

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0802009-4 A2**



* B R P I 0 8 0 2 0 0 9 A 2 *

(22) Data de Depósito: 30/04/2008
(43) Data da Publicação: 12/01/2010
(RPI 2036)

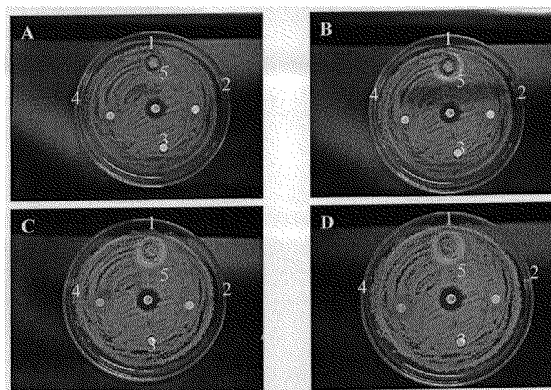
(51) *Int.Cl.:*
A61K 36/296 (2010.01)

(54) Título: **FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA À BASE DE ALOE VERA PARA CAPEAMENTO DIRETO EM POLPA DENTÁRIA E COMO MATRIZ PARA TRANSPORTE DE FÁRMACOS E/OU CÉLULAS**

(73) Titular(es): Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

(72) Inventor(es): Alfonso Gala-Garcia, Maria Esperanza Cortés Segura, Rubén Dario Sinisterra

(57) Resumo: FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA À BASE DE ALOE VERA PARA CAPEAMENTO DIRETO EM POLPA DENTÁRIA E COMO MATRIZ PARA TRANSPORTE DE FÁRMACOS E/OU CÉLULAS. A presente invenção diz respeito a uma formulação farmacêutica de Aloe vera para capeamento direto em polpa dentária para a indução do tecido pulpar e/ou regeneração do tecido dentinário e como matriz para transporte de fármacos e/ou células. Essas formulações podem estar na forma de pó, pastas, géis, cremes, suspensões, solução, comprimidos, pomadas, e suas misturas e/ou podem estar associadas ou não a outros fármacos e com a adição ou não de vitaminas, ciclodextrinas, polímeros biodegradáveis e/ou minerais. Os diversos materiais usados para o capeamento pulpar direto em polpa dentária apresentam múltiplas deficiências, dentre elas: a necrose superficial por coagulação, ponte dentinária neoformada irregular, alterações do tecido pulpar a nível sanguíneo, falta de controle sobre os efeitos, citotóxicidade. Em razão disso, a busca por um biomaterial mais próximo do ideal torna-se numa necessidade crescente. A presente invenção sobre uma formulação de Aloe vera é uma excelente opção para a regeneração tecidual devido às suas propriedades regeneradoras, antiinflamatórias, analgésicas e antimicrobianas e especialmente, para induzir a regeneração tecidual pela migração de células mesenquimais indiferenciadas, induzindo à formação de dentina terciária no complexo dentino-pulpar.





“FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA À BASE DE ALOE VERA PARA CAPEAMENTO DIRETO EM POLPA DENTÁRIA E COMO MATRIZ PARA TRANSPORTE DE FÁRMACOS E/OU CÉLULAS”

A presente invenção diz respeito a uma formulação farmacêutica de
5 *Aloe vera* para capeamento direto em polpa dentária para a indução do tecido pulpar e/ou regeneração do tecido dentinário danificado em tecido dentinóide e e como matriz para transporte de fármacos e/ou células. Essas formulações podem apresentar-se em diferentes formas farmacêuticas como pó, pastas, géis, cremes, suspensões, solução, comprimidos, pomadas, e suas misturas
10 e/ou podem estar associadas ou não a outros fármacos e com a adição ou não de vitaminas. Ainda podem conter como parte da sua composição ciclodextrinas, misturas com alcalinizantes, polímeros biodegradáveis e/ou minerais.

A odontologia tradicional com ênfase cirúrgico-restaurador vem dando
15 lugar à odontologia preservadora e à promoção de saúde. Esse novo modelo baseia-se em criar melhores condições de saúde bucal, respeitando o potencial curativo e mineralizador do dente, determinando o risco à doença, aplicando terapias menos invasivas e monitorando sua evolução (*Anusavice K., Management of dental caries as a chronic infections disease. J Den Educ 62: 791–801. 1998*). Neste contexto, o desenvolvimento de estratégias
20 terapêuticas, técnicas e materiais biocompatíveis para manter a vitalidade e função do complexo dentino-pulpar representam atualmente um grande desafio entre os pesquisadores. O capeamento pulpar direto, indireto e a pulpotomia são terapias desenvolvidas para o tratamento nas lesões pulpares de caráter reversível (*Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. J Dent 28: 77–92. 2000*).
25

Dentina e polpa são consideradas um órgão único, denominado complexo dentino-pulpar, devido à íntima relação entre a camada de células da periferia da polpa e seus prolongamentos dentro dos túbulos dentinários (*Kitasako Y, Arakawa M, Sonoda H, Tagami J., Light and scanning electron microscopy of the inner surfaces of resins used in direct pulp capping. Am J Dent 21: 217–221. 1999*). A dentina é um tecido mineralizado, de natureza conjuntiva, a qual
30

constitui a maior parte da estrutura do dente, além de dar suporte ao esmalte que a reveste em sua porção coronária. O conteúdo inorgânico da dentina consiste, principalmente, de hidroxiapatita e o colágeno tipo I compõe a maior parte da fase orgânica. Além disso, a dentina contém proteínas não
5 colagenosas, como glicoproteínas, proteoglicanas, fosfoproteínas do plasma e água (Linde A., *Cells and extracellular matrix of the dental pulp. J Dent Res* 64: 523–529. 1985).

A dentina aloja em seu interior a polpa dentária, que é um tecido conjuntivo frouxo responsável pela função formativa, nutritiva, sensitiva, de
10 sustentação e de defesa do dente. O odontoblasto, a principal célula do complexo dentino-pulpar, é derivado da crista neural e constitui uma população de células únicas com capacidade de formação e reparo.

Atualmente, as lesões pulpares de caráter reversível são tratadas por meio do capeamento pulpar. O capeamento pulpar pode ser direto ou indireto e
15 pode utilizar diversos materiais e protocolos terapêuticos (Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. *Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. J Dent* 28: 77–92. 2000).

Diversas são as causas que podem provocar alterações da polpa dental, de forma reversível ou irreversível, destacando entre elas a carie dental. As
20 causas dessas alterações dependem da origem, tipo, duração e intensidade do estímulo aplicado, suprimento sanguíneo, resposta imune das células da polpa para responder a estes estímulos recebidos (Donaldson L. F. *Understanding pulpitis J Physiol* 573 (1) p. 2–3. 2006). O capeamento pulpar direto é uma técnica que consiste em colocar um material no local onde houve uma
25 exposição pulpar para preservar os tecidos da polpa e o complexo dentino-pulpar e é considerado um método válido para a conservação da polpa dental, reconhecida pela Associação Americana de Endodontia. Nesse tratamento, busca-se estimular polpas jovens saudáveis a depositarem uma ponte de dentina no local onde a polpa foi exposta evitando a evolução do processo de
30 injúria que poderia culminar em tratamentos mais radicais como o tratamento endodôntico radical ou a exodontia.

O capeamento pulpar direto, quando bem sucedido, pode preservar a

vitalidade do tecido pulpar exposto. O sucesso relatado na literatura depende principalmente da causa da exposição, do tamanho da área exposta, da localização do sítio de exposição e da idade do paciente. A técnica de capeamento direto é de fácil domínio para o endodontista e para o clínico geral e mostram resultados positivos. E também, o baixo custo atinge uma importância social relevante para a conservação do complexo dentino-pulpar (Stanley H.R. *Criteria for standardizing and increasing credibility of direct pulp capping studies. Am J Dent. Jan;11 Spec No:S17-34. 1998*)

Dentre as substâncias empregadas para o capeamento pulpar destaca-se o hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 , sendo o material de escolha para tratamentos conservadores, incluindo a pulpotomia. O mecanismo de ação está associado a ativação de enzimas teciduais promovendo o efeito mineralizador, levando à formação de ponte dentinária em aproximadamente 90% dos casos. A densidade do novo tecido formado é variável e em muitos casos é difícil de ser visualizado no exame radiográfico. Ainda, o Ca(OH)_2 tem tempo de ação curto, reabsorve-se facilmente, tem baixa resistência à compressão e promove uma necrose superficial que leva a uma resposta inflamatória pulpar transitória (Holland R., *Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. Rev Brás Pesquisa Med Biologica 4: 83–95. 1971*).

A participação dos íons cálcio nos processos de mineralização, como na formação de pontes de dentina, selamento biológico apical e oclusão dos túbulos dentinários, foi demonstrada na literatura (Holland R, Souza V, Nery MJ, Mello W, Bernabé PFE, Otoboni Filho JÁ. *Effect of the dressing in root canal treatment with calcium hydroxide. Rev Facul Odontol Arac, atuba 7: 39–45. 1978*). Estudos histoquímicos e análises com luz polarizada verificaram que, quando o Ca(OH)_2 entra em contato com o tecido conjuntivo ocorre uma imediata precipitação de granulações birrefringentes à luz polarizada. A alta concentração de íons cálcio pode também ativar enzimas como a pirofosfatase que desempenham importante função no processo de mineralização.

A formação de dentina de reparação em polpas de molares de ratos que foram capeadas diretamente com hidróxido de cálcio produz mudanças no seu estado metabólico da polpa caracterizadas pela deposição de apatita e

ocorrência de nódulos de calcificação na matriz. (Hirschfeld Z, Bab I, Tamari I, Sela J. *Primary mineralization of dentin in rats after pulp capping with calcium-hydroxide. J Oral Pathol.* 111(6):426-33. 1982).

A pasta de Ca(OH)_2 com água apresentou 90% na formação de dentina reparadora quando comparada a outra forma de aplicação tal como os cimentos de Ca(OH)_2 (n=20). (Holland R, Souza V, Nery MJ, Mello W, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA., *Effect of the dressing in root canal treatment with calcium hydroxide. Rev Facul Odontol Aracatuba* 7: 39–45. 1978). No entanto a qualidade desse reparo dentinário é questionado em relação à pouca densidade do novo tecido formado.

O MTA tem inúmeras aplicações clínicas e na endodontia vêm sendo indicado devido a sua biocompatibilidade e atividade em presença de umidade. O MTA é um pó branco ou cinza que consiste de finas partículas hidrofílicas que endurecem na presença de umidade; e devido a sua alcalinidade, capacidade de prevenir a infiltração bacteriana e aos altos níveis de biocompatibilidade, os MTA tem sido testados como materiais para capeamento direto. O MTA esta composto basicamente por silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido de silicato, além de outros óxidos minerais e do óxido de bismuto utilizado para dar radiopacidade ao material. A hidratação do pó resulta em um gel coloidal com pH de 12.5, o qual se solidifica em estrutura rígida, com força compressiva chegando a 70Mpa, comparável ao IRM (Intermediate Restorative Material) e materiais restauradores intermediários à base de cimento de óxido de zinco e eugenol, após 21 dias, com menor citotoxicidade. O Ca(OH)_2 quando misturado com água, ocorre uma serie de eventos com a adsorção de fibronectina aos cristais de cálcio, à semelhança do que ocorre após o capeamento com Ca(OH)_2 (Accorinte Mde L, Holland R, Reis A, Bortoluzzi MC, Murata SS, Dezan E Jr, Souza V, Alessandro LD., *Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth. J Endod.* 34(1):1-6. 2008).

A hidroxiapatita e a cerâmica tricálcio-fosfato, (α -TCP), têm sido propostas e testadas como agentes para capeamento pulpar, *in vivo*. Esses materiais foram amplamente empregados como auxiliares do reparo ósseo

devido à sua biocompatibilidade e capacidade de promover nova formação óssea. Investigações *in vivo*, em animais, mostraram que, em exposições pulpare, a deposição da ponte dentinária ocorre diretamente em contato com esses biomateriais de fosfato de cálcio, em contraste com a área necrótica inicial normalmente formada sob o hidróxido de cálcio. A hidroxiapatita permitiu, por meio de indução enzimática, a diferenciação dos fibroblastos em células mesenquimais antes de se transformarem em células responsáveis pela formação da ponte dentinária (Yoshida K, Yoshida N, Iwaku M. Histological observations of hard tissue barrier formation in amputated dental pulp capped with alpha-tricalcium phosphate containing calcium hydroxide. *Endod Dent Traumatol.* 10 (3):113-201994). 10-04-2008

As proteínas morfogenéticas BMPs e os fatores de crescimento TGF- β são conhecidos pelo seu potencial osteoindutor e, recentemente, muitas pesquisas têm sido feitas a fim de se compreender o papel dessas proteínas na regeneração de tecidos dentais, na diferenciação de células pulpare em células "tipo-odontoblastos" e na deposição de dentina reparadora (Tziafas D, Alvanou A, Panagiotakopoulos N, Smith AJ, Lesot H, Komnenou A, Ruch JV. *Induction of odontoblastlike cell differentiation in dog dental pulps after in vivo implantation of dentin matrix components. Arch Oral Biol* 40: 883–893. 1995; Hu CC, Zhang C, Qian Q, Tatum NB. *Reparative dentin formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. J Endod.* 24(11):744-51. 1998).

Sistemas adesivos dentinários também foram testados no capeamento pulpar direto mostrando uma extensa resposta inflamatória (Silva GA, Lanza LD, Lopes-Júnior N, Moreira A, Alves JB. *Oper Dent. Direct pulp capping with a dentin bonding system in human teeth: a clinical and histological evaluation* 31(3):297-307. 2006) e indireto (Falster CA, Araujo FB, Straffon LH, Nör JE. *Indirect pulp treatment: in vivo outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. Pediatr Dent.* 24(3):241-8. 2002).

Os diversos materiais mencionados apresentam múltiplas deficiências, dentre elas a necrose superficial por coagulação do Hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 quando em contato com o tecido pulpar. As células pulpare são

destruídas pelo alto pH do Ca(OH)_2 , como consequência disso, a futura ponte dentinária se localizará sob a zona de necrose tornando a ponte dentinária tubular e profunda.

As alterações do tecido pulpar a nível sangüíneo frente ao Agregado de Trióxido Mineral (MTA) é uma preocupação dos cientistas pelas consequências que traz ao organismo e na formação da nova ponte. Ainda existe falta de controle sobre todos os efeitos das proteínas morfogenéticas BMPs e os fatores de crescimento TGF- β , seu efeito mineralizador duradouro e o valor final do produto que é muito alto. Em relação aos sistemas adesivos, a citotóxicidade sobre a polpa dentaria faz dele um material sem aplicação direta na polpa. Em razão disso, a busca por um biomaterial mais próximo do ideal torna se numa necessidade crescente.

Os princípios ativos obtidos das plantas medicinais transformados em fitoterápicos são mais uma opção para a terapia conservadora na aplicação nos tecidos corporais devido às suas propriedades regeneradoras, antiinflamatórias, analgésicas e antimicrobianas (Silva M I, Sousa F C, Gondim AP *Herbal therapy in primary health care in Maracanaú, Ceará, Brazil. Ann Pharmacother.* 39(7-8):1336-41. 2005; Villas Bôas Gde K, Gadelha CA *Opportunities in the pharmaceutical industry and the local development logic based on the Brazilian biomes: the basis for a national policy discussion Cad Saude Publica.* 23(6):1463-71. 2007)

O *Aloe vera* L. apresenta propriedades antimicrobianas, antiinflamatórias e regenerativas. O *Aloe vera* L., denominado comumente como "babosa", é uma planta pertencente à família das *liliaceae*, assim como o lírio e o alho, e tem alto conteúdo de água semelhante ao cacto.

O *Aloe vera* L., é um vegetal angiosperma, pertencente á família Liliacea como o lírio, alho, cebola e aspargos. É uma planta originária do mediterrâneo e no continente americano pode ser encontrada na América do Sul, América Central e as Antilhas. Existem mais de 350 espécies reconhecidas no mundo, sendo usadas como fitoterápicos: a *Aloe succotrina*, a *Aloe africana*, a *Aloe saponaria*, a *Aloe Sinensis* e a *Aloe ferox* com pontas aceradas. As propriedades terapêuticas têm sido atribuídas para as espécies *Aloe vera* L. e a

Aloe arborescens Miller (T. Reynolds T & Dweck A. *Aloe vera leaf gel: a review update Journal of Ethnopharmacology* 68, 3–37. 1999).

Os componentes da *Aloe vera* L. foram determinados na seguinte ordem: aminoácidos (Acido Aspartico ácido Glutâmico, asparagina, alanina, isoleucina, fenilalanina, treonina, prolina, valina, leucina, glutamina, serina, 3-Alanina, lisina, arginina, tirosina, cistina), minerais (cálcio, ferro, carbonato de potássio, magnésio, manganês, sódio, zinco, iodo), antraquinonas, enzimas, hormônios, ligninas, minerais, salicilatos, saponinas, esteróides, açúcares e vitaminas. Estes componentes foram obtidos da folha de *Aloe vera* L. Epidermes com seiva contida nos túbulos, a substância mucilaginosa com o gel branco localizado internamente.

Os componentes estruturais da polpa da folha da *Aloe vera* L. Foram isolados e caracterizados por meio de cortes longitudinais e transversais (5 µm) e coradas com azul de toluidina e observadas à microscopia de luz. O autor observou que a maior parte da polpa consistiu em água e que o pacote vascular está bem definido. (Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard I. *Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. Int Immunopharmacol.* 4(14):1745-55. 2004).

O acemannan (ACM) é um polissacarídeo β(1-4)-acetilmannan extraído e isolado da polpa da folha do *Aloe vera* L. A este elemento atribui-se a maior parte a ação do *Aloe vera* L. de grande utilidade na cicatrização de feridas e nos tratamentos de fibrosarcomas em caninos e em felinos com resultados efetivos atribuídos as suas propriedades antitumorais e imunoestimulantes. Esse polissacarídeo induz à proliferação de macrófagos e a produção de citosinas como Il-1, Il-6 e TNF-1 aumentando sua atividade fagocitária melhorando a resposta inflamatória (Zhang L, Tizard IR. *Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. Immunopharmacology.* 35(2):119-28. 1996; Djeraba A& Quere P, *In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. Int J Immunopharmacol.* 22(5):365-72. 2000).

As propriedades imunoestimulantes do acemannan mediante a indução à

maturação de células dendríticas imaturas importantes na primeira linha de defesa do organismo (Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS, Kim K, Han SS, Lee CK: *Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. Int J Immunopharmacol* 1: 1275–1284. 2001)

As propriedades bacteriostáticas, antifúngicas do *Aloe vera* L. foram determinadas com vários tipos de microorganismos. O *Aloe vera* L. em a composição de colutórios bucais são, possivelmente, pelas suas características antibacterianas e antiinflamatórias, uma boa alternativa para o controle da placa dental, diminuição da inflamação gengival (Habeeb F, Shakir E, Bradbury F, Cameron P, Taravati MR, Drummond AJ, Gray AI, Ferro VA *Screening methods used to determine the anti-microbial properties of Aloe vera inner gel Methods*.42 (4):315-320. 2007; Rosca-Casian O, Parvu M, Vlase L, Tamas M. *Antifungal activity of Aloe vera leaves. Fitoterapia*. 78(3):219-22. 2007).

O *Aloe vera* L. tem efeito analgésico e antiinflamatório pela via carboxipeptidase que inibe a bradicinina, salicilatos, lactato de magnésio e inibidores de tromboxano A₂. O lactato de magnésio inibe *in vivo* a conversão da histidina em histamina dentro das células do tecido conjuntivo denominado mastócitos e atua ao inibir a histidina descarboxilase. A histamina é conhecida como um vasodilatador gerado pelo organismo em contato com um antígeno, causando edema acompanhado de prurido, os quais são sinais de alergia. Esta ação fornece ao *Aloe vera* L propriedades antipruriginosas e antialérgicas efetivas contra queimaduras, úlceras provocadas por radiação, picadas de insetos e hematomas. (Yagi A, Kabash A, Mizuno K, Moustafa SM, Khalifa TI, Tsuji H. *Radical scavenging glycoprotein inhibiting cyclooxygenase-2 and thromboxane A2 synthase from aloe vera gel. Planta Med*. 69(3):269-71. 2003; Vázquez B, Avila G, Segura D, Escalante B. *Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. J Ethnopharmacol*. Dec;55(1):69-75.1996).

O *Aloe vera* apresenta efeito antioxidativo quando usado na suplementação da dieta com *Aloe vera* L em ratos, este estudo mostrou que o colesterol hepático foi suprimido significativamente em aproximadamente 30%, o qual significou uma diminuição do dano produzido pelos radicais livres (Lim

BO, Seong NS, Choue RW, Kim JD, Lee HY, Kim SY, Yu BP, Jeon TI, Park DK. Efficacy of dietary aloe vera supplementation on hepatic cholesterol and oxidative status in aged rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2003 Aug;49(4):292-6; Keyhanian S, Stahl-Biskup Phenolic constituents in dried flowers of aloe vera (Aloe barbadensis) and their in vitro antioxidative capacity. *Planta Med.*;73(6):599-602. 2007).

O efeito anti-ulceroso foi determinado usando os princípios ativos do Aloe vera no tratamento da úlcera péptica (Eamlamnam K, Patumraj S, Visedopas N, Thong-Ngam D. Effects of Aloe vera and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. *World J Gastroenterol*. 7;12(13):2034-9. 2006; Yusuf S, Agunu A, Diana M The effect of Aloe vera A. Berger (Liliaceae) on gastric acid secretion and acute gastric mucosal injury in rats. *J Ethnopharmacol*. Jul;93(1):33-7. 2004)

Ainda, o Aloe é considerado um agente promotor de regeneração celular tanto no tratamento de pacientes com alterações de pele *in vivo*, quanto na regeneração de fibroblastos (Abdullah KM, Abdullah A, Johnson ML, Bilski JJ, Petry K, Redmer DA, Reynolds LP, Grazul-Bilska AT Effects of Aloe vera on gap junctional intercellular communication and proliferation of human diabetic and nondiabetic skin fibroblasts. *J Altern Complement Med*. 9(5):711-8. 2003; Maenthaisong R, Chaiyakunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: a systematic review. 33(6):713-8. 2007).

Formulações de Aloe vera demonstraram ter com efeito laxante efetivo. (Odes HS, Madar Z. A double-blind trial of a celandin, aloevera and psyllium laxative preparation in adult patients with constipation. *Digestion*. 49(2):65-71. 1991; Brusick D, Mengs U. Assessment of the genotoxic risk from laxative senna products. *Environ Mol Mutagen*. 29(1):1-9. 1997)

O Aloe vera tem sido usado na odontologia em muitas aplicações, a literatura mostra tratamentos nos casos de sensibilidade dentinária usando pastas de dentes que contêm Aloe vera L. e alantoin. Preparações de Aloe Vera tem sido usadas para o tratamento de gengivite na área de Periodontia, esse estudo avaliou 40 pacientes jovens os quais usaram colutórios contendo

Aloe vera L. na sua composição. Os resultados mostraram diminuição significativa da formação de placa bacteriana e da inflamação gengival. Ainda , foi relatada na área de Cirurgia, um estudo em 607 pacientes com indicação de exodontia, após realizada a cirurgia foi colocado um hidrogel a base de *Aloe vera* L. os resultados mostraram diminuição da incidência de osteíte alveolar (Poor MR, Hall JE, Poor AS. *Reduction in the incidence of alveolar osteitis in patients treated with the SaliCept patch, containing Acemannan hydrogel. J Oral Maxillofac Surg.* 60(4):374-9; 2002).

O depósito de patente US 7,250,174 diz respeito a novos produtos cosméticos, de cuidado pessoal, agentes de limpeza e biocida, alimentos funcionais e composições nutricionais suplementares. Essas novas composições incorporam vidros bioativos. Além disso o *Aloe* pode estar presente nos métodos de preparação e no uso de tais composições.

O processo de fabricação de aloe em gel obtido do sumo filtrado das folhas da planta *Aloe vera* foram descritos no depósito de patente US 7,329,421.

Uma formulação para liberação de agentes químicos na forma de spray ou esponja estável contendo *Aloe vera* foi descrita (USP 7,060,253.).Esse sistema para aplicação tópica destinado à higiene dental pode consistir em um dispensador de aerossol.

O depósito de patente USP 7,083,779 diz respeito a um método para preparação de produto à base de ervas e xilitol, podendo conter *Aloe vera*. Os autores ainda relatam que a formulação pode tratar gengivite e periodontite.

Embora existam no estado da técnica diversas composições farmacêuticas contendo *Aloe vera*, nenhuma destas propõe o uso da mesma para manutenção da integridade pulpar que propiciaria a migração de células mesenquimais indiferenciadas, induzindo à formação de dentina terciária no complexo dentino-pulpar. Além disso as supracitadas não descrevem aplicação das composições farmacêuticas em contato com os tecidos conetivos.

No entanto essa patente não relata nenhuma aplicação odontológica específica. Porém esse método não usa liofilização e não relata aplicações específicas para capeamento dental. Essa aplicação não relata ser promotora

de regeneração tecidual e capeamento pulpar. Contudo, essa patente não descreve aplicação para estar em contato com os tecidos conectivos.

Uma das maiores vantagens da tecnologia apresentada nesta tecnologia está relacionada ao caráter promotor de regeneração de tecidos associado à
5 formulação liofilizada, sendo que esta atividade é altamente biocompatível. Dessa forma, um capeamento pulpar, por exemplo, realizado pelas atuais técnicas de aplicação de Aloe vera, apresentará a vantagem de possuir um mecanismo altamente biocompatível associado, permitindo assim que possa agir de forma protetora sobre os tecidos pulpares expostos. Obteve-se um
10 maior controle do reparo dentinário, uma vez que os íons contidos no Aloe poderão induzir o reparo do tecido conectivo.

Além disso, o caráter antimicrobiano da formulação proposta nesta invenção será bastante útil na prevenção da colonização de microorganismos em matrizes ou transportadores de fármacos e outros artigos de para
15 transporte de células destinadas ao uso clínico-hospitalar. O uso em lesões dermatológicas também será de bastante valia, prevenindo ou funcionando como agente terapêutico em diversos tipos de infecções.

Devido às propriedades do *Aloe vera* L., a presente invenção também possibilita a manutenção da integridade pulpar e propicia a migração de células
20 mesenquimais indiferenciadas, induzindo à formação de dentina terciária no complexo dentino-pulpar.

A presente invenção pode ser melhor compreendida através dos seguintes exemplos:

Exemplo 1. Atividade antimicrobiana de uma preparação farmacêutica a
25 base de Aloe Vera liofilizada

Os resultados da atividade antimicrobiana estão apresentados na Tabela 1 e 2. Dos materiais testados em ordem decrescente de atividade, em todos os períodos de tempo avaliados, o *Aloe vera* L. liofilizado mostrou ser o mais eficaz inibição do crescimento bacteriano. Esse foi seguido pelo gel de *Aloe vera* L. 10% com hidroxietil-celulose ao 2% e do sumo obtido diretamente da
30 folha. Houve diferença estatisticamente significativa na atividade antimicrobiana da preparação liofilizada sobre as outras duas preparações ($p < 0,05$).

O *Aloe vera* L. liofilizado 30 mg apresenta-se efetivo como agente antimicrobiano natural com um halo de inibição de 12.5 ± 1 mm.

Em geral, a atividade antimicrobiana demonstrada pelo método empregado nesta pesquisa foi bacteriostática frente a bactérias e antifúngica frente aos fungos e essa ação foi eficaz nas primeiras 24 horas.

Das três preparações testadas *in vitro* se determinou que a melhor de todas foi o *Aloe vera* L liofilizada, em peso de 30 mg, verificando-se um halo de inibição de 12.5 ± 1 mm em media nos microorganismos testados, por tanto, cumprindo com as normas e hierarquia na pesquisa experimental este material será usada no experimento *in vivo* avaliando histologicamente a resposta pulpar após capeamento pulpar direto.

Tabela 1. Média dos halos de inibição em milímetros, após 6 horas (n=3).

Materiais	S. mutans	C. albicans	E. faecalis	L. casei	S. aureus	A. a
Aloe Liofilizado	13,5	12,2	13,7	12,0	13,5	13,0
Aloe Gel	8,5	7,8	8,8	7,5	8,2	8,0
Aloe sumo	7,0	6,0	6,5	6,0	6,5	6,5
Álcool 70°GL	6,2	5,5	6,0	6,2	6,0	6,0
Água destilada	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Controle positivo	17,0	17,2	17,5	17,0	17,5	16,7

Tabela 2. Média dos halos de inibição em milímetros, após 24 horas (n=3).

Após 24hr	S.mutans	C.albicans	E.faecalis	L.casei	S.aureus	A.a
Aloe Liofilizado	14,2	12,5	14,3	13,2	14,2	14,0
Aloe Gel	9,0	8,5	9,5	8,0	9,2	8,7
Aloe sumo	6,5	5,7	6,3	5,8	6,1	6,2
Álcool 70°GL	6,2	5,5	6,0	6,2	6,0	6,0
Água destilada	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Controle	17,0	17,2	17,5	17,0	17,5	16,7

positivo						
----------	--	--	--	--	--	--

Os resultados da atividade antimicrobiana com preparações de *Aloe vera* L. podem ser visualizados na Figura 1. Esta figura apresenta os halos de inibição no teste de difusão em ágar da atividade antimicrobiana com preparações de *Aloe vera* L. frente *Actinobacillus actinomycetencomitans* (1) Aloe liofilizado, (2) água, (3) álcool, (4) Aloe sumo (5) controle positivo: após 6 h (A); 12h (B); 18 h (C) e 24 h (D).

Exemplo2

Capeamento pulpar com *Aloe vera* L. liofilizado em dente de rato

10 **Resposta pulpar com *Aloe vera* L. liofilizado após 1 dia**

Um dia após a exposição e capeamento pulpar 100% dos cortes, observou-se na área da exposição infiltrado inflamatório agudo (PMN). Subjacente ao infiltrado agudo, tecido conjuntivo frouxo com vasos hiperemiados e áreas de hemorragia.

15 **Resposta pulpar com *Aloe vera* L. após 7 dias**

No sétimo dia, observou-se, em 100% dos cortes analisados, infiltrado inflamatório agudo (PMN) no local da exposição com mínimas áreas de necrose, e subjacentemente, foi verificado infiltrado inflamatório crônico moderado, vasos hiperemiados e áreas de hemorragia. O restante da polpa apresentou-se compatível com as características normais do tecido conjuntivo frouxo.

Resposta pulpar com *Aloe vera* L. após 14 dias

Aos 14 dias após capeamento com *Aloe vera* L., observou-se na área de exposição infiltrado inflamatório crônico escasso em todos os cortes, subjacentemente formação de tecido mineralizado. PMN neutrófilos ocasionais, vasos dilatados e hiperemiados. O tecido pulpar restante apresentou-se compatível com a normalidade.

Resposta pulpar com *Aloe vera* L. após 30 dias

Trinta dias após o capeamento pulpar com *Aloe vera* L., os cortes histológicos mostraram área com infiltrado agudo (PMN) próxima à exposição em 70% das

amostras. Por outro lado, 87% dos cortes mostraram o começo de formação de tecido mineralizada formando uma ponte entre as extremidades dentinárias da exposição. Subjacentemente, observou-se camada de odontoblastos aparentemente se organizando, infiltrado inflamatório crônico moderado, vasos hiperemiados e uma alta atividade metabólica do tecido pulpar.

Tais constatações são vislumbradas na Figura 2, que apresenta o corte histológico do dente de rato capeado com *Aloe vera* L. liofilizado após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (b) substância mineralizada (c) vasos dilatados (B) 40X, (a) Exposição pulpar, (b) tecido mineralizado (C) 40X, (a) camada mais superficial de tecido mineralizado (D) 40X, (a) camada mais profunda de tecido mineralizado, (b) reorganização da camada de odontoblastos (c) vasos hiperemiados. (5 μ) H&E.

Capeamento pulpar direto com Ca(OH)_2 em dentes de ratos

Resposta pulpar com Ca(OH)_2 após 1 dia

Em 100% dos cortes histológicos notou-se, no primeiro dia após capeamento com Ca(OH)_2 , tecido pulpar desorganizado na área de exposição que sugere necrose. Subjacente, presença de infiltrado inflamatório agudo de PMN é evidente e os vasos apresentam-se hiperemiados.

Resposta pulpar com Ca(OH)_2 após 7 dias

Após 7 dias de capeamento, observou-se em 43,7% dos cortes, infiltrado crônico moderado, neutrófilos ocasionais e áreas de edema subjacente ao local de exposição, enquanto ocorreu infiltrado inflamatório agudo no local imediato à exposição com capeamento pulpar. Por outro lado, 56,3% dos cortes histológicos observados, apresentaram infiltrado inflamatório crônico moderado e necrose superficial na área da comunicação. O restante do tecido pulpar mostrou estruturas compatíveis com a normalidade.

Resposta pulpar com Ca(OH)_2 após 14 dias

No 14º dia, 100% dos cortes observados apresentaram infiltrado inflamatório crônico moderado e formação de estrutura mineralizada bloqueando a área de exposição pulpar. Subjacentemente observou-se macrófagos, vasos hiperemiados, tecido conjuntivo frouxo e reestruturação da camada de odontoblastos limitando a porção interna da estrutura mineralizada.

Resposta pulpar com Ca(OH)₂ após 30 dias

Após 30 dias, 100% dos cortes histológicos apresentaram ponte de tecido mineralizado mais organizada, camada de odontoblastos na face interna da ponte mineralizada, infiltrado inflamatório crônico variando de escasso a moderado e vasos hiperemiados. O tecido pulpar adjacente, bem como o
5 restante da polpa, apresentou-se histologicamente sem alterações.

Capeamento pulpar direto com o controle negativo em dentes de rato

Resposta pulpar com o controle negativo após 1 dia

Os cortes de estrutura dentária do grupo controle mostraram, no primeiro
10 dia após a exposição pulpar, desorganização tecidual no local da exposição e, subjacentemente, observou-se vasos hiperemiados, áreas de hemorragia e escasso infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos (PMN).

Resposta pulpar com o controle negativo após 7 dias

Aos 7 dias após capeamento com o controle negativo, observou-se
15 tecido desorganizado, o que sugere necrose e infiltrado agudo predominantemente. Subjacentemente observa-se a presença de vasos hiperemiados, dilatados e tecido conjuntivo frouxo.

Resposta pulpar com o controle negativo após 14 dias

No décimo quarto dia, observou-se necrose extensa do tecido, infiltrado
20 inflamatório agudo, vasos dilatados e hiperemiados predominando na maior extensão da polpa. Infiltrado inflamatório crônico moderado foi observado subjacente à área lesada.

Resposta pulpar com o controle negativo após 30 dias

No trigésimo dia após a exposição pulpar, o grupo controle mostrou
25 tecido pulpar desorganizado em toda a sua extensão, sugerindo necrose total do tecido pulpar.

Conclui-se, portanto, que não houve diferença significativa entre o *Aloe vera* L. e o Ca(OH)₂.

Breve descrição das figuras

Figura 1. Halos de inibição no teste de difusão em ágar da atividade antimicrobiana com preparações de *Aloe vera* L. frente *Actinobacillus actinomycetencomitans* (1) *Aloe* liofilizado, (2) água, (3) álcool, (4) *Aloe* sumo

(5) controle positivo: após 6 h (A); 12h (B); 18 h (C) e 24 h (D).

Figura 2. Corte histológico do dente de rato capeado com *Aloe vera* L. liofilizado após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (b) substância mineralizada (c) vasos dilatados (B) 40X, (a) Exposição pulpar, (b) tecido mineralizado (C) 40X, (a) camada mais superficial de tecido mineralizado (D) 40X, (a) camada mais profunda de tecido mineralizado, (b) reorganização da camada de odontoblastos (c) vasos hiperemiados. (5 μ) H&E.

REIVINDICAÇÕES

1. A presente invenção diz respeito de uma formulação de Aloe vera para capeamento pulpar direto caracterizada pela utilização de extrato liofilizado para a indução e/ou a regeneração do tecido pulpar, conectivo ou mesenquimal, não limitando a eles.
2. A presente invenção de uma formulação de Aloe vera para capeamento pulpar direto caracterizado pela utilização de extrato liofilizado para a indução para regeneração e do tecido pulpar, de acordo com as reivindicação 1, caracterizado por estar em forma de solução, géis, cremes, suspensões, comprimidos, pastas, pomadas, e suas misturas
3. A presente invenção de uma formulação de Aloe vera para capeamento pulpar direto caracterizado pela utilização de extrato liofilizado com o objetivo à indução para regeneração e do tecido pulpar produzindo um tecido tipo dentinoide caracterizado por conter misturas com alcalinizantes tais como fosfatos e íons cálcio não limitando a eles,
4. A presente invenção de uma formulação de Aloe vera para capeamento pulpar direto caracterizado pela utilização de extrato liofilizado para indução para regeneração e do tecido pulpar produzindo um tecido tipo dentinoide caracterizados por conter polímeros biodegradáveis.
5. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicação 1, caracterizado pelo uso de ciclodextrinas naturais e/ou sintéticas contendo grupos funcionais: alquil, hidroxialquil, hidroxipropil e/ou acil ou ciclodextrinas com ligação cruzada ou polímeros de ciclodextrinas, ciclodextrinas ramificadas, ou suas misturas.
6. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado pelo uso de aciclovir, pirazinamida, etambutol, eritromicina, vancomicina, tetraciclinas como cloridrato de tetraciclina, doxiciclina, minociclina, cloridrato de oxitetraciclina, metronidazol, cloranfenicol, ampicilina, cefalosporinas, sulfonamidas, gentamicina, amoxicilina, penicilina, streptomina, ácido p-aminosalicílico, claritromicina, clofazimina, sulfonamidas, etionamida, cicloserina, canamicina, amicacin, capreomicina, viomicina, tiacetazona, rifabutina e as quinolonas, como as ciprofloxacina, ofloxacina e esparfloxacina, clorexidina, fluoreto de estanho,

butoconazol, imidazol, itraconazol, clotrimazol, cetoconazol e flucutosina.

7. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado pela adição de vitaminas A, B, C e/ou E e/ou combinações das mesmas.

5 8. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por eliminar o uso do álcool no processo de obtenção nos géis, suspensões, comprimidos, soluções, cremes, pastas, pomadas, suportados em polímeros mucoadesivos.

9. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as
10 reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por apresentar alta capacidade de adesão em superfícies biológicas tais como mucosas, pele, esmalte e tecidos duros como dentina e osso.

10. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por diminuir a ação quelante de
15 fármacos, especialmente o Hidróxido de cálcio.

11. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por potencializar o processo de regeneração tecidual.

12. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as
20 reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por prolongar o efeito antimicrobiano.

13. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por ser biocompatível e causar menores alterações morfológicas em superfícies biológicas do que esses fármacos não associados à ciclodextrina.

25 14. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado pela efetividade na eliminação ou diminuição de microorganismos, resistentes ou não, a fármacos convencionais.

15. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 16, caracterizada pela associação a anestésicos,
30 como por exemplo lidocaína, procaína, articaína, mepivacaína, bupivacaína, xilocaína, não limitantes aos mesmos, com alta capacidade de diminuir ou eliminar a sintomatologia dolorosa, para serem usadas em cavidades ósseas, lojas cirúrgicas, aftas ou lesões infecciosas de tecidos moles causadas por

bactérias, fungos ou vírus.

5 **16.** Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por apresentar alta efetividade contra microorganismos, resistentes ou não, em câmara pulpar e/ou em sistemas de canais radiculares de dentes.

17. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por diminuir a destruição do colágeno em processos infecciosos.

10 **18.** Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 17, caracterizada por apresentar alta efetividade contra microorganismos resistentes ou não em pericoronarites, assim como o alívio da dor proporcionada pelo processo inflamatório.

15 **19.** Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 17, caracterizada por apresentar alta efetividade contra microorganismos, resistentes ou não, em pulpites, alveolites, possibilitando melhor cicatrização dos tecidos circundantes lesados, assim como o alívio da dor proporcionada pelo processo inflamatório e ação antiinflamatória, especialmente na associação com a tetraciclina.

20 **20.** Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por ser eficaz na eliminação de microorganismos, resistentes ou não, em cavidades dentinárias.

21. Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por ser eficaz na diminuição ou eliminação de inflamação em polpas dentárias.

25 **22.** Composição farmacêutica de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 17, caracterizada por ser eficaz no alívio de dor em câmaras pulpares de dentes.

30 **23.** Composição farmacêuticas de Aloe vera, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4 e 17, caracterizada por ser eficaz na eliminação de microorganismos, resistentes ou não, responsáveis por infecções causadas por próteses dentárias, exercendo ainda efeito adesivo entre prótese e gengiva e/ou entre prótese e mucosa, além do alívio de sintomatologia dolorosa.

Figura 1

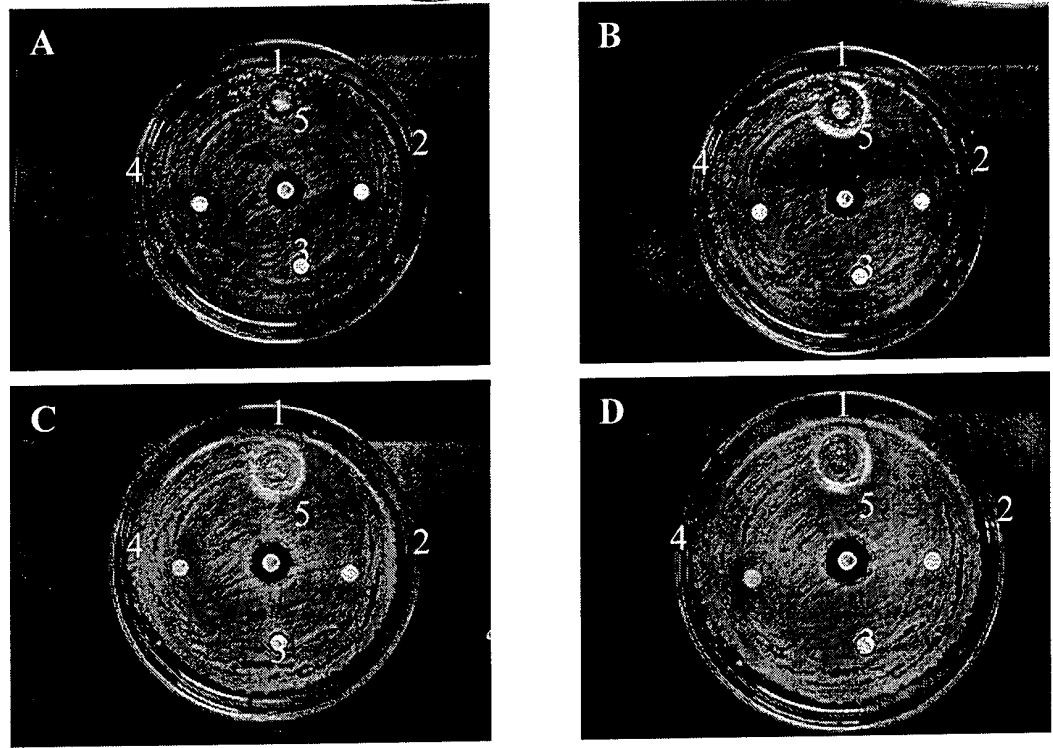
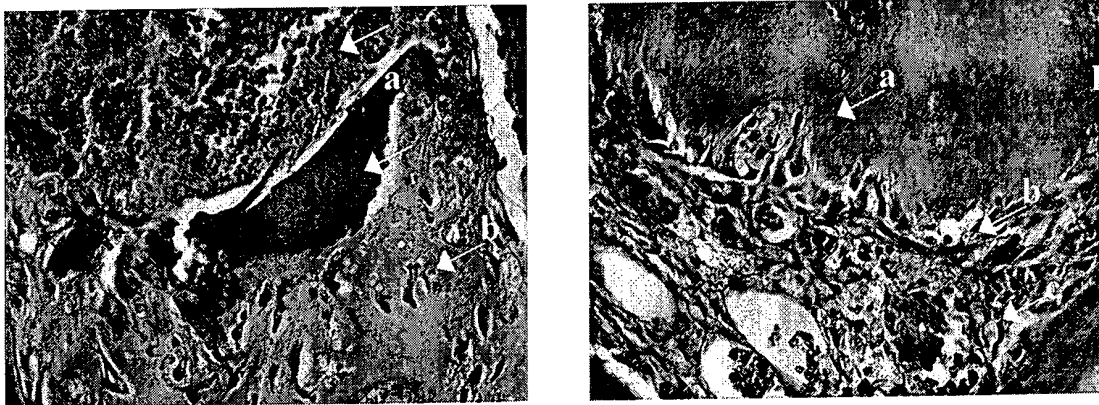


Figura 2



PI 0802009-4

RESUMO

“FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA À BASE DE ALOE VERA PARA CAPEAMENTO DIRETO EM POLPA DENTÁRIA E COMO MATRIZ PARA TRANSPORTE DE FÁRMACOS E/OU CÉLULAS”

5 A presente invenção diz respeito a uma formulação farmacêutica de *Aloe vera* para capeamento direto em polpa dentária para a indução do tecido pulpar e/ou regeneração do tecido dentinário e como matriz para transporte de fármacos e/ou células. Essas formulações podem estar na forma de pó, pastas, géis, cremes, suspensões, solução, comprimidos, pomadas, e suas misturas e/ou podem estar associadas ou não a outros fármacos e com a adição ou não de vitaminas, ciclodextrinas, polímeros biodegradáveis e/ou minerais. Os diversos materiais usados para o capeamento pulpar direto em polpa dentária apresentam múltiplas deficiências, dentre elas: a necrose superficial por coagulação, ponte dentinária neoformada irregular, alterações do tecido pulpar a nível sangüíneo, falta de controle sobre os efeitos, citotóxicidade. Em razão disso, a busca por um biomaterial mais próximo do ideal torna se numa necessidade crescente. A presente invenção sobre uma formulação de *Aloe vera* é uma excelente opção para a regeneração tecidual devido às suas propriedades regeneradoras, antiinflamatórias, analgésicas e antimicrobianas e especialmente, para induzir a regeneração tecidual pela migração de células mesenquimais indiferenciadas, induzindo à formação de dentina terciária no complexo dentino-pulpar.

10

15

20