



IPI INSTITUTO
NACIONAL
DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL
Assinado
Digitalmente

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102014003325-4

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102014003325-4

(22) Data do Depósito: 12/02/2014

(43) Data da Publicação Nacional: 20/10/2015

(51) Classificação Internacional: A61K 36/185; A61K 6/00.

(54) Título: COMPOSIÇÃO A BASE DE EXTRATO VEGETAL PARA USO NA ENDODONTIA

(73) Titular: UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA, Pessoa Jurídica. CGC/CPF: 12671814000137. Endereço: Rua Baraúnas, 351, 2º andar - Bairro Universitário, Campina Grande, PB, BRASIL(BR), 58429-500, Brasileira

(72) Inventor: ANA CLÁUDIA DANTAS DE MEDEIROS; LAINNE CARLA BATISTA ALENCAR; CLEILDO PEREIRA DE SANTANA; DEYSIANE OLIVEIRA BRANDÃO; KARLA MONIK ALVES DA SILVA; FELIPE HUGO ALENCAR FERNANDES; ALINNE SOUSA BARBOSA; AMARO LAFAYETTE NOBRE FORMIGA FILHO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 12/02/2014, observadas as condições legais

Expedida em: 25/05/2021

Assinado digitalmente por:

Liane Elizabeth Caldeira Lage

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados



RELATÓRIO DESCRITIVO

“COMPOSIÇÃO A BASE DE EXTRATO VEGETAL PARA USO NA ENDODONTIA”

[001] A presente invenção refere-se a uma pasta intracanal produzida a partir do extrato nebulizador de *Ximenia americana L.* e seus excipientes farmacologicamente ativos para uso na endodontia contra infecções bacterianas. A formulação da presente invenção compreende extrato nebulizado extraído de *Ximenia americana L.* e seus excipientes farmacologicamente ativos, em um veículo apropriado, dirigida a produtos relacionados com os campos da medicina dentária, e composições farmacêuticas para uso humano e animal.

[002] A presente invenção é dirigida à utilização de uma formulação de ativo com base de extrato de planta do semiárido, em que as referidas formulações possuem extratos de com propriedades antimicrobianas.

[003] A odontologia possui como objetivo a manutenção ou melhora na qualidade de vida dos pacientes. Sendo assim, o principal desafio tem sido o desenvolvimento e a seleção de materiais que sejam biocompatíveis e que suportem as condições adversas do sistema estomatognático, como as inúmeras bactérias que compõem a flora bucal.

[004] Endodontia é a área da odontologia preocupada com a biologia e patologia da polpa dentária e dos tecidos periapicais. O tratamento endodôntico emprega um conjunto de técnicas, tais como o desbridamento químico-mecânico, a irrigação, a drenagem de tecidos moles e duros, trefinação e a terapia antimicrobiana, com o objetivo de evitar a extração de um dente danificado, infectado ou doente.

[005] A medicação intracanal é um material muito utilizado na odontologia, mas especificamente, na área da endodontia, com o objetivo de eliminar microrganismos que sobreviveram ao preparo do canal. Este material deve apresentar algumas características como ser inofensivo aos tecidos periapicais, ser reabsorvido quando extravasado, possuir propriedades anti-sépticas, ser manipulado com facilidade, possuir adesão satisfatória as paredes dos condutos radiculares, não pigmentar o dente e ser de baixo custo.

[006] O hidróxido de cálcio é utilizado na endodontia, desde 1920. É uma substância alcalina, com pH aproximado a 12,5, o qual dissocia-se em íons de cálcio e hidroxila. Apresenta propriedades biológicas satisfatórias, como atividade antimicrobiana, inibição da reabsorção dentária, e indução de remineralização, sendo recomendado para diversas situações clínicas.

Entretanto, sua atividade é questionada contra o *Enterococcus faecalis*, um dos microrganismos mais resistentes nas infecções endodônticas. Mas, para que a terapia seja eficaz, é necessário que o medicamento permaneça no canal por duas a quatro semanas para que o efeito da alcalinização seja alcançado, o que altera o crescimento, o metabolismo e a divisão celular bacteriana.

[007] A pasta de hidróxido de cálcio pode ser preparada com diferentes veículos, como a solução aquosa de metilcelulose, água destilada, solução fisiológica, solução anestésica, polietilenoglicol, propilenoglicol, paramonoclorofenol canforado e óleo de oliva. O veículo ideal deve permitir uma libertação gradual e lenta dos íons de cálcio e hidroxila. Baseado nas propriedades químicas possuídas pelo hidróxido de cálcio quando associado a veículos aquosos e oleosos, alguns autores indicam o uso de veículos hidrossolúveis como água destilada e solução salina, para potencializar suas propriedades. Apesar de suas excelentes propriedades biológicas possui algumas desvantagens, como a longa duração do tratamento, pois a liberação de íons e a alcalinização do meio necessitam de tempo. Também é relatado o enfraquecimento da estrutura dental após a terapia prolongada e a resistência de alguns microrganismos.

[008] O hidróxido de cálcio tem sido utilizado na forma de pasta, quando associado a diversas substâncias, como: paramonoclorofenol canforado, pasta disponível no comércio com o nome de Calen PMCC®; veículo viscoso (polietilenoglicol ou glicerina) disponível no comércio com o nome de Calen®; iodofórmio, disponível no comércio com o nome de Vitapex®, Metapex® e Diapex®; propilenoglicol, disponível com o nome de L&C®; clorexidina, soro fisiológico e linezolida, substâncias usadas em associação com o hidróxido de cálcio apenas na pesquisa.

[009] Pasta CTZ® é muito utilizada na clínica diária, sendo composta de cloranfenicol tetraciclina, óxido de zinco e eugenol.

[010] Outras medicações utilizadas na clínica diária são: NDP composto de fosfato de dexametasona, paramonoclorofenol, polietilenoglicol e rinossoro; PRP composto de paramonoclorofenol, polietilenoglicol e rinossoro; otosporin (associação de hidrocortisona, sulfato de neomicina e sulfato de polimixina B); pasta CFC (Cloridrato de Ciprofloxacina, Metronidazol e Hidróxido de cálcio); e a mistura de Rifocort pomada (contém prednisolona e rifamicina + Rinossoro + Depo-medrol (prednisolona intramuscular).

[011] Já na área da pesquisa têm sido testados o extrato etanólico de própolis e alguns antimicrobianos como: ciprofloxacina, metronidazol e minociclina.

[012] A vantagem da presente invenção é a produção de uma pasta intracanal com extrato de *Ximenia americana* L. nebulizado, sendo uma alternativa viável, para a indústria de produtos de uso odontológico, possibilitando a introdução no mercado de um novo fitoterápico com atividade em *E. Faecalis*.

[013] A utilização de extratos ou óleos essenciais extraídos de plantas na saúde humana e animal vem crescendo ao longo dos anos, principalmente pelo fato do Brasil possuir uma das maiores biodiversidades de fauna e flora mundial. Como exemplo, temos algumas patentes com a utilização de extratos ou óleos essenciais na odontologia, a patente americana US20100284943, descreve formulações com ação bacteriana e remoção de biofilme a partir de óleos vegetais extraídos de plantas dos gêneros Pantoprazol, Gatteria, Cyperus e um veículo apropriado. Enquanto, que a patente US7946849, descreve a caracterização de um sistema de liberação de antibiótico utilizado como medicamento na terapia endodôntica.

Descrição detalhada da Invenção

[014] *Ximenia americana* L. também conhecida como 'ameixa', 'ameixa-do-mato', 'wild plum', 'yellow plum' or 'sea lemon' é uma árvore ou arbusto espinhoso pertencente à família Olacaceae que apresenta casca avermelhada, lisa, muito adstringente; folhas glabras, oblongas, alternas e inteiras; flores amareladas, dispostas em racemos curtos, axilares ou terminais; o fruto é uma drupa amarelada, subglobosa, aromática, comestível, envolvendo uma semente com amêndoa branca. Apresenta ampla distribuição no globo, com registro de ocorrência nos continentes americano, africano, asiático e australiano.

[015] A preparação do material vegetal se dá da seguinte maneira: a secagem do material vegetal em estufa de circulação de ar a 40°C, pulverizado em moinho de facas com granulometria de 10 mesh. O pó do material vegetal (200g) foi extraído com 1000 mL de etanol/água destilada, nas seguintes proporções 10:90, 20:80, 30:70, 50:50, 70:30 (v/v), por 5 dias com agitação ocasional, sendo os extratos hidroalcoólicos produzidos denominados respectivamente extratos HE01, HE02, HE03, HE04 e HE05. Com esses extratos foi realizado um *screening* microbiológico com *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), o qual mostrou que os extratos HE01 (10:90) de *Ximenia americana* (AMCA) foi o que apresentou melhor resultado (Tabela 1). Assim, esse extratos foram submetidos à secagem por nebulização em um aparelho *Spray Dryer*, marca Labplant®, com 20% de dióxido de silício coloidal (Aerosil 200®).

[016] Tabela 1. Distribuição das médias dos halos de inibição (mm) dos extratos hidroalcoólicos obtido de *X. americana L.* frente a cepa de *Enterococcus faecalis*;

Extratos hidroalcoólicos	<i>X. americana L.</i>
Extrato 01	15,15
Extrato 02	12,27
Extrato 03	13,66
Extrato 04	12,65
Extrato 05	12,07
Cefalotina/Clorexidina	14,51

[017] A partir da obtenção deste extrato, que pode ser chamado de seco ou nebulizado, foi realizado o estudo de pré-formulação, utilizando o sistema de mistura binária (extrato:excipiente). Os excipientes farmacêuticos utilizados foram: óxido de zinco, cânfora, hidróxido de cálcio, bicarbonato de sódio, polietilenoglicol 400, eugenol, glicerina, miristato de isopropila e talco. As misturas binárias foram produzidas na proporção de 1:1, 1:2, e 2:1 (extrato:excipiente) (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5). E foram analisadas por análise térmica, que são técnicas que possibilitam estudar os parâmetros térmicos obtidos, com a finalidade de determinar, possíveis interações físico-químicas entre o extrato seco nebulizado e os excipientes utilizados na formulação da pasta. Bem como verificar a estabilidade térmica dos extratos. Os equipamentos utilizados neste estudo foram à calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG).

[018] Os extratos apresentaram compatibilidade com bicarbonato de sódio, hidróxido de cálcio, óxido de zinco e talco, tendo em vista que as etapas finais de degradação das misturas ocorreram em temperatura superior à degradação da amostra, da mesma forma que os resultados observados nas curvas DSC analisadas para estas misturas. Assim, a provável formulação de pasta intracanal proposta nesta pesquisa é uma formulação, contendo os seguintes excipientes: extrato de AMCA, bicarbonato de sódio, eugenol e miristato de isopropila. A formulação pretendida em 100 gramas contém: Extrato de *Ximena americana L.* - 50,0 mg (50%); Bicarbonato de sódio - 25,0 mg (25%); Eugenol - 12,5 mg (12,5%); Miritato de isopropila - 12,5 mg (12,5%).

Exemplo 01: Estudo de potência microbiológica

[019] A determinação da quantidade de extrato nebulizado adicionado na formulação, através do estudo de potência microbiológica que avaliou o efeito inibitório sobre o crescimento do microrganismo sensível (*Enterococcus faecalis*), em condições adequadas. Através da comparação entre o efeito causado por uma substância padrão de referência (cefalotina antibiótico) e pelo extrato de *Ximenia*.

[020] A tabela 2 apresenta os halos de inibição obtido no estudo de potência do extrato nebulizado e da pasta formulada de *X. americana*. Para esta planta, a equação da reta mostrou que a dose indicada foi de 210,00 mg para o extrato nebulizado (Figura 5) e de 266,10 mg para a pasta formulada frente a *E. faecalis*. O cálculo da resposta da menor dose foi de 12,61 para o extrato nebulizado e de 12,16 para a pasta a base de *X. americana*. Enquanto, a resposta de maior dose foi de 15,69 para o extrato nebulizado e de 16,08 para a pasta, o que corresponde a uma dose eficaz de 595,00 e 658,10 mg, respectivamente.

[021] Tabela 2. Halos de inibição obtido no estudo de potência do extrato nebulizado e da pasta formulada de *X. americana*.

Dose (mg)	Halos de Inibição dos Extratos (mm)	Halos de Inibição da Pasta (mm)	Cefalotina (mm)
500	15,09	14,73	18,34
300	13,55	12,98	18,12
200	12,63	11,65	17,78
100	11,71	10,51	17,35
50	0,00	0,00	17,00

Legenda: y representa o valor encontrado para o halo de inibição, e o x para a dose.

Exemplo 02: Eficácia da pasta intracanal

[022] Para testar a eficácia da pasta sobre a dentina infectada, utilizou-se a metodologia adaptada de Rezende et al. (2011) e Haapasalo e Orstavik (1987). Foram utilizados 72 humanos dentes permanentes, os quais tiveram suas coroas removidas na junção cimento-esmalte e produzidos blocos de 5 mm de comprimento.

[023] Os blocos foram contaminados com 10 µL do inoculo microbiano, contendo *Enterococcus faecalis*, sendo repetida a inoculação a cada 72 horas por 60 dias, totalizando 20 inoculações. Os blocos foram mantidos em estufas de cultura bacteriológica a $37 \pm 0,5$ °C.

[024] Após dez inoculações, seis blocos foram retirados aleatoriamente, com a finalidade de se analisar e comprovar o crescimento de *E. faecalis*. Destes, dois foram analisados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), dois foram analisados por Microscopia Óptica (MO), os outros dois restantes foram lavados com 10 mL de solução salina estéril e imersos em tubos de ensaio com caldo BHI, homogeneizados e incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. O crescimento microbiano foi visualizado pela turbidez do meio de cultura. Para comprovar o crescimento foi retirada uma alíquota do meio turvo e semeado em placa de petri, contendo meio de crescimento adequado para *E. faecalis*. O ensaio foi realizado em quintuplicata e também foi repetido após a vigésima inoculação.

[025] Os blocos dentários foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme a figura 8. Após 60 dias de inoculações sucessivas, os blocos foram irrigados com 5 mL de solução salina, secos com gazes e cones de papel absorventes esterilizados. Em seguida foram aplicadas as pastas intracanal, nos blocos correspondentes a cada grupo, os quais foram incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após o período de oito dias foi retirada a medicação de sete blocos dentários, a fim de se comprovar a inibição do *E. faecalis* inoculado nos túbulos dentinários pelas pastas testadas. Para isso foram realizados os mesmos testes descritos acima. Sendo o mesmo procedimento repetido após completar os 28 dias de aplicação das pastas.

[026] A Microscopia Óptica realizado após 10 dias de contaminação dos túbulos dentinários mostrou a presença de colônias de *E. faecalis*, na superfície da dentina, sendo que o maior número de colônias foi observado após 20 dias de inoculação. Já, as análises realizadas após a aplicação das pastas intracanal evidenciaram a contaminação e a presença de colônias em todos os grupos após a sua retirada, com 8 dias de tratamento. A pasta comercial Calen[®] apresentou visivelmente uma maior quantidade de colônias em comparação com as outras pastas. Enquanto que, as pastas formuladas com *X. americana* e a CTZ apresentaram uma menor quantidade de *E. faecalis*, principalmente no tempo de aplicação de 28 dias.

[027] Para confirmação da ausência ou presença de *E. Faecalis*, após serem removidas as pastas, os dentes foram lavados com solução salina estéril e imersos em tubos de ensaio contendo caldo BHI estéril, com a finalidade de se visualizar a turbidez do meio utilizado. Em 8 dias de testes apenas a pasta CTZ obteve resultado satisfatório. Entretanto, no segundo teste realizado com 28 dias, a pasta formulada com *X. americana* apresentou ótimos resultados. Após a observação da turbidez dos meios foram realizados os testes de identificação presuntiva do *E. faecalis*, nas pastas estudadas.

Esses testes foram realizado pelo método da Bile Esculina e do caldo BHI, contendo 6,5 % de NaCl. Os resultados mostraram e confirmaram que houve a presença de *E. faecalis* apenas nos dentes contendo a pasta Calen[®], usada como controle. Não sendo observado e nem confirmado a presença desta bactéria nos dentes contendo a pasta formulada com *X. americana* L.

[028] Tabela 3. Divisão dos grupos experimentais, quanto à pasta utilizada, o número de amostras e a duração do tratamento.

Grupos Experimentais	Pasta utilizada	Número de Blocos	Duração do tratamento (dias)
Grupo A	Pasta experimental à base de <i>Ximenia americana</i> L.	7	8
		7	28
Grupo B	Pasta Calen [®] (S. S. White [®] , Wilmington, EUA);	7	8
		7	28
Grupo C	Pasta CTZ (Cloranfenicol, Tetraciclina, Óxido de Zinco e Eugenol)	7	8
		7	28

Descrição das Figuras

[029] **Figura 1.** Curvas DSC da BRCA, excipientes farmacêuticos e misturas binárias produzidas;

[030] **Figura 2.** Curvas TG da BRCA, excipientes farmacêuticos e misturas binárias produzidas;

[031] **Figura 3.** Curvas DSC da AMCA, excipientes farmacêuticos e misturas binárias produzidas;

[032] **Figura 4.** Curvas DSC da AMCA, excipientes farmacêuticos e misturas binárias produzidas;

[033] **Figura 5.** Curva de calibração das amostras de *X. americana*: A – extrato nebulizado; A1 – pasta intracanal formulada com a mesma planta;

REIVINDICAÇÕES

1. “PASTA INTRACANAL A BASE DE EXTRATO VEGETAL PARA USO NA ENDODONTIA” caracterizado por compreender em sua formulação extrato nebulizado de *Ximena americana* L. 50,0 mg (50%); Bicarbonato de sódio 25,0 mg (25%); Eugenol 12,5 mg (12,5%); Miristato de isopropila 12,5 mg (12,5%), com ação antimicrobiana para uso na endodontia humana e/ou animal;
2. “PASTA INTRACANAL A BASE DE EXTRATO VEGETAL PARA USO NA ENDODONTIA”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por conter extrato nebulizado de *Ximena americana* podendo está associado aos seguintes excipientes: óxido de zinco, cânfora, hidróxido de cálcio, polietilenoglicol 400, glicerina e talco com as seguintes proporções 1:1, 1:2 e 2:1 (extrato:excipientes), com ação antimicrobiana para uso na endodontia humana e/ou animal;
3. “PASTA INTRACANAL A BASE DE EXTRATO VEGETAL PARA USO NA ENDODONTIA”, de acordo com as reivindicações 1 a 2, caracterizada por ter na sua formulação extrato nebulizado de *Ximena americana* nas proporções 30:70 (água:álcool), bicarbonato de sódio, eugenol e miristato de isopropila nas proporções 1:1, 1:2 e 2:1 (extrato:excipientes) com ação antimicrobiana para uso na endodontia humana e/ou animal.

FIGURAS

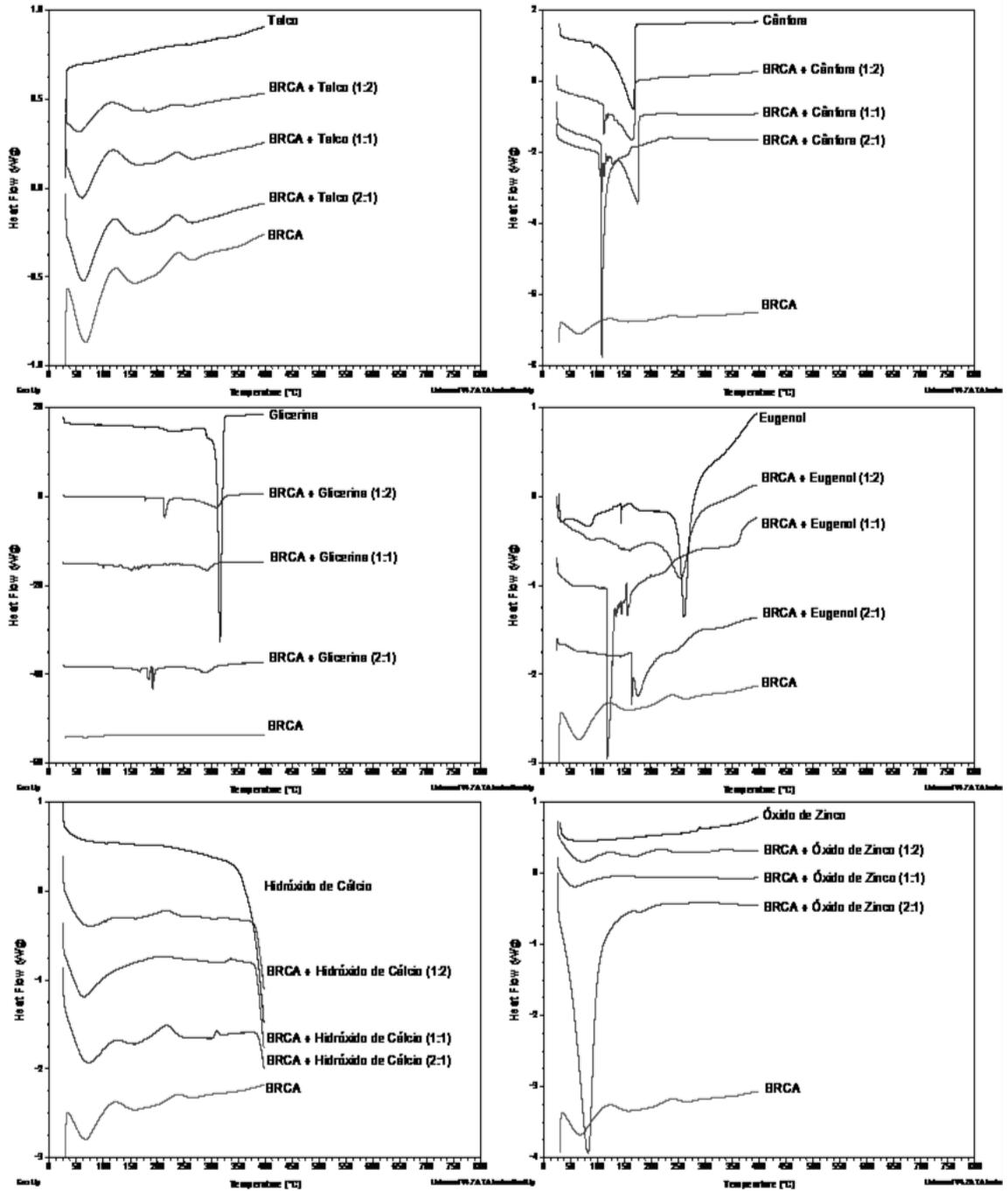


Figura 1

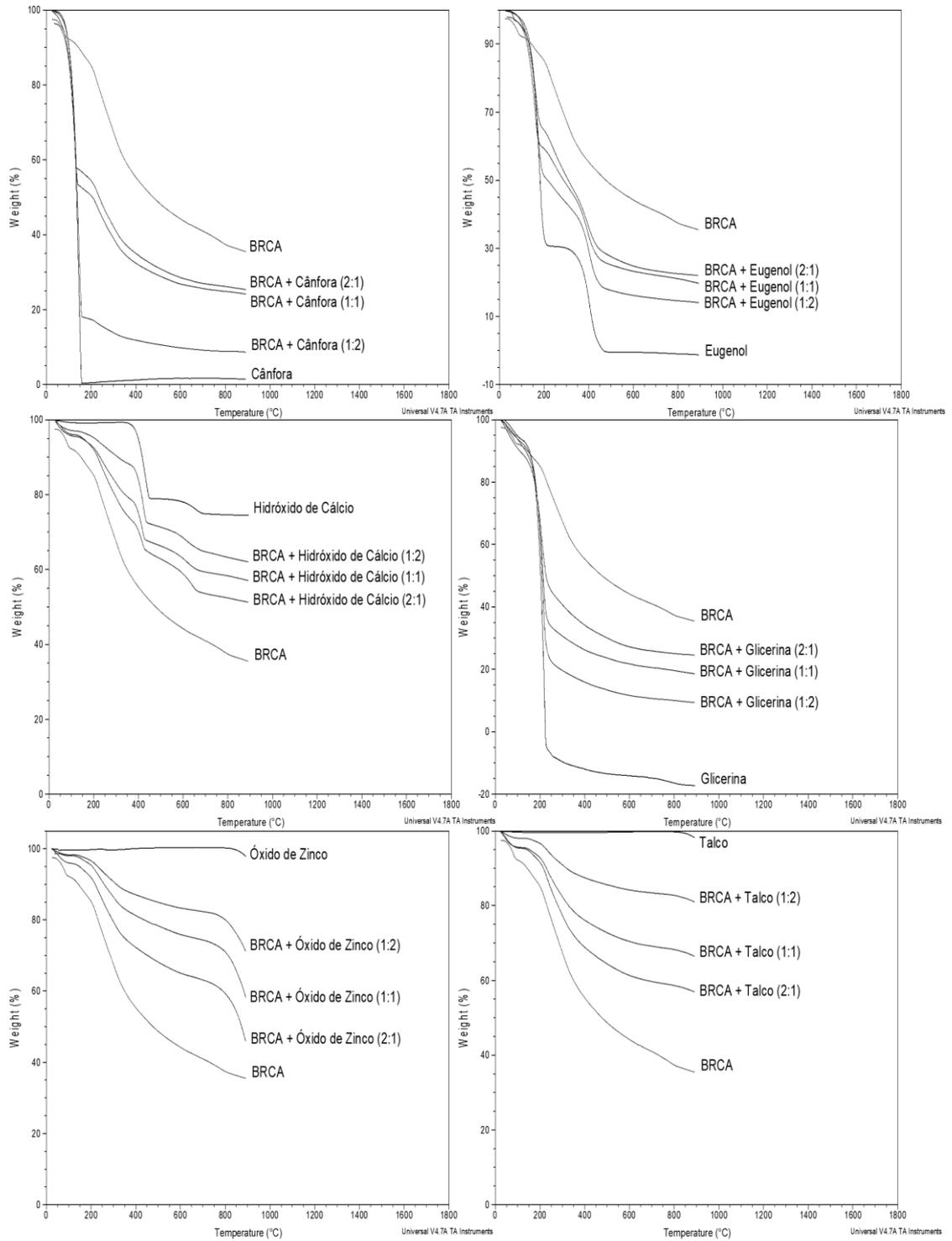


Figura 2

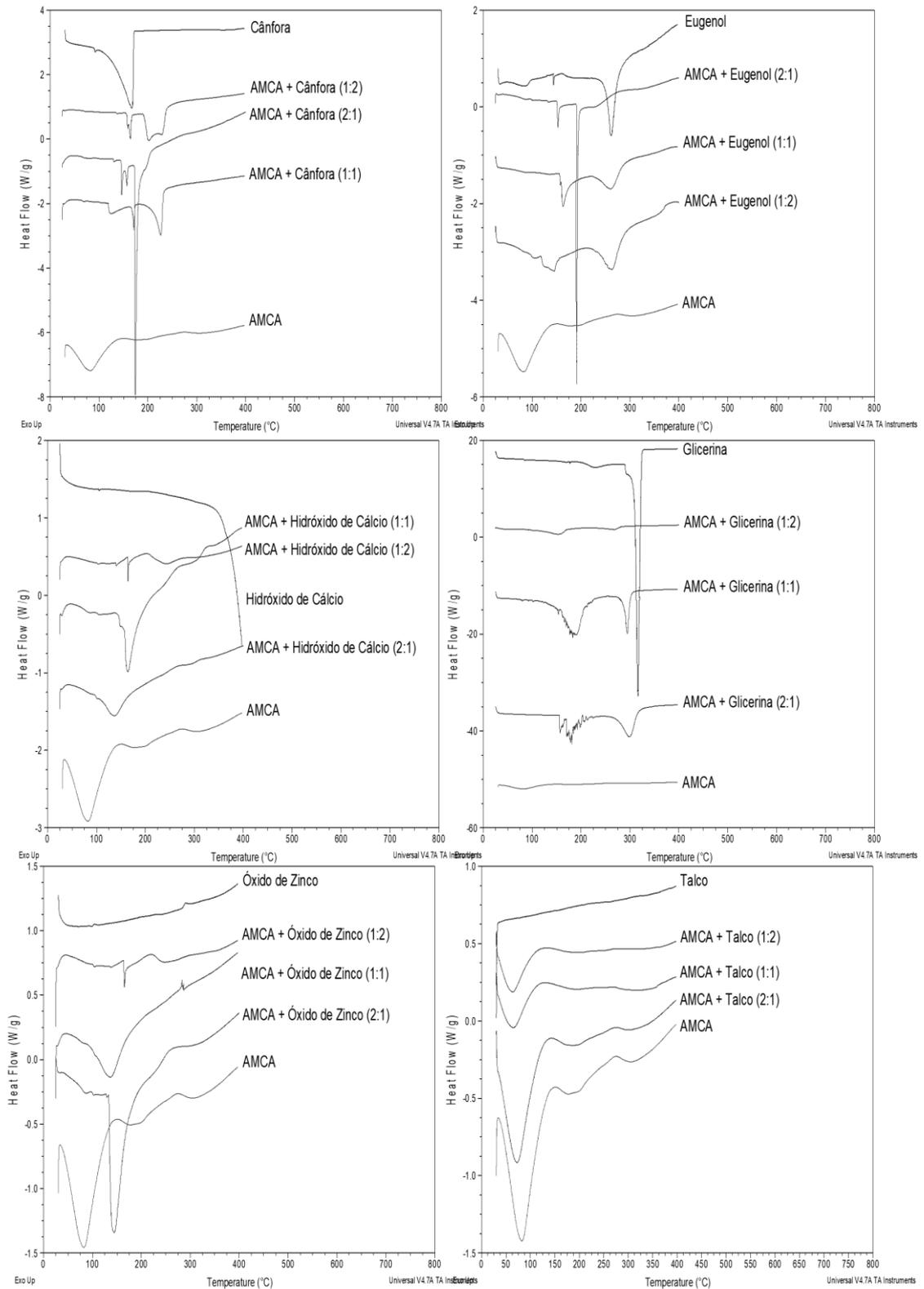


Figura 3

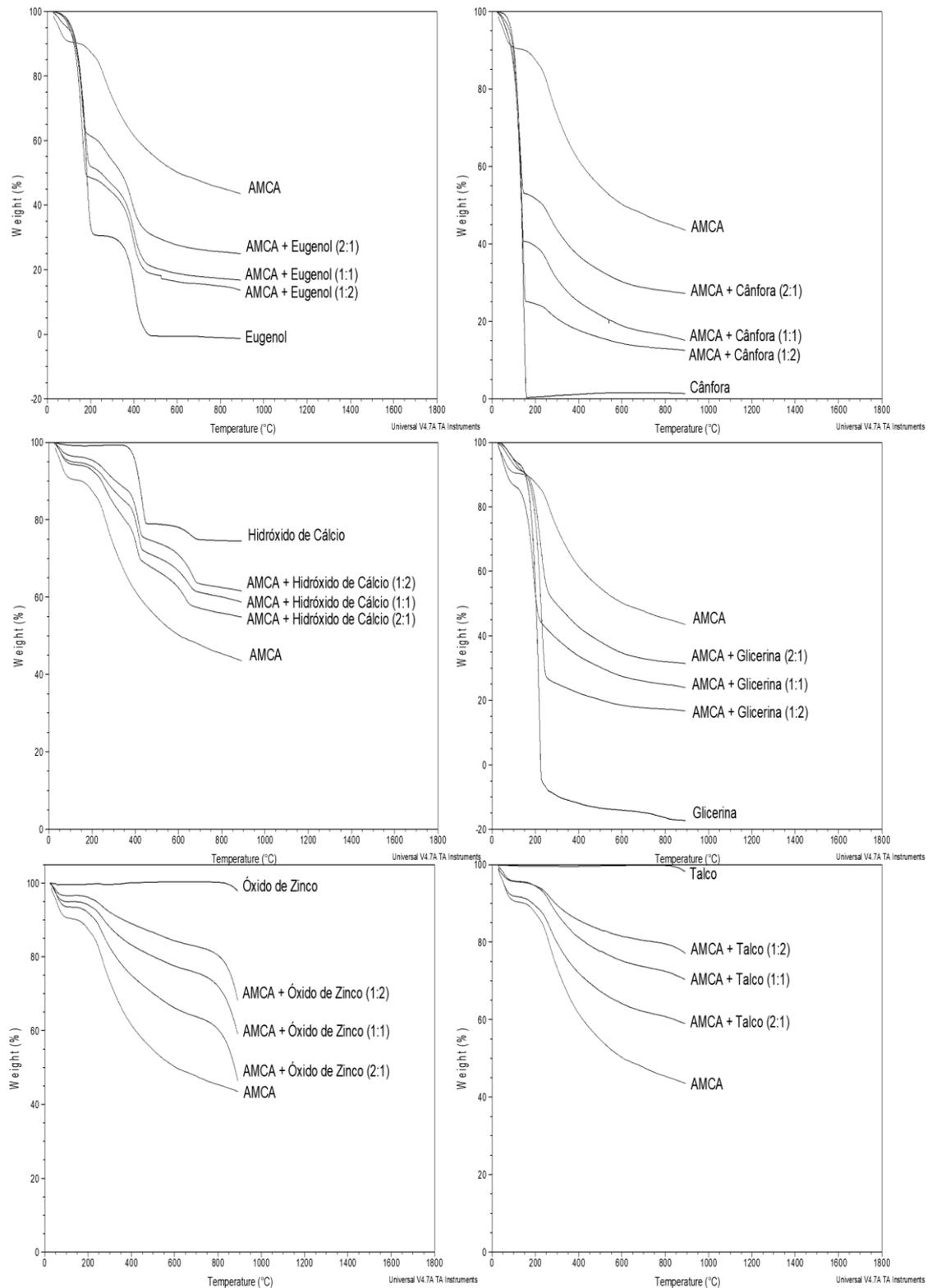


Figura 4

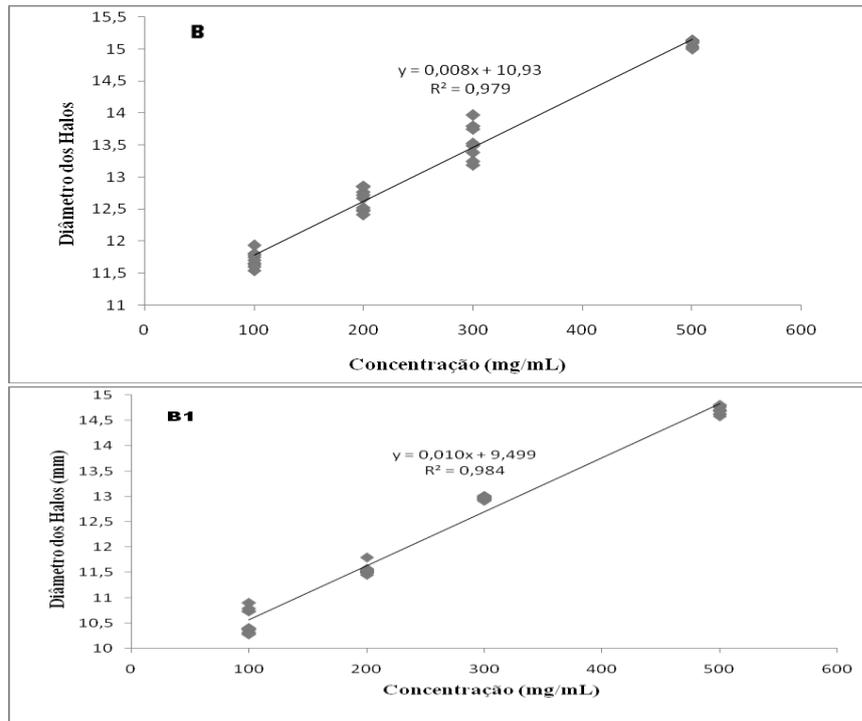


Figura 5