $\text{kgf}/\text{mm}^2$ ; donde  $1 \text{ kgf}/\text{mm}^2 = 9,80665 \text{ MPa}$ ); P = carga (aquí, 50 gf); área = área de impresión;  $C_p$  = factor de corrección respecto a la forma del indentador con referencia al área proyectada de la indentación por el cuadrado de la longitud de la diagonal larga (aquí, 0,07 para el indentador en forma de diamante usado) y L = longitud de indentación a lo largo de su eje mayor ( $\mu\text{m}$ ).

## EJEMPLO 3

### Micrografías de barrido electrónico

Se tomaron micrografías de barrido electrónico (SEM) usando un SEM digital Amray 1820 a 15 kV de voltaje de aceleración y 18 mm de distancia de trabajo, 25 ° de inclinación de muestra y 400  $\mu\text{m}$  de apertura final. Se recogieron múltiples imágenes tiff de 24 bit de 512 x 512 píxeles a través de EDS 2006, que es parte de un paquete de software integrado de IXRF Systems Inc. (Véanse, p.ej., las FIG. 1-9).

Como se explica anteriormente en el EJEMPLO 2, se midió la longitud de cada indentación visible sobre la superficie de esmalte de cada muestra bajo el microscopio (véanse, p.ej., las FIG. 1, 3-9). Se usaron las longitudes de indentación para calcular los valores de microdureza (HK) de acuerdo con la Fórmula 1. Los dientes tratados con la

composición de teobromina de la presente divulgación demostraron una laminación y recristalización de superficie considerables sobre las superficies de esmalte. Los dientes tratados con la composición de teobromina 500 mg/l (aproximadamente 2,78 mM) demostraron una recristalización de superficie tan enorme que los depósitos de hidroxiapatito recién depositados empezaban a cubrir las superficies picadas y porosas originales (véanse las FIG. 8 y 9). Estas micrografías de barrido electrónico sugieren que la composición de teobromina divulgada aquí actúa como un tipo de catalizador para la formación de hidroxiapatito sobre superficies dentales.

Como se demuestra por la gráfica de la FIG. 10, después de la exposición de los dientes a la composición de teobromina de la presente divulgación en las condiciones descritas en el EJEMPLO 1, tan poco como teobromina 10 mg/l (aproximadamente 0,006 mM) producía, notable e inesperadamente, resultados equivalentes a los conseguidos con fluoruro de sodio al 0,25 % (p/v) (aproximadamente 59,5 mM), la cantidad de fluoruro encontrada comúnmente en dentífricos comerciales. Debido a que el monofluorofosfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{FPO}_3$ ) contiene un ion fluoruro por molécula (como el fluoruro de sodio), se espera que el perfil de dosis/respuesta observado con NaF sea aproximadamente el mismo que para  $\text{Na}_2\text{FPO}_3$ . Como se demuestra claramente por la FIG. 10, tan poco como 15 teobromina 25 mg/l (aproximadamente 0,139 mM) producía resultados equivalentes a los conseguidos con fluoruro de sodio al 1,1 % (aproximadamente 262 mM), la cantidad encontrada en pastas de dientes de concentración de prescripción. Notablemente, la teobromina entre 100 mg/l y 500 mg/l producía mejoras drásticas de los valores de microdureza durante el periodo de ensayo de 8 días. Se recuerda que la teobromina 500 mg/corresponde al nivel 20 medio de teobromina encontrado en polvo de cacao comercial (aproximadamente un 1,89 %) como se menciona anteriormente.

La efectividad sorprendente e inesperada de la composición de teobromina divulgada se demuestra además en el gráfico semilogarítmico de la FIG. 11, en que se muestra la molaridad de las soluciones de fluoruro de sodio y teobromina de la FIG. 10 a lo largo del eje X (representado a escala logarítmica). La FIG. 11 muestra claramente que 25 la composición de teobromina es significativamente más efectiva que el fluoruro de sodio, en base molecular, en la mejora de la dureza de indentación de los dientes.

#### EJEMPLO 4

##### 30 Comparación de teobromina y NaF en dientes humanos rayados

Se rayaron dientes humanos aislados con un punzón de diamante sobre la superficie de esmalte. Se grabó entonces cada diente durante 15 segundos con HCl 0,1 M, se aclaró con agua destilada, se expuso entonces durante 15 segundos a una solución de ácido oxálico 0,1 M y se aclaró entonces una vez más con agua destilada. Se 35 dispusieron entonces los dientes en una solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,2 M a la que se añadió teobromina (a una concentración final de 200 mg/l), NaF (a una concentración final de 0,25 %) o agua (control). Se ajustó el pH a 7,4-7,6, después de lo cual se añadió una solución de  $\text{CaCl}_2$  0,2 M con agitación (la solución se vuelve inmediatamente turbia por precipitación con fosfato de Ca). Se comprobó el pH y se ajustó inmediatamente a entre 7,4 y 7,6, como se requiera. Como se señala anteriormente, las concentraciones finales de teobromina y NaF eran de 200 mg/l y 0,25 40 %, respectivamente. Se usó una relación en volumen de aproximadamente 3:5 de solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  a solución de  $\text{CaCl}_2$  para evitar cualquier exceso de cualquiera de Ca o P. Se incubaron entonces los dientes a temperatura ambiente durante aproximadamente 90 minutos, después de lo cual se retiraron de la solución, se aclararon cuidadosamente varias veces con agua destilada y se secaron entonces en un desecador durante 24 horas. Después de secar, se recubrieron con carbono los dientes para visualizar mediante microscopia de barrido 45 electrónico (SEM). Los resultados de SEM se muestran en las FIG. 12-14 y se discuten a continuación.

La FIG. 12A muestra un diente rayado que se incubó durante 90 minutos en solución de control (sin teobromina ni NaF). El arañazo producido por el punzón de diamante, mostrado por las flechas, se dirige desde la parte superior de la figura a la inferior, y es profundo y pronunciado. La FIG. 12B muestra un diente rayado que se incubó durante 50 90 minutos en presencia de NaF al 0,25 %. El arañazo producido por el punzón de diamante parece estar parcialmente rellenado, como se muestra por las flechas que apuntan a la sombra sobre la superficie del diente, aunque al arañazo sigue siendo ancho. Los dientes incubados con NaF demostraron también depósitos minerales pequeños centrados sobre toda la superficie visible. En notable contraste con los experimentos tanto de control como de NaF, la FIG. 12C muestra un diente rayado que se incubó durante 90 minutos en presencia de teobromina 55 200 mg/l. El arañazo producido por el punzón de diamante (posición aproximada mostrada por las flechas) está casi completamente oscurecido por una capa lisa de fosfato de calcio recién depositada.

#### EJEMPLO 5

**Deposición de fosfato de calcio: teobromina frente a NaF**

Usando un taladro dental, se perforaron orificios en las superficies de esmalte de diente humano aislado, recibiendo cada diente tres orificios en tres localizaciones separadas. Después de taladrar, se incubaron los dientes en soluciones como se divulgan en el EJEMPLO 4, excepto porque se incubó un conjunto adicional de dientes en presencia de NaF 200 mg/l y al 0,25 %. Después de la desecación, se cortó cada diente para posibilitar la visualización de los orificios perforados y medir la cantidad de deposición de fosfato de calcio en dichos orificios. Se visualizaron los dientes mediante SEM, como en el EJEMPLO 4, y se midió la cantidad de deposición de fosfato de calcio para cada condición experimental.

10

Como se muestra por la TABLA 3 siguiente, todos los tratamientos procuraban un aumento estadísticamente significativo de la cantidad de fosfato de calcio depositada frente al control. Aunque la incubación dual con NaF y teobromina procuraba una mayor cantidad media de fosfato de calcio depositada, no era significativamente diferente de la conseguida con NaF solo. Sorprendentemente, la incubación con teobromina sola producía un aumento estadísticamente significativo de la cantidad de fosfato de calcio depositada en todas las demás condiciones probadas.

15

TABLA 3	
Condición de incubación	Fosfato de calcio ( $\mu\text{m}$ ) $\pm$ D.E.
control	54 $\pm$ 6,1
NaF (al 0,25 %)	70 $\pm$ 8,8
Teobromina (200 mg/l)	87 $\pm$ 5,5
NaF (al 0,25 %) + Teobromina (200 mg/l)	84 $\pm$ 7,6

**EJEMPLO 6**

20

**Comparación de teobromina y NaF en un modelo de caries**

Se comparó el potencial anticaries de formulaciones de pasta de dientes que contienen teobromina con un dentífrico de NaF estándar mediante la determinación de la remineralización de la lesión de caries temprana en un modelo de pH cíclico de remineralización/desmineralización *in vitro*.

25

**Producción de lesiones de tipo caries artificiales**

Después del consentimiento de los donantes humanos, se recogieron dientes molares humanos recién extraídos de diversas clínicas de la Dental School of the University of Texas Health Science Center en San Antonio (UTHSCSA). Se limpiaron los dientes de residuos/manchas y se examinaron con un transiluminador. Se seleccionaron los dientes sin caries ni malformaciones del esmalte y se limpiaron con piedra pómez para retirar los restos de película de la superficie bucal. Usando una sierra de hilo de diamante enfriada con agua, se produjeron 3 bloques de diente a partir de cada uno de los 30 dientes usados, midiendo cada bloque aproximadamente 3 mm de longitud x 2 mm de anchura x 1,5 mm de grosor. Se pulió entonces la superficie de esmalte de cada bloque usando una película abrasiva de diamante de reverso plano (1  $\mu\text{m}$ ) en una máquina de pulido de precisión MultiPrep™ (Allied High Tech, EE.UU.), consiguiendo una superficie plana. Después de esto, se pintaron todas las superficies de cada bloque con dos capas de barniz de uñas resistente al ácido, excepto la superficie bucal. Se creó entonces una lesión de tipo caries temprana en esta superficie bucal expuesta en cada bloque mediante 7 días de desmineralización en un sistema de gel acidificado como se describe por Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. "Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth *in vitro*" Archives of Oral Biology 1998; 43: 619-628 (incorporado como referencia en su totalidad). Se preparó el gel añadiendo hidróxido de sodio 0,10 M a ácido láctico 0,10 M, dando un valor de pH final de 4,5. Se añadió a esta solución hidroxietilcelulosa al 6 % p/v con agitación vigorosa. La consistencia final del gel conseguida exhibía una viscosidad en la región de los 100 cP. Después de la formación de la lesión, se retiró cuidadosa y totalmente el barniz de uñas con acetona. Por tanto, se obtuvieron un total de 3 bloques portadores de lesión de cada diente (30 dientes) para usar en la prueba de remineralización (un total de 90 bloques).

40

45

**Procedimiento de tratamiento**

50

Se asignaron aleatoriamente los 3 bloques de cada diente a tres grupos de tratamiento (n = 30, por grupo de tratamiento) basándose en los tres dentífricos para probar: grupo 1: pasta de dientes de control (ni fluoruro ni teobromina); grupo 2: pasta de dientes de NaF estándar (p.ej., Colgate, Crest regular) que contiene NaF al 0,243 % y grupo 3: pasta de dientes de teobromina que contiene teobromina 200 mg/l. Se distribuyeron los 30 bloques para cada tratamiento en 3 subgrupos de 10 bloques cada uno. Usando un barniz de uñas resistente al ácido, se pegaron los 10 bloques de cada subgrupo en una varilla cilíndrica unida a la tapa de un vial de tratamiento de 30 ml codificado por colores, dando un total de 3 viales para cada grupo de dentífrico.

Se realizó el estudio de desmineralización usando un modelo de pH cíclico (desmineralización/remineralización), simulando las actividades dentro del entorno oral lo más estrechamente posible (véase la TABLA 4). Se usó saliva humana combinada como medio de remineralización en todos los regímenes de tratamiento, mientras que se usó el gel acidificado descrito anteriormente para el desarrollo de lesión por caries temprana como medio de exposición a ácido. Se usó saliva humana combinada reciente cada día. Se preparó una suspensión estándar de los dentífricos mezclando 1 parte de dentífrico y 3 partes de saliva humana combinada (9 g: 27 ml) usando una batidora de laboratorio hasta homogeneidad. Se preparó una suspensión reciente para cada grupo justo antes de cada sesión de tratamiento. El régimen de tratamiento cíclico para cada día consistía en 3 exposiciones a ácido de 1 hora, 3 periodos de tratamiento con dentífrico de 2 minutos y después tratamiento con saliva durante el resto del tiempo, como se muestra en el programa de tratamiento siguiente en la TABLA 4 (el día 1 era un día de tratamiento con solo saliva para permitir el desarrollo de película; el tratamiento los días posteriores era como se da en la TABLA 4).

TABLA 4		
Tiempo de inicio	Tiempo final	Tratamiento
8:00	9:00	Exposición a ácido
9:00	9:02	Tratamiento con dentífrico
9:02	12:00	Tratamiento con saliva
12:00	13:00	Exposición a ácido
13:00	13:02	Tratamiento con dentífrico
13:02	16:00	Tratamiento con saliva
16:00	17:00	Exposición a ácido
17:00	17:02	Tratamiento con dentífrico
17:02	8:00 (día siguiente)	Tratamiento con saliva

Para el tratamiento, se dispusieron 15 ml del medio de tratamiento (saliva humana combinada, suspensión de dentífrico o gel acidificado) en cada vial de tratamiento de 30 ml codificado por color. Se agitaron todos los tratamientos a 350 rpm. Se midió el pH de cada producto (una suspensión) una vez al día antes del tratamiento. Después del tratamiento con un medio, se aclararon los especímenes con agua desionizada corriente y se secaron con una toalla de papel antes de inmersión en el siguiente agente. Se repitió el régimen diario durante 14 días, después de lo cual se retiraron 10 bloques de cada uno de los 3 grupos para la prueba de microdureza de Vickers como se describe a continuación.

Se seguirán tratando los 20 bloques restantes de cada uno de los 3 grupos (n = 60) de acuerdo con el programa de tratamiento de la TABLA 4 durante un total de 28 días, y se evaluarán como se describe en "Análisis de datos microrradiográficos transversales basales (TMR)" y "Procesamiento postratamiento".

**Análisis de microdureza de Vickers**

Se efectuaron pruebas de microdureza de Vickers en cada muestra (3 grupos de 10 bloques cada uno, 30 en total) usando un indentador de diamante que tiene la forma de una pirámide recta para indentar el material de prueba. Se midió la microdureza de Vickers de cada uno de estos bloques antes del procedimiento de tratamiento anterior, y de nuevo después de someter al procedimiento de tratamiento durante 14 días. La pirámide indentadora de diamante tiene una base cuadrada y un ángulo de 136 ° entre caras opuestas, y se sometió a una carga de 25 gf (gramos-fuerza) durante 15 segundos de tiempo de residencia. La fuerza aplicada era básicamente perpendicular a la superficie del esmalte. Al terminar, se retrajo automáticamente la punta de diamante y se midieron las dos

diagonales producidas por la punta, visibles sobre la superficie de esmalte de cada muestra, mediante microscopia de barrido electrónico y se calculó su media. Se calculó la dureza de Vickers (HV) dividiendo la carga en gf (kgf) por el área en mm cuadrados ( $\text{mm}^2$ ) de indentación de acuerdo con la Fórmula 2, donde F = carga (kgf) y d = media de las dos diagonales (mm).

5

$$HV = \frac{2F \operatorname{sen} \frac{136^\circ}{2}}{d^2} = \text{aproximadamente } 1.854 \frac{F}{d^2} \quad \text{Fórmula 2}$$

10 Como se muestra en la FIG. 13, los bloques sometidos al modelo de caries y tratados entonces durante 14 días con pasta de dientes de teobromina demostraron una HV drásticamente mejorada (ganancia de dureza superficial de 27,5 %) en comparación con los bloques tratados durante 14 días con cualquiera de saliva artificial (control) o pasta de dientes de NaF (ganancias de dureza superficial de 9,4 % y 8,5 %, respectivamente).

#### 15 **Análisis de datos microrradiográficos transversales basales (TMR)**

Se cortará una porción de diente (~150  $\mu\text{m}$  de grosor) de cada bloque de diente portador de lesión usando una sierra de hilo de diamante enfriada con agua. Esta porción servirá como valor basal para usar en la determinación de los parámetros de TMR de pretratamiento (pérdida mineral ( $\Delta Z$ ) y profundidad de lesión (LD)) de la lesión antes de la remineralización (parámetros antes de la prueba). Se usarán también los parámetros de las porciones de control para seleccionar las lesiones que sean adecuadas para el estudio de remineralización. Se procesarán las porciones basales para valoración de TMR como sigue. En primer lugar, se pulirán ambos lados de la porción usando película abrasiva de reverso adhesivo en una máquina de pulido de precisión MultiPrep™ (Allied High Tech, EE.UU.), consiguiendo superficies planoparalelas así como reduciendo el grosor de la porción a 100  $\mu\text{m}$  (el grosor apropiado para TMR). Después de esto, se microrradiografiarán las porciones sobre placas de rayos X de vidrio de alta resolución de tipo 1A (Microchrome Technology, CA, EE.UU.) usando un sistema generador de rayos X Phillips configurado con este fin. Se expondrán las placas durante 10 minutos a un voltaje anódico de 20 kV y una corriente de tubo de 10 mA y entonces se procesarán. El procesamiento consistirá en un revelado de 5 minutos en un revelador Kodak HR y una fijación de 15 min en fijador Kodak Rapid antes de un periodo final de lavado de 30 minutos. Después de secar, se someterán las microrradiografías a visualización y análisis de imágenes usando un programa informático (TMR2006 versión 3.0.0.6). El hardware será un microscopio óptico Leica DMR conectado a través de una cámara de CCTV de Sony modelo XC-75CE con un ordenador personal. Se analizará la imagen mejorada de la microrradiografía en condiciones estándares de intensidad de luz y aumentos y se procesará, junto con los datos de la imagen de la cuña escalonada, por el programa de TMR. Mediante este procedimiento, se cuantificarán los parámetros de pérdida mineral ( $\Delta Z$ , % en vol. $\mu\text{m}$ ) y profundidad de lesión (LD,  $\mu\text{m}$ ) integrados para cada lesión de caries.

#### 20 **Procesamiento postratamiento**

Después de tratamiento durante 28 días, se cortará una porción de diente (~150  $\mu\text{m}$  de grosor) de cada uno de los 60 bloques y se procesará por microrradiografía como se describe anteriormente para el espécimen de control. Aunque las porciones de control se habrán microrradiografiado y analizado para la selección de las lesiones apropiadas, se microrradiografiarán de nuevo junto con las porciones después de la prueba y se analizará en ambas la cuantificación de  $\Delta Z$  y LD como se describe para las porciones de control anteriores. Esto posibilitará microrradiografiar y analizar ambos grupos en las mismas condiciones. Este proceso procurará la siguiente información: 1) los parámetros de TMR de las lesiones antes de la prueba ( $\Delta Z_1$  y LD1); 2) los parámetros de TMR de las lesiones después de la prueba ( $\Delta Z_2$  y LD2) y 3) las imágenes de TMR de las lesiones antes y después de la prueba.

#### 25 **Manejo e interpretación de datos**

Se calcularán los valores medios ( $n = 20$ ) de los parámetros de lesión, pérdida mineral [ $\Delta Z$  (% en vol. $\mu\text{m}$ )] y profundidad de lesión [LD ( $\mu\text{m}$ )], para los grupos antes y después de la prueba de cada uno de los tres dentífricos de tratamiento. Se llevarán a cabo los siguientes exámenes con los datos e imágenes: A) usando las imágenes de TMR, se examinará y describirá el patrón y la extensión de la remineralización producida en la estructura interna de cada lesión por cada procedimiento de tratamiento. Esto se mostrará claramente al comparar las imágenes antes y

después de la prueba en paralelo y B) se compararán los valores medios de los parámetros de lesión antes y después de la prueba ( $\Delta Z$  y LD) para cada producto de prueba para determinar cualquier cambio significativo (remineralización) realizado por el producto de prueba. Sin embargo, para realizar comparaciones entre los tres grupos de prueba, se determinará el cambio porcentual de los parámetros de lesión calculados respecto al control para cada producto de prueba (el cambio porcentual se usará para clasificación y comparación para prever el hecho de que, aunque los tres bloques procederán del mismo diente, los parámetros de lesión para los bloques pueden diferir en el valor basal). Esto se calcula de acuerdo con las Fórmula 3 y 4:

$$\% \text{ de cambio en } \Delta Z = \frac{\Delta Z_1(\text{control}) - \Delta Z_2(\text{test})}{\Delta Z_1(\text{control})} \times 100 \quad \text{Fórmula 3}$$

$$\% LD = \frac{LD_1(\text{control}) - LD_2(\text{test})}{LD_1(\text{control})} \times 100 \quad \text{Fórmula 4}$$

10

Análisis de potencia estadística

Se efectuará el análisis de potencia usando el software nQuery Advisor (Statistical Solutions, Cork, Irlanda) y se basará en resultados anteriores obtenidos por Amaechi BT. "Pattern of the Effect of Fluoride Varnishes On Early Caries" J. Dent Res. 2008; 87 (nº especial B):abst. 1195 (incorporado como referencia en su totalidad).

15

#### EJEMPLO 7

##### Comparación de teobromina y NaF en un modelo de erosión

20

Se comparará el potencial anticaries de las formulaciones de pasta de dientes que contiene teobromina con un dentífrico de NaF estándar mediante la determinación de la remineralización de lesión de caries temprana en un modelo de pH cíclico de remineralización/desmineralización *in vitro*.

##### 25 Producción de lesiones por erosión artificial

Después del consentimiento de los donantes humanos, se recogieron dientes molares humanos recién extraídos de diversas clínicas de la Dental School of the University of Texas Health Science Center en San Antonio (UTHSCSA). Se limpiaron los dientes de residuos/manchas y se examinaron con un transiluminador. Se seleccionaron los dientes sin caries ni malformaciones de esmalte y se limpiaron con piedra pómez para retirar los residuos de película de la superficie bucal. Usando una sierra de hilo de diamante enfriada con agua, se produjeron 3 bloques de diente de cada uno de los 30 dientes para usar, midiendo cada bloque aproximadamente 3 mm de longitud x 2 mm de anchura x 1,5 mm de grosor. Se pulió entonces la superficie de esmalte de cada bloque, usando película abrasiva de diamante de reverso plano (1  $\mu\text{m}$ ) en una máquina de pulido de precisión MultiPrep™ (Allied High Tech, EE.UU.), consiguiendo una superficie plana. Después de esto, se pintaron todas las superficies de cada bloque con dos capas de barniz de uñas resistente al ácido, excepto la superficie bucal. Usando barniz de uñas resistente al ácido, se unieron los 90 bloques de diente a 9 portaobjetos de vidrio (10 bloques/portaobjetos). Se sumergió cada portaobjetos de vidrio portador de bloques en un vaso de precipitados de 50 ml que contenía ácido cítrico al 1 % recién preparado (1,0 g de ácido cítrico anhidro en polvo disuelto en 100 ml de agua desionizada con agitación constante con agitador magnético) durante 10 minutos con agitación continua con agitador magnético. Después de la inmersión durante el tiempo designado, se retiraron los especímenes de la solución y se aclararon copiosamente con agua destilada durante 10 segundos. Se secaron cuidadosamente entonces los especímenes con toallas de papel y se retiraron del portaobjetos, proporcionando un total de 3 bloques portadores de lesión de cada diente para las pruebas de remineralización.

45

Se efectuó el procedimiento de tratamiento como se describe anteriormente para el EJEMPLO 6. Como en el EJEMPLO 6, se retiraron 10 bloques de cada uno de los 3 grupos de tratamiento (control, pasta de dientes de NaF y pasta de dientes de teobromina) después de inmersión durante 14 días y se sometieron a la prueba de microdureza de Vickers como se describe anteriormente en el EJEMPLO 6.

50

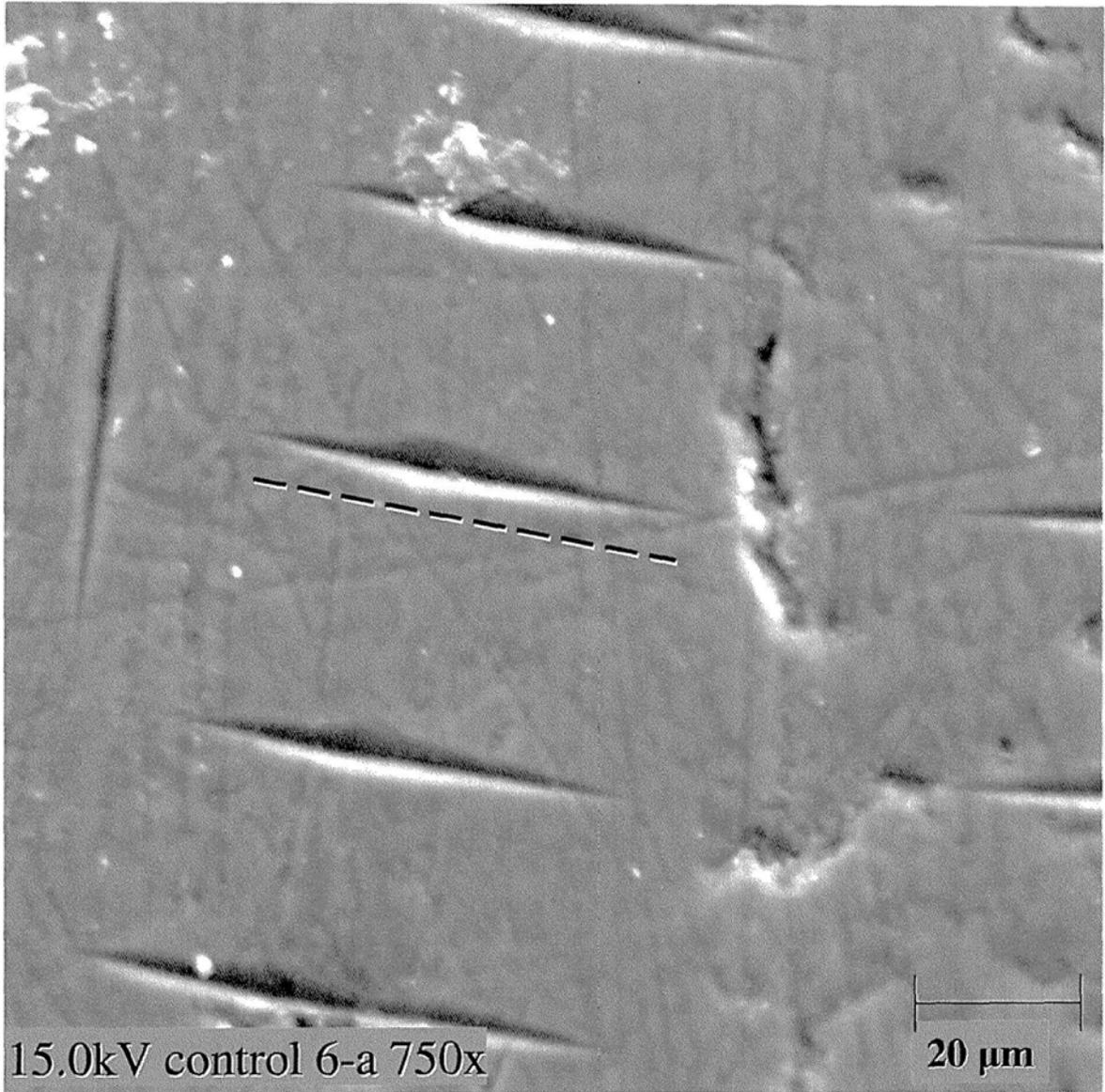
Los 20 bloques restantes de cada uno de los 3 grupos (n = 60) continuarán tratándose de acuerdo con el programa

de tratamiento de la TABLA 4 durante un total de 28 días, y se evaluarán como se describe en “análisis de datos microrradiográficos transversales basales (TMR)” y “procesamiento postratamiento” en el EJEMPLO 6 anterior; para estos 20 bloques, se efectuarán el análisis de datos microrradiográficos transversales basales (TMR), el procesamiento postratamiento, el manejo e interpretación de datos y el análisis de potencia estadística todos como se describe anteriormente para el EJEMPLO 6.

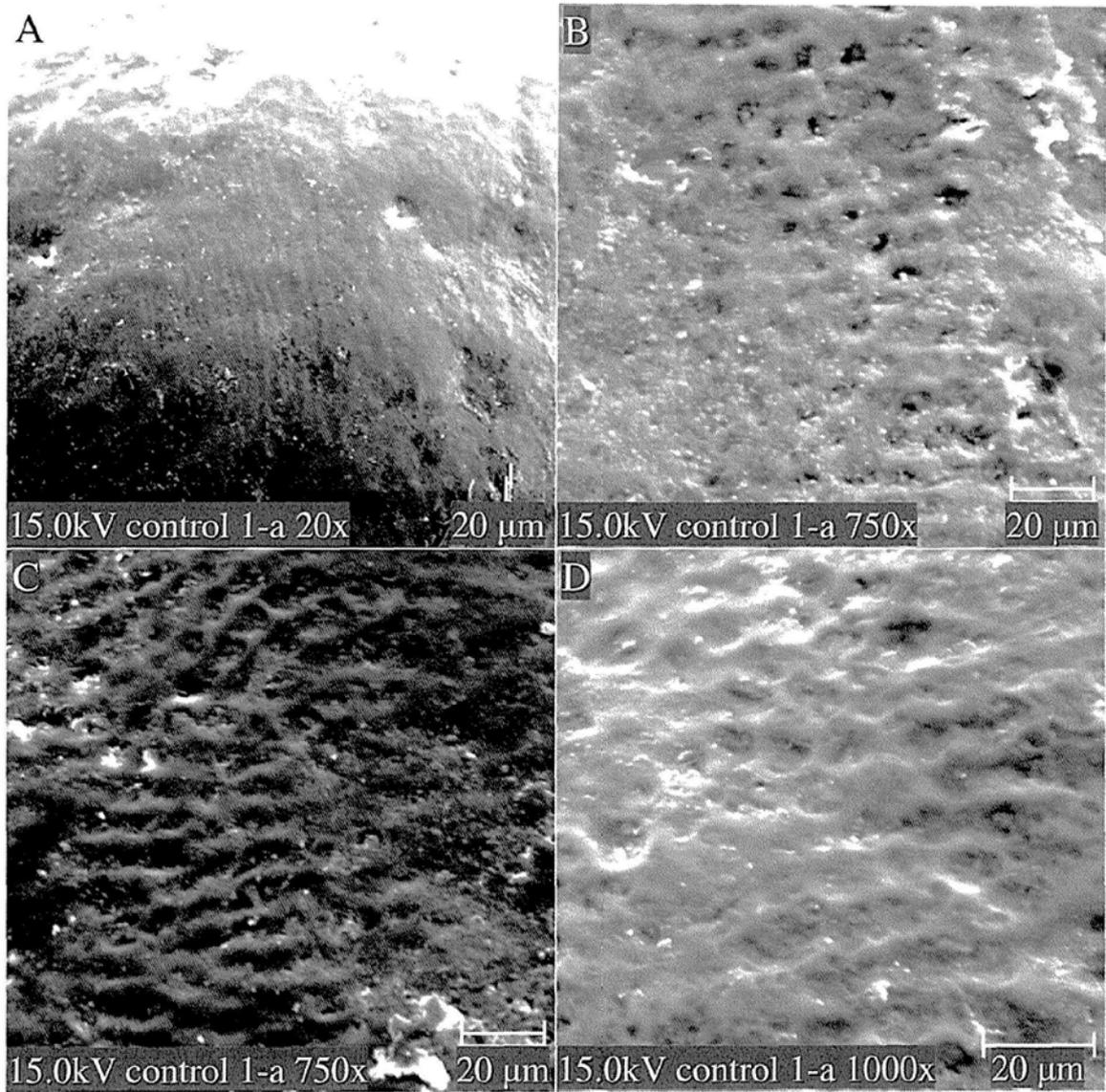
Como se muestra en la FIG. 14, los bloques sometidos al modelo de erosión y tratados entonces durante 14 días con pasta de dientes de teobromina demostraron una HV drásticamente mejorada (ganancia de dureza superficial del 43,9 %) en comparación con bloques tratados durante 14 días con saliva artificial (control) o pasta de dientes de NaF (ganancias de dureza superficial de 4,6 % y 4,9 %, respectivamente).

**REIVINDICACIONES**

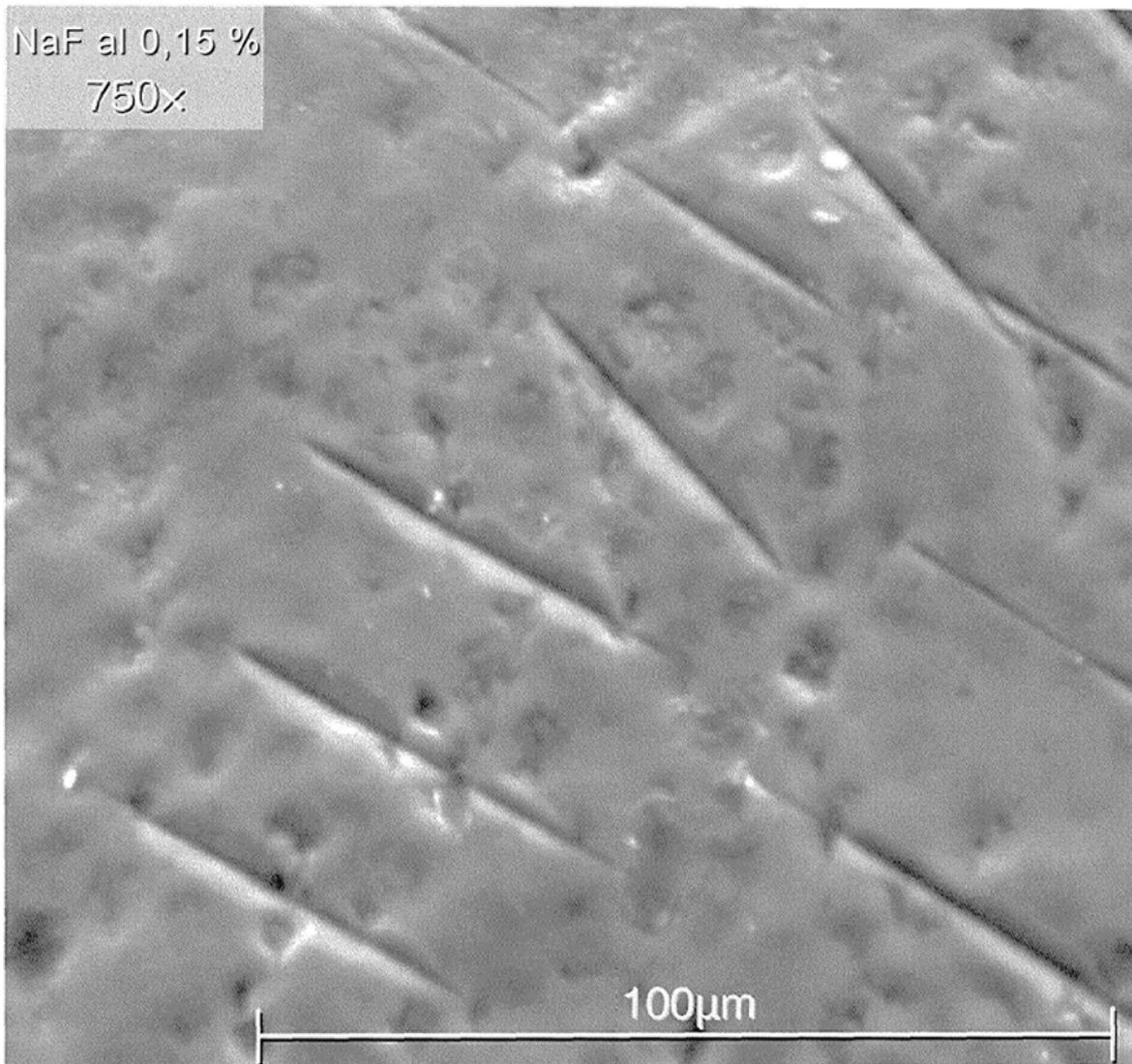
1. Una composición para uso en la prevención de caries dental, comprendiendo dicha composición o sal de la misma:
- 5 a) de 0,01 % a 5 % en peso de teobromina, o una sal o sal doble de la misma;  
 b) al menos una fuente de calcio;  
 c) al menos una fuente de fosfato; y  
 d) un pH de 5 a 10.
- 10 2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha al menos una fuente de calcio se selecciona de entre el grupo consistente en cloruro de calcio, carbonato de calcio, gluconato de calcio, fosfato de calcio y combinaciones de los mismos.
3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha al menos una fuente de  
 15 fosfato se selecciona de entre el grupo consistente en dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio, fosfato de tripotasio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, fosfato de trisodio y combinaciones de las mismas
4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además al menos un  
 20 agente isotónico seleccionado de entre el grupo consistente en xilitol, sorbitol, manitol, maltitol, lactitol, isomaltitol, eritritol, arabitol, glicerol y combinaciones de los mismos.
5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además al menos un  
 25 espesante seleccionado de entre el grupo consistente en metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y combinaciones de los mismos.
6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un agente  
 antibacteriano, un agente antimicrobiano o combinaciones de los mismos seleccionados de entre el grupo  
 30 consistente en triclosán, peróxido de hidrógeno, 4-hidroxibenzoato de metilo, aceite de clavo y combinaciones de los mismos.
7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de desgaste dental en un mamífero necesitado de ello.
- 35 8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, para uso en la mejora de la dureza de indentación de al menos un diente.
9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, donde dicha al  
 40 menos una fuente de calcio se selecciona del grupo consistente en cloruro de calcio, carbonato de calcio, gluconato de calcio, fosfato de calcio y combinaciones de los mismos.
10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, donde dicha al  
 45 menos una fuente de fosfato se selecciona de entre el grupo consistente en dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio, fosfato de tripotasio, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, fosfato de trisodio y combinaciones de los mismos.
11. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, que comprende  
 además al menos un agente isotónico seleccionado de entre el grupo consistente en xilitol, sorbitol, manitol, maltitol,  
 50 lactitol, isomaltitol, eritritol, arabitol, glicerol y combinaciones de los mismos.
12. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, donde dicha  
 composición comprende además al menos un espesante seleccionado de entre el grupo consistente en  
 metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y combinaciones de los mismos.
- 55 13. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, donde dicha  
 composición comprende además un agente antibacteriano, un agente antimicrobiano o combinaciones de los  
 mismos seleccionados de entre el grupo consistente en triclosán, peróxido de hidrógeno, 4-hidroxibenzoato de  
 metilo, aceite de clavo y combinaciones de los mismos.



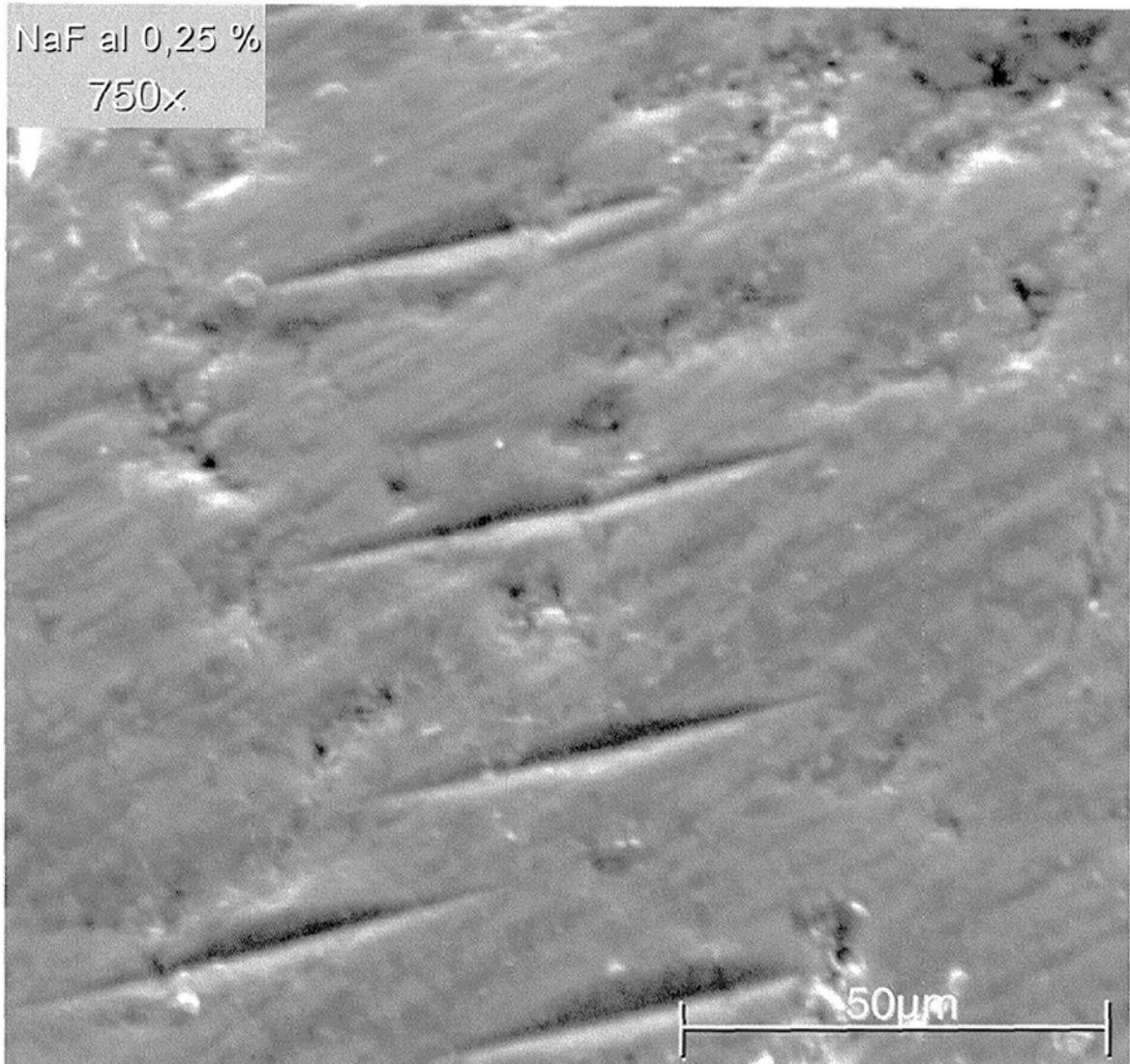
**FIG. 1**



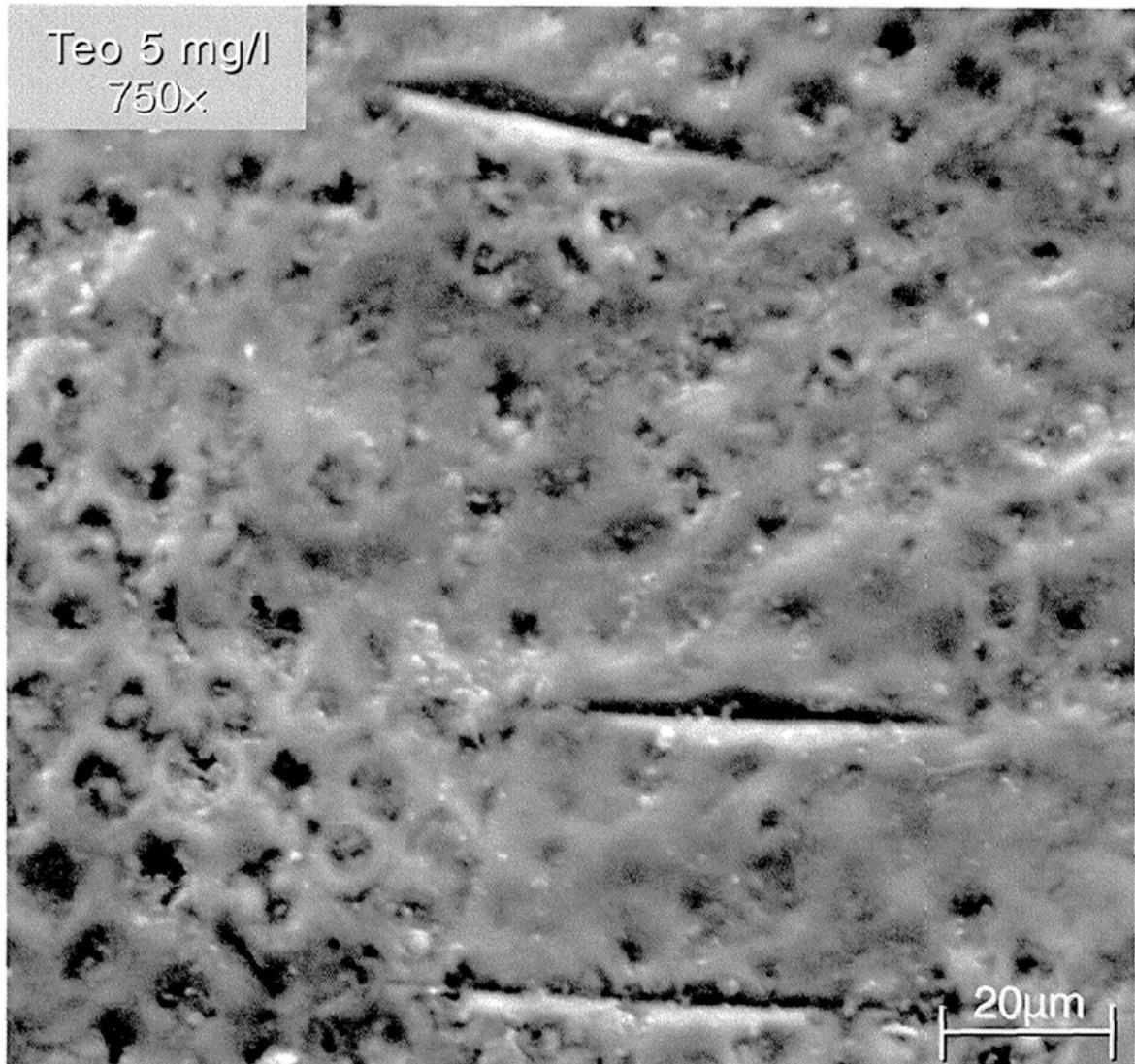
**FIG. 2**



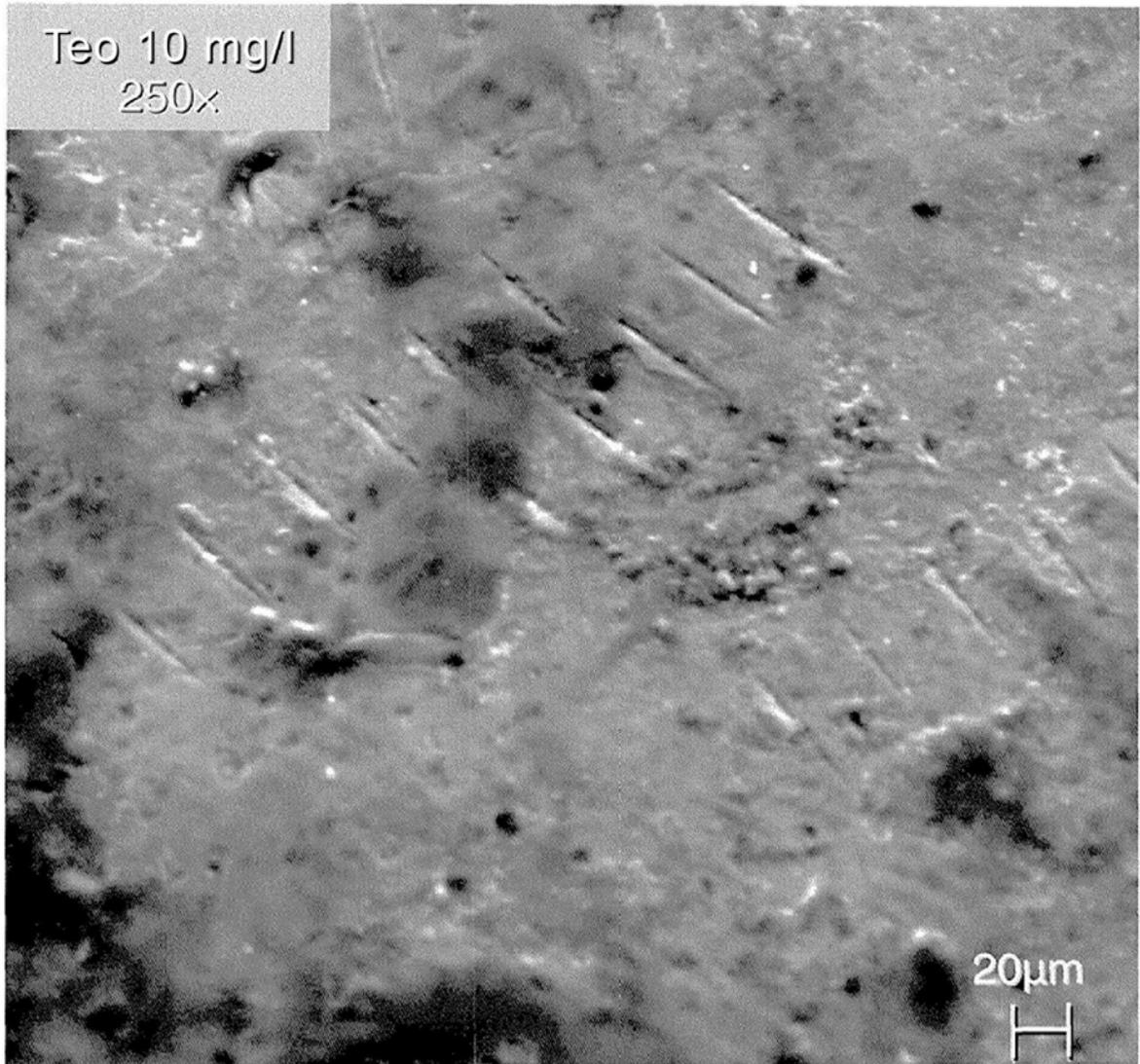
**FIG. 3**



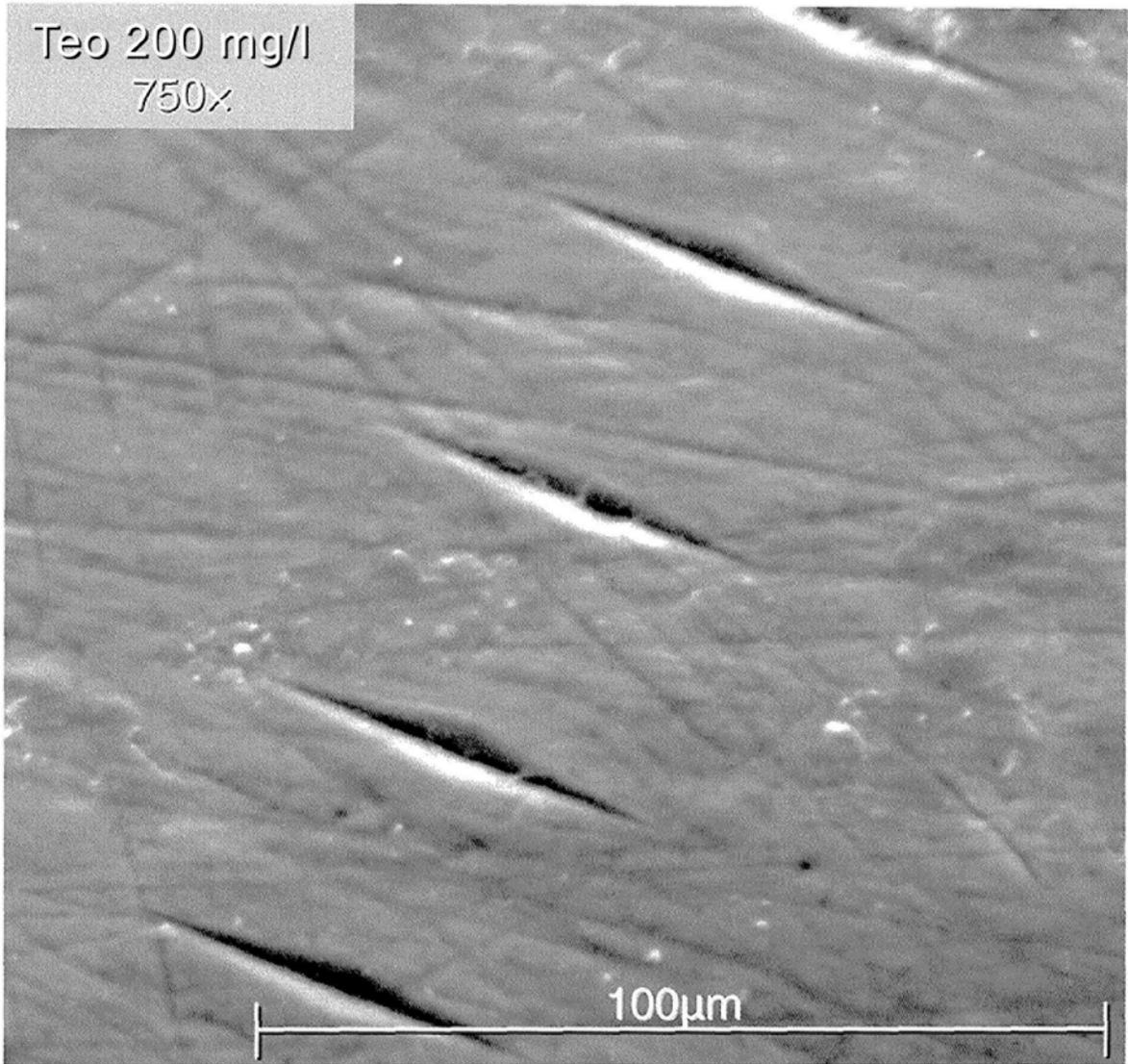
**FIG. 4**



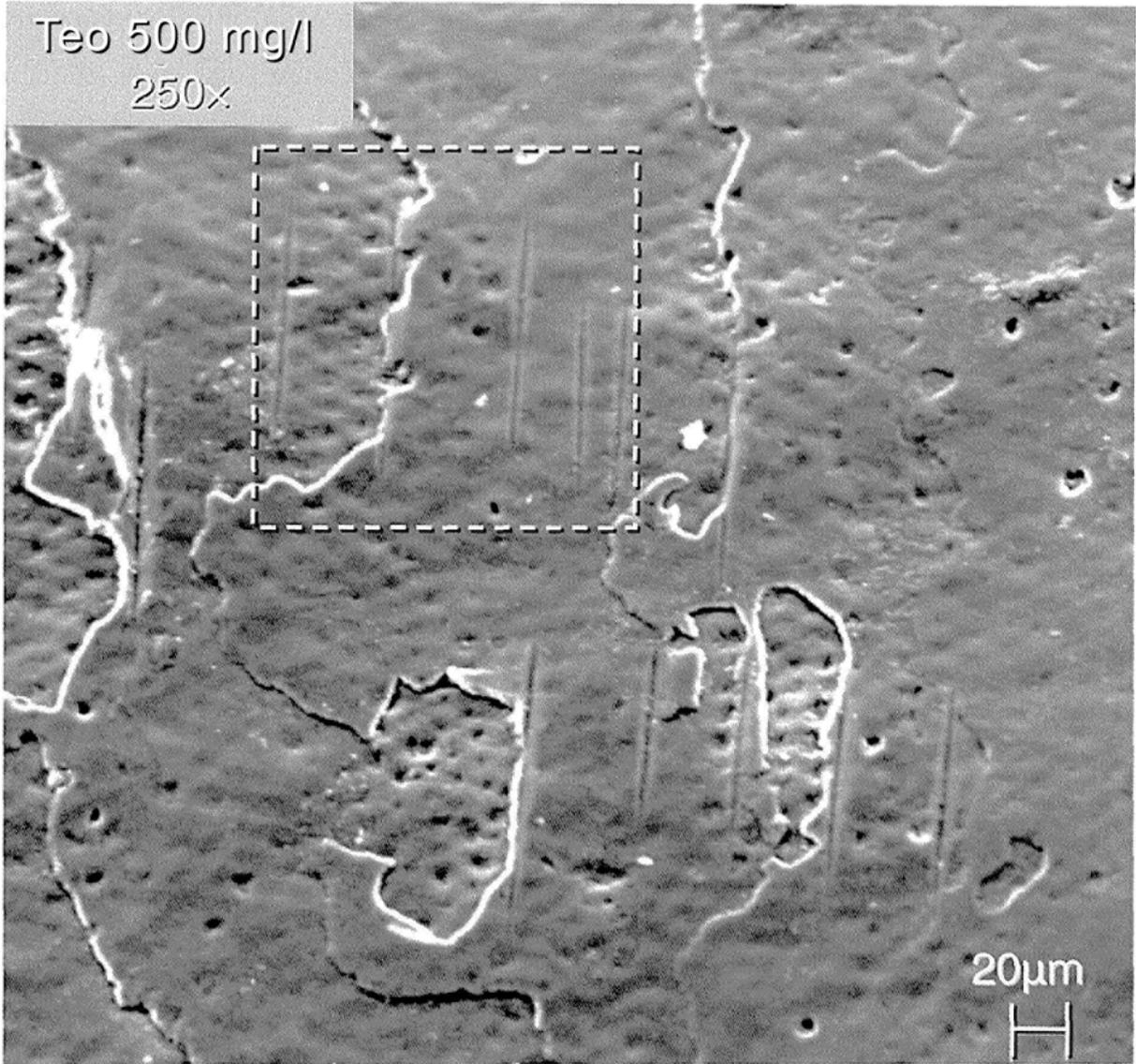
**FIG. 5**



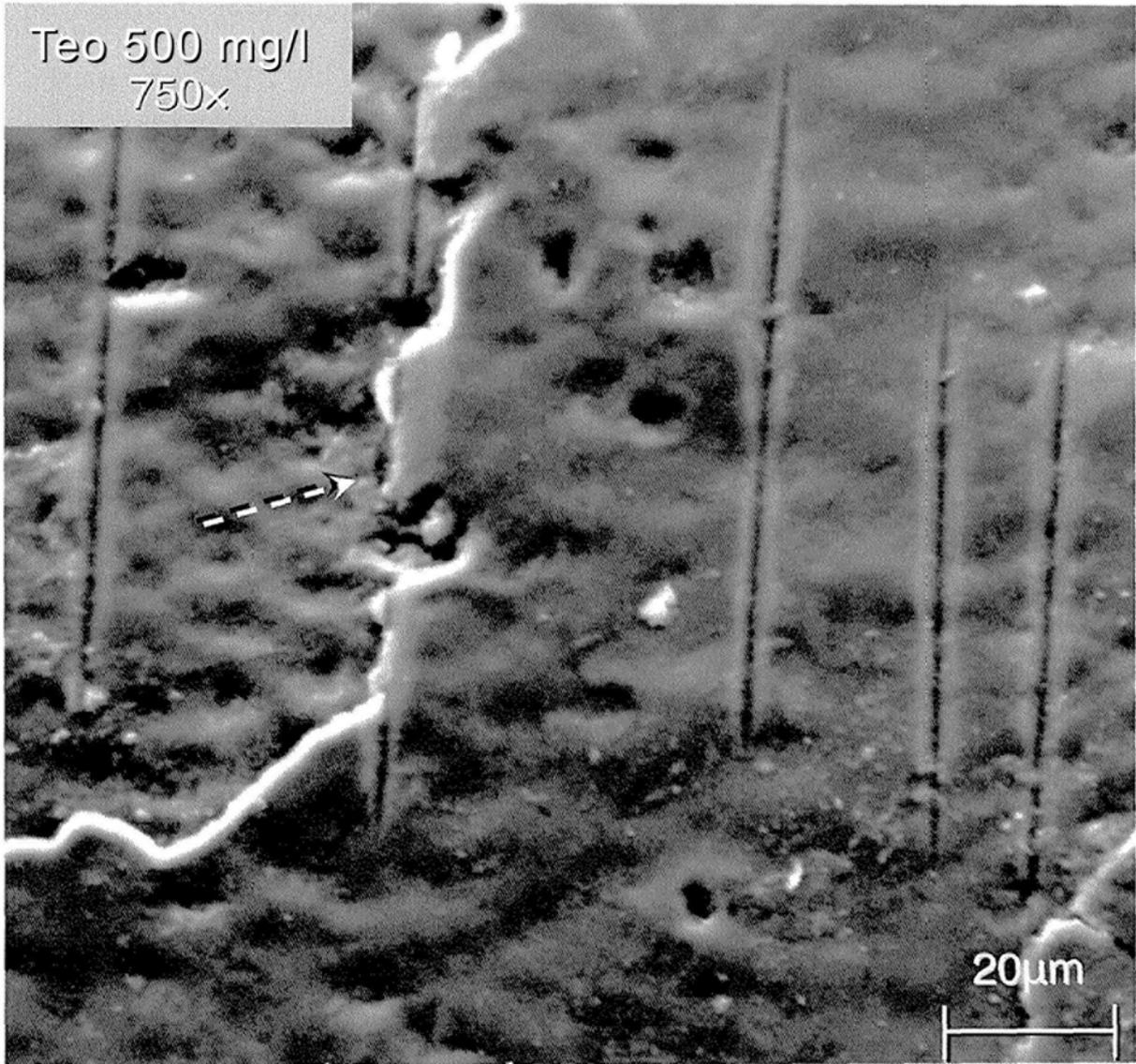
**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**



**FIG. 9**

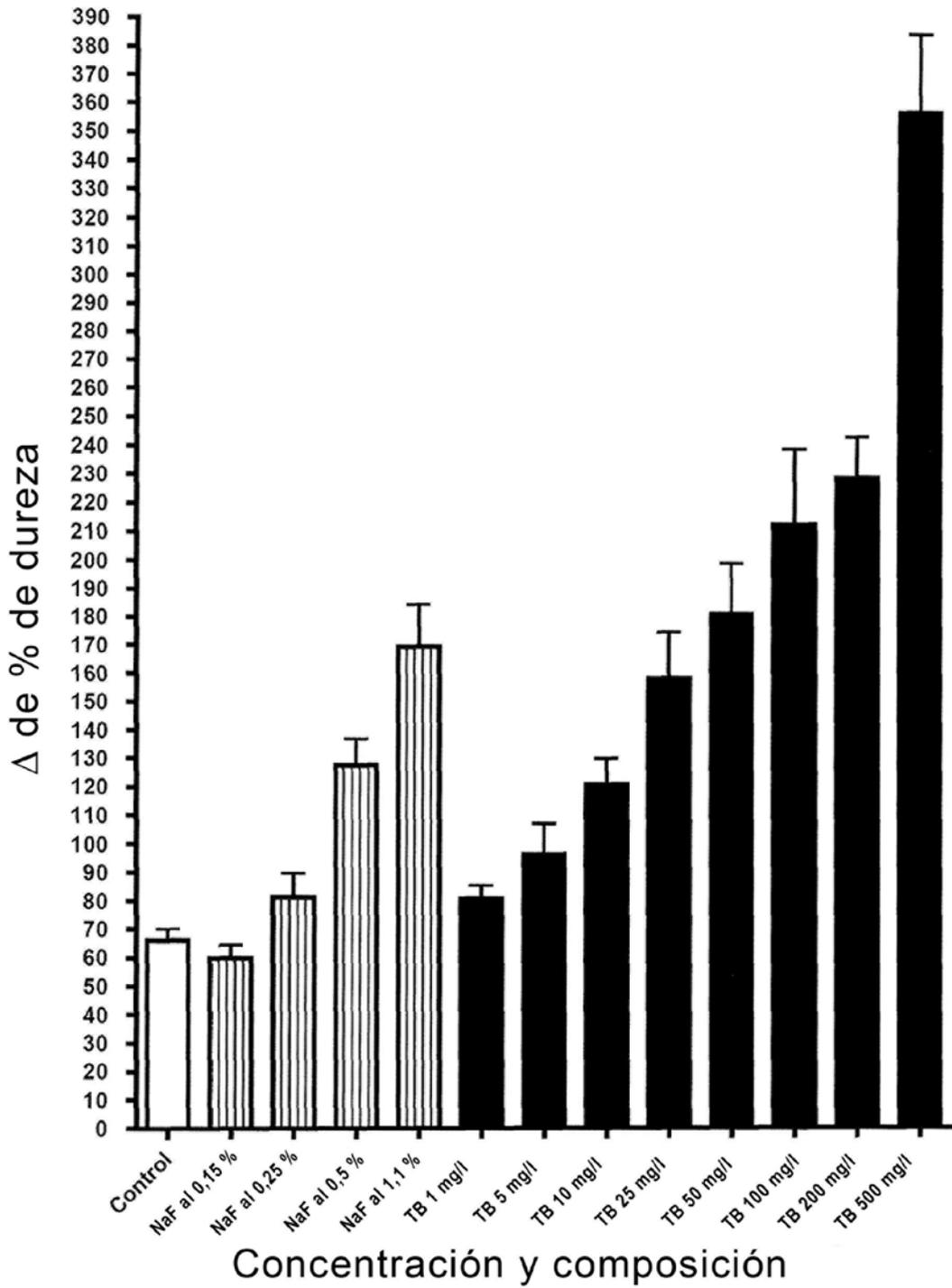


FIG. 10

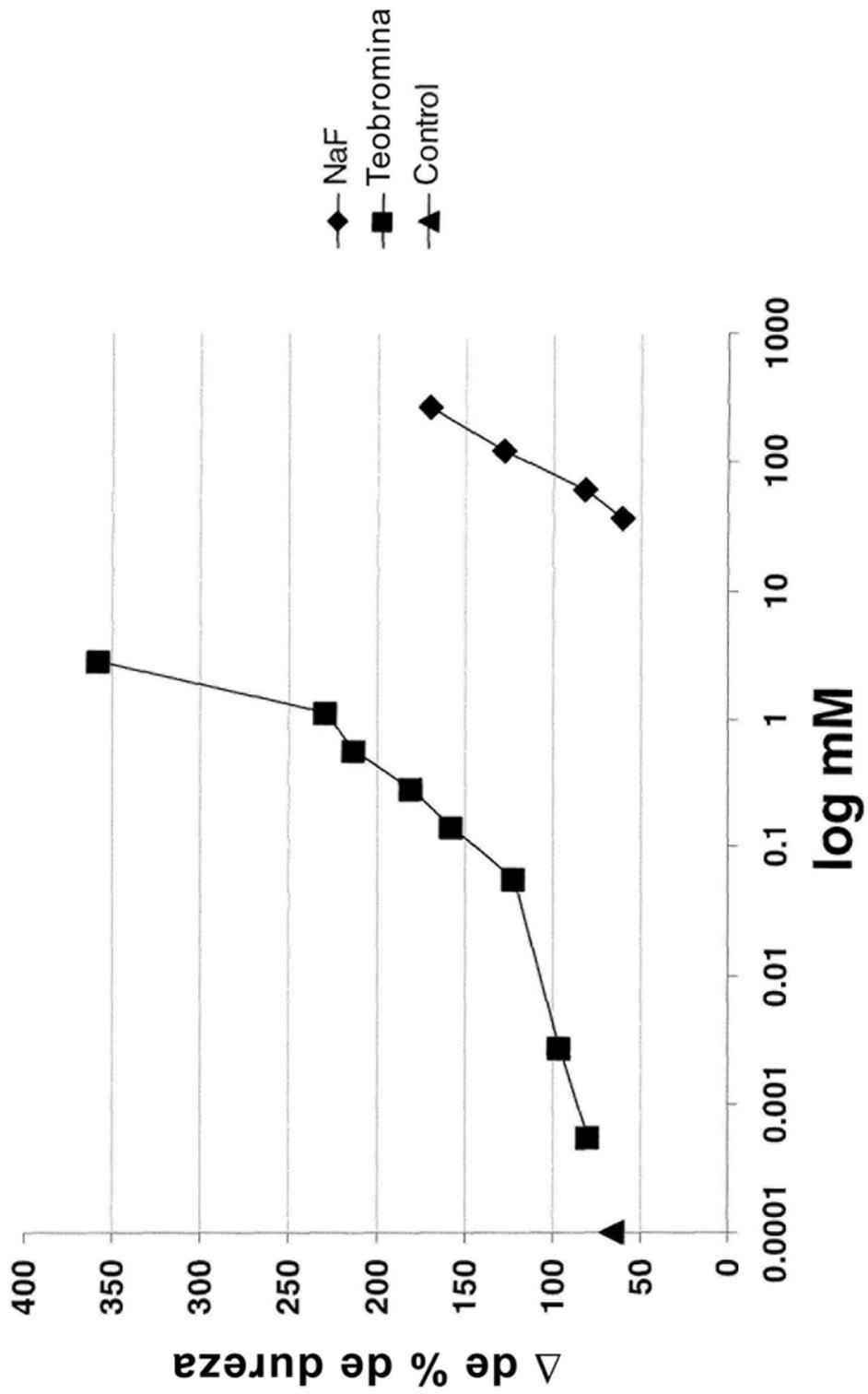
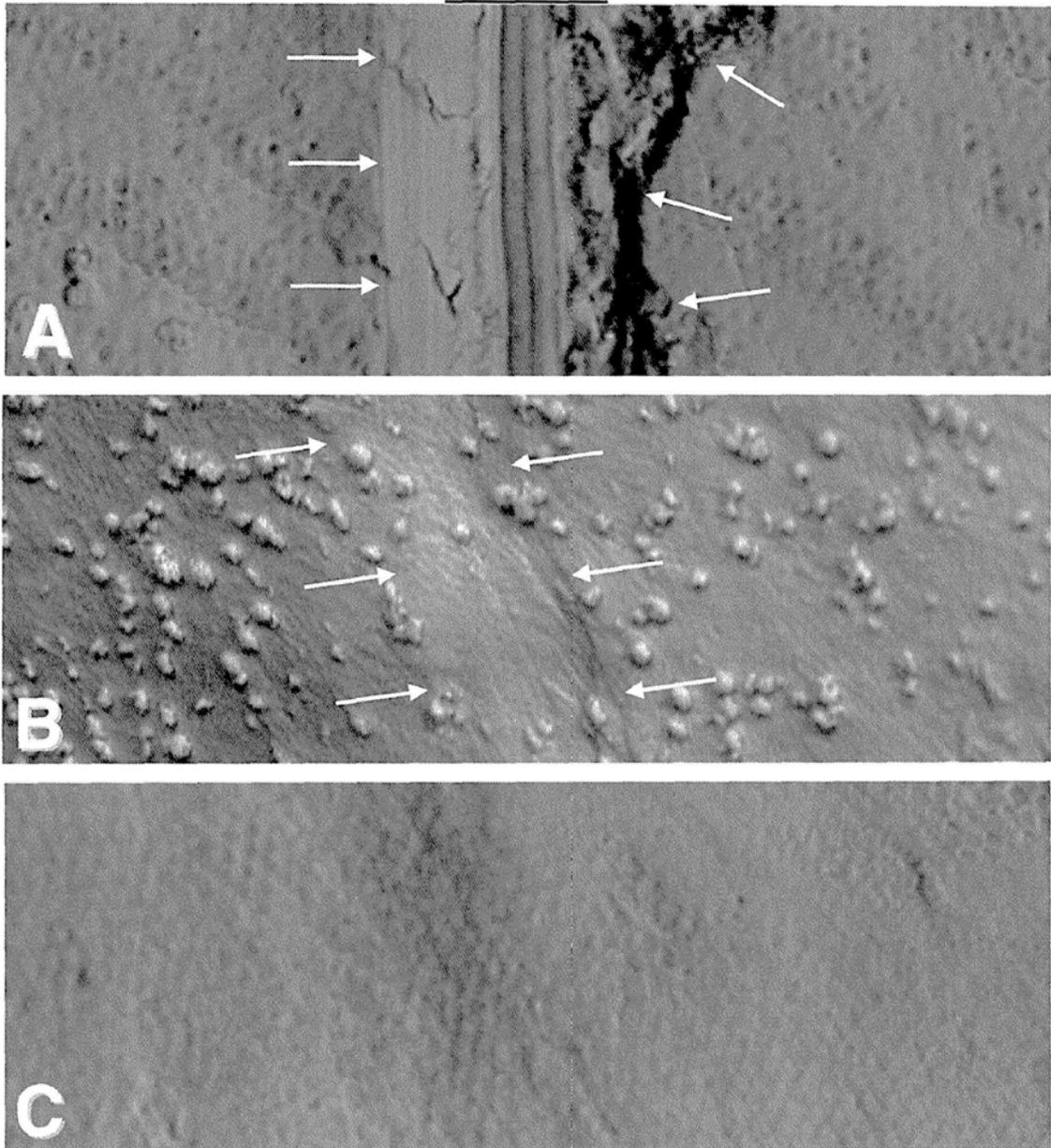
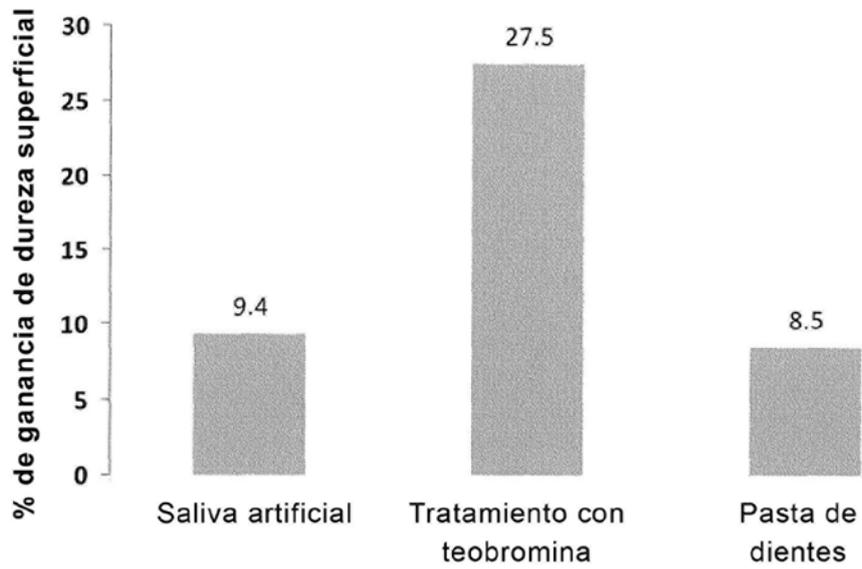


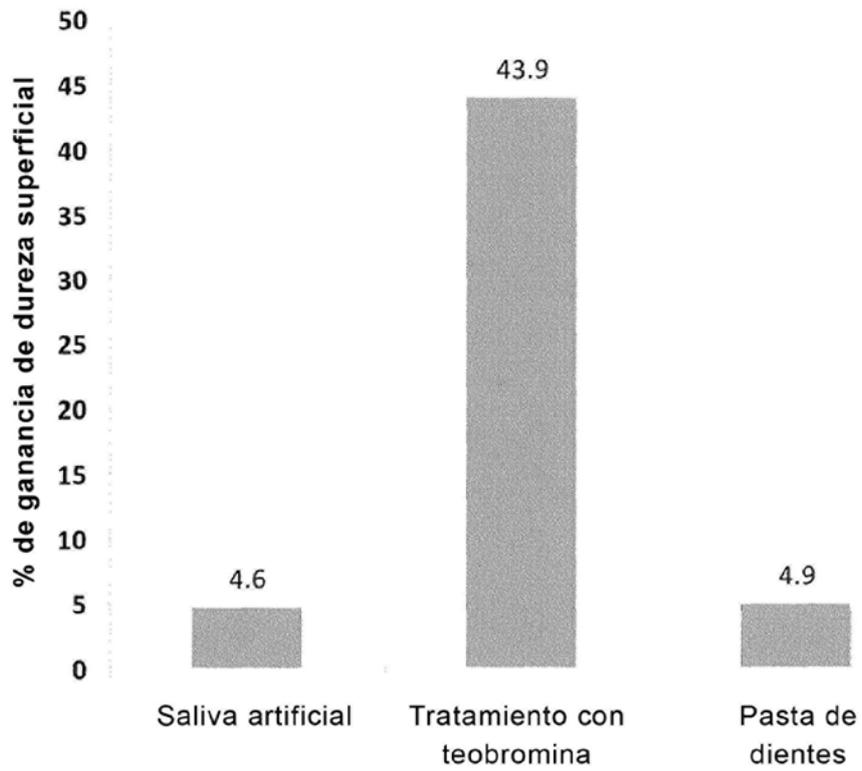
FIG. 11



**FIG. 12**



**FIG. 13**



**FIG. 14**