

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Dissertação

Síntese e avaliação do pentaeritritol tetrassalicilato como um novo derivado de salicilato para cimentos endodônticos a base de cálcio

Manuela Gonçalves de Souza e Silva

Pelotas, 2012

MANUELA GONÇALVES DE SOUZA E SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PENTAERITRITOL
TETRASSALICILATO COMO UM NOVO DERIVADO DE
SALICILATO PARA CIMENTOS ENDODÔNTICOS A BASE
DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de concentração Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Henrique Zanchi

Co-orientador: Prof. Dr. Fabrício Aulo Ogliari

Pelotas, 2012

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares (externo)

Prof^a. Dr^a. Fernanda Geraldés Pappen

Prof. Dr. Cesar Henrique Zanchi (orientador)

Prof. Dr. Rafael Guerra Lund (suplente)

Agradecimentos

Muito obrigada a todos que contribuíram para a realização deste trabalho! Em especial ao **PPGO UFPel** pela oportunidade de ter feito parte do seu corpo discente; aos meus orientadores **Cesar Henrique Zanchi** e **Fabício Ogliari** pela parceria e pelo conhecimento dividido; e à **equipe CDC-bio** pelo trabalho e convívio diário.

Agradeço também àqueles que participaram de forma indireta, mas não menos importante, minha **família** e meus **amigos**, sem vocês nada seria possível!

Resumo

SOUZA E SILVA, Manuela Gonçalves. **Síntese e avaliação do pentaeritritol tetrassalicilato como um novo derivado de salicilato para cimentos endodônticos a base de cálcio.** 2012. 38f. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

O objetivo deste estudo foi sintetizar um novo composto derivado de salicilato empregando-o no desenvolvimento de cimentos endodônticos experimentais a base de cálcio. Dois derivados de salicilato foram sintetizados através da reação de trans esterificação do salicilato de metila com diferentes alcoóis (1,3-butilenoglicol e pentaeritritol) na proporção molar de 1:3 e 1:6, respectivamente. Os produtos, butilenoglicol dissalicilato (BD) e pentaeritritol tetrassalicilato (PT) foram caracterizados por FTIR e RMN. Cimentos experimentais a base de cálcio foram formulados com diferentes concentrações de BD e PT (40/0, 35/5, 30/10 e 20/20). Os cimentos foram avaliados quanto ao tempo de presa, à solubilidade (24 horas, 7,14 e 28 dias), resistência à tração diametral e ao módulo de elasticidade. Os dados foram analisados através de ANOVA uma via, ANOVA duas vias e Teste de Tukey. A adição de PT reduziu o tempo de presa dos materiais testados. Após 24 horas os cimentos 40/0 e 35/5 apresentavam maior solubilidade que os demais; após 14 e 28 dias o cimento 20/20 foi o que apresentou menor solubilidade e após 7 dias o grupo PB 20/20 estabilizou a sua solubilidade, enquanto os demais continuaram progressivamente a liberação de seus componentes. O cimento 40/0 apresentou os maiores valores e o cimento 20/20 apresentou os menores valores de resistência à tração diametral e módulo de elasticidade. A adição de PT a cimentos à base de cálcio possibilita benefícios às propriedades testadas.

Palavras-chave: Materiais dentários. Endodontia. Cimentos. Mineral Trióxido Agregado.

Abstract

SOUZA E SILVA, Manuela Gonçalves. **Síntese e avaliação do pentaeritritol tetrassalicilato como um novo derivado de salicilato para cimentos endodônticos a base de cálcio.** 2012. 38f. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

The aim of this study was synthesize a new salicylate derivative and evaluated it in composition to experimental calcium-based root canal sealers. Two salicylate derivatives were synthesize by the transesterification of a methyl salicylate with two different alcohols (1,3-butylenoglicol and pentaerythritol) in molar ratio 1:3 and 1:6, respectively. The products, butileneglyvol disalicylate (BD) and pentaerythritol tetrasalicylate (PT), were characterized by FTIR and RMN. Calcium-based experimental sealers were formulated with different concentrations of BD and PT (40/0, 35/5, 30/10 and 20/20). The experimental sealers were evaluated for setting time, solubility (24 hours, 7, 14 and 30 days), diametral tensile strength and Young's Modulus. Data were analyzed by One-way ANOVA, Two-way ANOVA and Tukey's test. The addition of PT reduced the materials setting times. After 24 hours the sealer 40/0 and 35/5 had higher solubility, after 14 and 28 days the sealer 20/20 showed the lowest solubility. After 7 days de sealer 20/20 stabilized its solubility. The sealer 40/0 presented the highest values and the 20/20 present de lowest values of diametral tensile strength and Young's modulus. The addition of PT to calcium-based endodontic sealers provides benefits to the properties tested.

Key words: Dental materials. Endodontics. Sealers. Mineral Trioxide Aggregate.

Sumário

1	PROJETO DE PESQUISA	
1.1	Introdução	7
1.2	Objetivos	9
1.3	Metodologia	10
1.4	Referências	14
1.5	Orçamento	16
1.6	Cronograma de execução	16
2	ARTIGO	17
3	CONCLUSÕES.....	36
4	REFERÊNCIAS	37

1 PROJETO DE PESQUISA*

Síntese e avaliação do pentaeritritol tetrassalicilato como um novo derivado de salicilato para cimentos endodônticos a base de cálcio

1.1 Introdução

Injúrias pulpare irreversíveis causadas por microorganismos provenientes de lesões cáries profundas são um dos principais fatores que conduzem a necessidade de terapia endodôntica radical. O desejado “sucesso clínico” no tratamento destes casos depende, fundamentalmente, de adequada limpeza, desinfecção e completa obturação do sistema de canais radiculares. Este tratamento pode ser dividido em três etapas básicas que compõe o procedimento clínico: a remoção do tecido pulpar necrótico ou infectado, o preparo biomecânico e a obturação dos canais radiculares. O objetivo desta última etapa é promover o selamento de todo o sistema de canais, incluindo a embocadura dos túbulos dentinários periféricos e canais acessórios, visando propiciar um ambiente favorável ao reparo dos tecidos periapicais e impedir a reinfecção pela passagem de microorganismos e seus subprodutos (EUROPEAN SOCIETY OF ENDODONTOLOGY, 2006). Uma obturação adequada, e desejada, é aquela que preenche tridimensionalmente o canal até o comprimento de trabalho, atuando como uma barreira física e efetiva na prevenção de uma reinfecção. Dessa forma, a qualidade da obturação é fator determinante no prognóstico do tratamento endodôntico (DE MOOR et al., 2000; GUNDUZ et al., 2011; KIRKEVANG et al., 2000). Além da correta técnica operatória, o emprego de materiais obturadores com

* Projeto redigido segundo o Manual de Normas da Universidade Federal de Pelotas

adequadas propriedades físicas, químicas e biológicas são fundamentais a este processo, e devem ser criteriosamente selecionados pelo clínico.

Os materiais obturadores comumente utilizados são os cones de gutta-percha associados aos diversos tipos de cimentos endodônticos disponíveis comercialmente. Um cimento obturador ideal deve ser biocompatível, bacteriostático e apresentar propriedades físico-mecânicas satisfatórias (GROSSMAN, 1982). Basicamente, esta variedade de cimentos endodônticos disponíveis diferem entre si quanto a composição química, podendo ser divididos em quatro grupos principais: cimentos a base óxido de zinco e eugenol, a base de ionômero de vidro, a base de cálcio e os cimentos resinosos.

Atualmente, especial atenção tem sido direcionada aos cimentos a base de cálcio, em razão as suas excelentes propriedades biológicas, pois são biologicamente ativos devido à lixiviação de íons cálcio e hidroxilas que elevam o pH do meio (DUARTE et al., 2003; ELDENIZ et al., 2007; MASSI et al., 2011; TANOMARU-FILHO et al., 2009). Estas características conferem ao material uma notável capacidade de estimular os tecidos periapicais, promovendo o reparo da região afetada através da neo-formação tecidual (BAE et al., 2010). Associado a isto, um efeito antimicrobiano *in locus* é mantido por considerável período, resultante da disponibilidade dos íons cálcio e hidroxilas (SIPERT et al., 2005; SLUTZKY-GOLDBERG et al., 2008; TANOMARU et al., 2008). Entretanto, alguns estudos relatam que os cimentos que são a base de hidróxido de cálcio possuem alto grau de solubilidade e desintegração (SCHAFER et al., 2003), além de pouca ou nenhuma adesão às estruturas dentais (LEE et al., 2002), fatores que podem, a médio-longo prazo, comprometer o tratamento realizado.

Além do hidróxido de cálcio, outras fontes de cálcio podem ser utilizadas na composição desta classe de cimentos, como o fosfato de cálcio e, mais recentemente, agregado de trióxido mineral (MTA). Porém, sabe-se que o MTA tem a vantagem de apresentar baixa solubilidade e não ter sua ação prejudicada pela umidade (POGGIO et al., 2007; SHIE et al., 2009), o que pode conferir ao cimento obturador uma menor deterioração ao longo do tempo sem perder suas desejadas propriedades biológicas. De forma geral, estes cimentos possuem dois componentes ativos básicos em sua composição, uma fonte de cálcio e uma resina de salicilatos. Durante a manipulação estes dois componentes entram em contato, o cálcio reage

com o salicilato formando um polímero iônico, esta reação é responsável pela presa e, conseqüentemente, por conferir características físico-mecânicas ao material.

Além da possibilidade de empregar diferentes fontes de cálcio, diferentes derivados de salicilatos também podem ser utilizados. Diferenças de estrutura molecular, como funcionalidade e conformação de cadeia carbônica, podem resultar em diferentes características físicas do polímero formado, como as características reológicas e propriedades de manipulação. Cimentos endodônticos a base de cálcio disponíveis atualmente utilizam em sua formulação o butilenoglicol dissalicilato. Este derivado de salicilato apresenta funcionalidade 2 e por isso tem a capacidade de formar polímeros lineares ou circulares. Além deste, outros derivados de salicilatos poderiam ser utilizados, como o pentaeritritol tetrassalicilato, que por apresentar funcionalidade 4 pode formar polímeros reticulados. Esta diferença no polímero formado poderia conferir ao cimento melhores características físico-mecânicas.

1.2 Objetivos

Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo é sintetizar um novo composto derivado de salicilato, o pentaeritritol tetrassalicilato, empregando-o no desenvolvimento de cimentos endodônticos experimentais a base de cálcio.

Objetivos específicos

- Sintetizar, através de reação de trans-esterificação do salicilato de metila, dois compostos: o pentaeritritol tetrassalicilato e o butilenoglicol dissalicilato.
- Caracterizar os compostos sintetizados através de Espectroscopia Infravermelha com Transformada de Fourier (FTIR).
- Avaliação *in vitro* da citotoxicidade dos derivados de salicilato sintetizados.
- Empregar o pentaeritritol tetrassalicilato e/ou o butilenoglicol dissalicilato como base no desenvolvimento de cimentos endodônticos experimentais a base de cálcio.

- Avaliar a viscosidade, tempo de presa, tempo de trabalho, solubilidade, pH, liberação de cálcio e resistência a tração diametral dos cimentos endodônticos experimentais.

1.3 Metodologia

Síntese e caracterização dos derivados de salicilato

Dois derivados de salicilato serão sintetizados através da reação de trans esterificação do salicilato de metila com dois diferentes alcoóis, 1,3-butilenoglicol e pentaeritritol, na proporção molar de 1:3 e 1:6, respectivamente. Isopropóxido de titânio será utilizado como catalisador. As reações serão mantidas a 200°C por aproximadamente duas horas. Posteriormente, os produtos serão purificados através de destilação a vácuo para retirar o salicilato de metila em excesso.

Os produtos, identificados como butilenoglicol disalicilato e pentaeritritol tetrasalicilato, serão caracterizados por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), onde será observado o estreitamento do pico referente às hidroxilas na faixa espectral de 3300 cm^{-1} , e por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (NMR).

Avaliação da citotoxicidade dos derivados de salicilato sintetizados

Os fibroblastos de camundongos de uma linhagem imortalizada 3T3/NIH provenientes do Laboratório de Cultivo Celular da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas (NCT-BIO/FOUFPel) serão utilizados para os experimentos. O tubo de criogenia graduado de 4,5ml contendo a linhagem celular 3T3/NIH será levado à temperatura de 37°C através da parcial imersão em Banho-Maria por 5 minutos e a seguir, dentro de capela de fluxo laminar vertical, o conteúdo será adicionado a uma garrafa de cultivo celular de área de superfície 25 cm^2 , com 5 ml de DMEM completo à temperatura de 37°C.

A garrafa de cultivo será colocada em estufa de CO_2 a 5% e 37°C e permanecerá por um período de 3h para promover a adesão celular no fundo da mesma. Após este período, o meio de cultura contendo DMSO (protetor criogênico) será removido da garrafa com pipeta Pauster estéril acoplada à bomba a vácuo. Por fim, novo meio de cultura (DMEM, completo) será adicionado à linhagem celular e

esta permanecerá em atmosfera úmida a 37°C, até obter-se a confluência de aproximadamente 70% da superfície cultivável da garrafa.

Ensaio de viabilidade celular / citotoxicidade

As condições de tratamento incluindo cultura e tempo de exposições serão baseadas nas especificações de International Standards Organization (1997).

Os derivados de salicilato sintetizados serão usados em concentrações de 10 mM, 1 mM, 0,1 mM, 0,01 mM e 0,001 mM, sempre diluídos no mesmo meio usado na cultura celular. Serão feitas diluições fracionadas dos produtos a partir de uma solução padrão de 100 mM, onde será acrescentado 0,5% de dimetil sulfoxido (DMSO).

A suspensão das células será plaqueada em uma concentração de 1×10^4 células por poço e distribuídas em placas de cultivo celular de 96 poços. Cada poço receberá 200µl de DMEM suplementado com 10% SFB e 1% de antibiótico. As placas serão então incubadas a 37°C em ar a 5% de CO₂ por 24 horas (3T3/NIH) para promover a adesão celular ao fundo dos poços.

Passados os tempos detalhados acima, serão retirados com pipeta multicanal os 200µl do meio de cultura de cada poço e adicionados 200µl/poço das diferentes concentrações seriadas (de 10 mM a 0,001 mM) de cada material. As substâncias serão diluídas em DMEM completo e ficarão em contato com as células pelo período de 24 horas. Nos poços controles, serão adicionados 200µl de DMEM com a mesma quantidade de células e seu meio de cultura, trocado após as primeiras 24 horas (3T3/NIH). Poços com DMEM sem a adição dos produtos-teste e sem adição de células serão usados como controles brancos.

Após 24 horas será realizada a remoção dos produtos-teste e adicionados 20µl de MTT (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium brometo) diluídos em 180µl de DMEM em cada poço (5 mg/ml de MTT). As placas serão incubadas em ambiente sem luminosidade por 4 horas à 37°C em atmosfera com 5% de CO₂. Após este período, a solução contendo MTT diluído em DMEM será aspirada e solubilizada com 200µl de DMSO que serão adicionados a cada poço. As placas serão levadas a uma mesa agitadora a uma velocidade de 150 rpm por 10 minutos para a solubilização dos cristais de formazan produzidos pela redução do MTT pela desidrogenase succínica da respiração celular. Subsequentemente, a absorbância será medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de

onda de 540nm. Cada produto e concentração testadas terão quatro réplicas e o experimento será executado pelo menos duas vezes.

Formulação dos cimentos endodônticos experimentais

Os cimentos serão compostos por duas pastas, pasta base e pasta catalisadora, e a manipulação será realizada através da mistura de porções iguais das duas pastas até obtenção de uma massa homogênea. A pasta catalisadora será composta por 60% de MTA, 39% de Resimpol e 1% de Dióxido de Titânio. Serão formuladas 4 pastas bases, diferentes quanto a concentração de butilenoglicol dissalicilato e pentaeritritol tetrasalicilato (Tabela 1).

Tabela 1. Composição das pastas bases experimentais

Pasta Base	Bismuto	Butilenoglicol Dissalicilato	Pentaeritritol Tetrasalicilato
PB ₄₀₋₀	60%	40%	0%
PB ₃₅₋₅	60%	35%	5%
PB ₃₀₋₁₀	60%	30%	10%
PB ₂₀₋₂₀	60%	20%	20%

Avaliação da viscosidade, tempo de trabalho e tempo de presa

Para avaliação da viscosidade será utilizado o viscosímetro RV para alta viscosidade, 6 ml dos cimentos endodônticos experimentais serão manipulados e depositados no recipiente para pequenas quantidades de amostra, o spindle SC4-18 será utilizado e a temperatura será mantida a 20°C. Serão aplicados os testes *speed ramp*, *thix index* e *time to stop*.

Conforme a alteração da viscosidade, durante a aplicação do teste *time to stop*, o tempo de trabalho e o tempo de presa dos materiais serão determinados.

Avaliação da solubilidade

A metodologia para avaliação da solubilidade será feita de acordo com a International Standards Organization 6876:2001 (E).

Matrizes cilíndricas com 20 mm de diâmetro e altura de 1,5 mm serão utilizadas para o preparo dos espécimes, 12 espécimes por grupo serão preparados.

As matrizes serão colocadas sobre uma placa de vidro plana, serão preenchidas com 2g do cimento obturador manipulado juntamente com 0,02ml de água e conjunto será levado à estufa a 37°C e umidade relativa de 95% por 24 horas.

Após 24 horas o material será removido das matrizes e pequenas irregularidades na superfície serão eliminadas. Os espécimes serão pesados em balança de precisão para determinação da massa inicial, posteriormente serão imersos em um frasco contendo 50 ml água destilada suspensos por fio de nylon para que não haja o contato entre as superfícies do cimento e as superfícies do frasco, e serão mantidos em estufa a 37°C por 7, 14 e 28 dias.

Após estes períodos os espécimes serão removidos do frasco, secos com papel absorvente, colocados em um desumidificador por 24 horas e novamente pesados em balança de precisão para determinação da massa final. Os valores de solubilidade serão determinados pela diferença entre a massa inicial e a massa final.

Determinação do pH e análise da liberação de cálcio

Os cimentos serão manipulados e com auxílio de seringas serão colocados em tubos de PVC de 1cm de altura e 1,5mm de diâmetro, com as extremidades abertas, 5 amostras por grupo serão confeccionadas. Cada tubo será colocado em um recipiente contendo 10 ml de água destilada com o pH previamente mensurado, o recipiente será hermeticamente fechado e colocado em estufa a 37°C. As soluções de água destilada serão analisadas após 24 horas, 7, 14 e 28 dias, em cada intervalo de tempo os tubos serão devolvidos aos frascos contendo nova solução de água destilada.

A determinação do pH será realizada através de pHmetro digital previamente calibrado utilizando soluções com valores de pH de 4,7 e 10. A liberação de cálcio será medida através de espectrofotômetro de absorção atômica equipado com uma lâmpada de cátodo oco específica para íons cálcio (comprimento de onda 422,7 nm e comprimento de fenda de 0,7 nm operando a 20 mA) e soluções contendo concentrações de cálcio de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, e 25 ppm serão utilizadas para criar uma curva padrão de cálcio com a qual os resultados serão comparados.

Avaliação da resistência à tração diametral

Matrizes cilíndricas com 4 mm de diâmetro e altura de 2 mm serão utilizadas para o preparo dos espécimes, 12 espécimes por grupo serão confeccionados. Os cimentos serão manipulados, com auxílio de seringas serão colocados nas matrizes e mantidos em estufa a 37°C e umidade relativa de 95% por 24 horas.

Após 24 horas o material será removido das matrizes, pequenas irregularidades na superfície serão eliminadas e os espécimes serão submetidos a teste de resistência a tração diametral em máquina de ensaios universais (EMIC).

Análise estatística

Os resultados obtidos serão submetidos ao programa estatístico SigmaStat® (Versão 3.5 for Windows®, Systat Software Incorporation, San Jose - CA, EUA) o método estatístico será escolhido com base na aderência ao modelo de distribuição normal e igualdade de variância, e quando necessário, analisados de m descritivo, por meio de gráficos e imagens.

1.4 Referências Bibliográficas

Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. **International Endodontic Journal**, v.39, n.12, p.921-930, 2006.

BAE, W. J., CHANG, S. W., LEE, S. I., KUM, K. Y., BAE, K. S., KIM, E. C. Human periodontal ligament cell response to a newly developed calcium phosphate-based root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v.36, n.10, p.1658-1663, 2010.

DE MOOR, R. J., HOMMEZ, G. M., DE BOEVER, J. G., DELME, K. I., MARTENS, G. E. Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population. **International Endodontic Journal**, v.33, n.2, p.113-120, 2000.

DUARTE, M. A., DEMARCHI, A. C., YAMASHITA, J. C., KUGA, M. C., FRAGA SDE, C. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, v.95, n.3, p.345-347, 2003.

ELDENIZ, A. U., ERDEMIR, A., KURTOGLU, F., ESENER, T. Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, v.103, n.3, p.e86-91, 2007.

GROSSMAN L. Obturation of root canal. In: Endodontic Practice 10th ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger; 1982.

GUNDUZ, K., AVSEVER, H., ORHAN, K., DEMIRKAYA, K. Cross-sectional evaluation of the periapical status as related to quality of root canal fillings and coronal restorations in a rural adult male population of Turkey. **BMC Oral Health**, v.11, p.20, 2011.

KIRKEVANG, L. L., ORSTAVIK, D., HORSTED-BINDSLEV, P., WENZEL, A. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in a Danish population. **International Endodontic Journal**, v.33, n.6, p.509-515, 2000.

LEE, K. W., WILLIAMS, M. C., CAMPS, J. J., PASHLEY, D. H. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. **Journal of Endodontics**, v.28, n.10, p.684-688, 2002.

MASSI, S., TANOMARU-FILHO, M., SILVA, G. F., DUARTE, M. A., GRIZZO, L. T., RABELO BUZALAF, M. A., GUERREIRO-TANOMARU, J. M. pH, Calcium Ion Release, and Setting Time of an Experimental Mineral Trioxide Aggregate-based Root Canal Sealer. **Journal of Endodontics**, v.37, n.6, p.844-846, 2011.

POGGIO, C., LOMBARDINI, M., ALESSANDRO, C., SIMONETTA, R. Solubility of root-end-filling materials: a comparative study. **Journal of Endodontics**, v.33, n.9, p.1094-1097, 2007.

SCHAFER, E., ZANDBIGLARI, T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. **International Endodontic Journal**, v.36, n.10, p.660-669, 2003.

SHIE, M. Y., HUANG, T. H., KAO, C. T., HUANG, C. H., DING, S. J. The effect of a physiologic solution pH on properties of white mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.35, n.1, p.98-101, 2009.

SIPERT, C. R., HUSSNE, R. P., NISHIYAMA, C. K., TORRES, S. A. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **International Endodontic Journal**, v.38, n.8, p.539-543, 2005.

SLUTZKY-GOLDBERG, I., SLUTZKY, H., SOLOMONOV, M., MOSHONOV, J., WEISS, E. I., MATALON, S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. **Journal of Endodontics**, v.34, n.6, p.735-738, 2008.

TANOMARU-FILHO, M., CHAVES FALEIROS, F. B., SAKAKI, J. N., HUNGARO DUARTE, M. A., GUERREIRO-TANOMARU, J. M. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.35, n.10, p.1418-1421, 2009.

TANOMARU, J. M., TANOMARU-FILHO, M., HOTTA, J., WATANABE, E., ITO, I. Y. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. **Acta Odontológica Latinoamericana**, v.21, n.2, p.147-151, 2008.

2 ARTIGO*

* Formato para publicação no Periódico *Journal of Endodontic*

Title: Pentaerythritol tetrasalicylate as a new salicylate derivative for calcium based root canal sealer

Authors: Manuela Gonçalves de Souza e Silva^a, Evandro Piva^a, Fabrício Aulo Ogliari^b, Cesar Henrique Zanchi^a

^a Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

^b Department of Polymeric Materials, School of Materials Engineering, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

Corresponding author:

Name: Cesar Henrique Zanchi

Complete address: Rua Gonçalves Chaves, 457 (Postal: 96015-560)

Phone: +55 53 3222 6690; fax: +55 53 3222 6690

E-mail: chzanchi@gmail.com

Abstract

Introduction: The aim of this study was to synthesize a new salicylate derivative and evaluate its influence in some properties of experimental calcium-based root canal sealers.

Materials and Methods: Two salicylate derivatives were synthesized by the transesterification of methyl salicylate with two different alcohols (1,3-butylenoglicol and pentaerythritol) in molar ratio 1:3 and 1:6, respectively. The products, butileneglyvol disalicylate (BD) and pentaerythritol tetrasalicylate (PT), were characterized by FTIR and RMN. Calcium-based experimental sealers were formulated with different concentrations of BD and PT (40/0, 35/5, 30/10 and 20/20). The experimental sealers were evaluated for setting time, solubility (24 hours, 7, 14 and 30 days), diametral tensile strength and Young's Modulus. Data were analyzed by One-way ANOVA, Two-way ANOVA and Tukey's test.

Results: The addition of PT reduced the materials setting time. After 24 hours the sealer 40/0 and 35/5 had higher solubility, after 14 and 28 days the sealer 20/20 showed the lowest solubility. After 7 days the sealer 20/20 stabilized its solubility. The sealer 40/0 presented the highest values and the 20/20 presented the lowest values of diametral tensile strength and Young's modulus.

Conclusions: The addition of PT to calcium-based endodontic sealers provides benefits to the tested properties.

Key words: Dental materials, endodontics sealers, mineral trioxide aggregate

1 Introduction

The clinical effectiveness of endodontic treatment depends primarily on the perfect sealing of the root canal system after cleaning and shaping, once the sealing is critical to prevent oral pathogens from colonizing and re-infecting the root and periapical tissues (1-3). Actually, different techniques can be used for endodontic filling, and most techniques use gutta-percha points associated with endodontic sealers. In addition, many types of root sealers are available in the market with different physicochemical and biological properties. Generally, such materials are classified into four groups according to their chemical compositions: zinc oxide-eugenol, glass ionomer, resin and calcium based sealers.

Recently, special attention was directed to calcium hydroxide-based sealers and its action mechanism which promotes periapical tissue repair. Due to their biological properties, this kind of root sealer is capable to release calcium ions and hydroxyls that increase the pH (4-7) and induces the repair of the affected area through the neo-tissue formation (8). Even though calcium-based sealers present excellent biological properties, several studies have reported their high solubility (9) and take less or no adhesion to dental tissues (10), factors that determine the outcome of root canal treatment. In attempt to overcome these drawbacks, low solubility calcium alternative sources, such as mineral trioxide aggregate (MTA), have been tested as components of new endodontic sealers (6, 11, 12). The advantage of replacing the calcium hydroxide by MTA is the possibility to control or, at least to, reduce the excessive solubility of current sealers without lose the desirable biological properties (13, 14).

Besides the possibility to change the calcium source, modifications in the salicylate resin can be made. The chemical structure of salicylate derivatives used in

the composition of endodontic sealers has direct influence on the properties of the polymer formed during and after the cure. Although the butylenoglycol disalicylate is the salicylate derivative traditionally employed in the commercial calcium-based root canal sealers, others salicylate derivatives presenting higher functionality should be tested and employed in attempt to produce more stable and less hydrophilic polymers.

Thus, the aim of this study was to synthesize a new salicylate derivative, identified as pentaerythritol tetrasalicylate, and to evaluate the properties of calcium based sealers with this salicylate derivative on its composition.

2 Materials and methods

Synthesis of salicylate derivatives

Two salicylate derivatives were synthesized by the transesterification of methyl salicylate with two different alcohols, 1,3-butylenoglycol and pentaerythritol, in a molar ratio of 1:3 and 1:6, respectively. The reaction was catalyzed with titanium isopropoxide and it was maintained at 200°C for approximately 2 hours. The products were purified by vacuum distillation and characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Two products were obtained: butyleneglycol disalicylate (Fig. 1) and pentaerythritol Tetrasalicylate (Fig. 2).

Experimental endodontic sealers formulation

Four experimental sealers were formulated, containing two pastes: the base paste and the catalyst paste. The catalyst paste was the same for all the sealers, comprised of 60% of MTA, 39% of n-ethyl-o-toluenesulfonamide and 1% titanium dioxide. Four base pastes were formulated, presenting different concentrations of butyleneglycol disalicylate and pentaerythritol tetrasalicylate (Table 1).

The manipulation of all sealers was performed by mixing equal portions of the two pastes, until obtaining a homogeneous mass. For every gram of manipulated material 10µl of distilled water was added to the mixture, according to the International Standards Organization 6876:2001 recommendations for root sealers that do require moisture for setting (15).

Setting Time

Six specimens presenting an internal diameter of 10 mm and a thickness of 2 mm were prepared for each experimental sealer. A Gilmore-type needle with standard weight of $(100 \pm 0.5 \text{ g})$ having a flat end of $2.0 \pm 0.1 \text{ mm}$ in diameter was used to determine the initial setting time. Another Gilmore-type needle, $456 \pm 0.5 \text{ g}$ weight having a flat end of $1 \pm 0.1 \text{ mm}$ in diameter was used to determine the final setting time. The needles were carefully lowered vertically onto the horizontal surface of each sample, the needle tip was cleaned and the probing was repeated until indentations ceased to be visible. The methodology was performed according to Bortoluzzi et al (16), with evaluations being undertaken every 3 minutes during the first half hour, every 5 minutes for the next 90 minutes, and every 15 minutes thereafter until the setting time was approached (initial setting). The analysis continued every 15 minutes until the establishment of the final setting.

Solubility

Cylindrical molds with 6.32 mm internal diameter and 1.5mm thickness were used to prepare the specimens. The size of the specimens and the amount of water in which they were stored was determined in accordance with Carvalho-Junior et al (17). The mold was positioned over a glass slide and a mylar strip. Then, it was filled with the experimental sealer and metal threads were placed inside the material. Another mylar strip was positioned and pressed against it with a glass slide for excess removal. The assembly was placed in an incubator (37°C, 95% relative humidity) for 24 hours. Immediately after being removed from the mold, the specimens were weighed three times each with an accuracy of 0.0001g to determine the initial mass. The specimens were suspended by the metal thread and placed inside a plastic container containing 10 mL of distilled water, avoiding contact between them and the internal surface of the container. The sealed containers were stored for 24 hours, 7, 14 and 28 days at 37°C. After these periods, the specimens were removed from the containers, rinsed with distilled water, blotted dry with absorbent paper, placed in a desiccator for 24 hours, and then reweighed three times each to determine the final mass. Within each time period, 12 specimens per group were evaluated. The weight loss of each specimen, calculated by the difference between the final mass and the initial mass, expressed as the percentage of the original mass, was taken as the solubility of the sealer.

Diametral Tensile Strength and Young's Modulus

Ten cylindrical specimens were made of each experimental sealer, using a mold with 4.0 mm internal diameter and 2.0 mm thickness. The mold was positioned

over a glass slide and a mylar strip. Then, it was filled with the experimental sealer. Another mylar strip was positioned and pressed against it with a glass slide for excess removal. The assembly was placed in an incubator (37°C, 95% relative humidity) for 24 hours. After this period the material were removed to the mold and the specimens were subjected to a compressive load (10 KN) in a universal testing machine (DL-500, Emic, São José dos Pinhais, Brazil) at a crosshead speed of 0.5 mm/min until fracture.

Statistical analysis

Data for setting time, diametral tensile strength and Young's modulus were analyzed using One-Way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). Data for solubility were analysed using Two-Way ANOVA (sealer ant storage time factors) and Tukey's test ($p < 0.05$).

3 Results

The salicylate derivatives syntheses were confirmed by FTIR (Fig. 3 and 4) and NMR (Fig. 5 and 6). At room temperature the products formed showed different rheological characteristics, the butyleneglycol disalicylate was liquid and the pentaerythritol tetrasalicylate was solid.

The setting time (ST) of experimental sealers evaluated in this study are presented in Table 2. The addition of pentaerythritol tetrasalicylate reduced the materials setting times. Regarding to initial ST, the sealer 40/0 presented the highest time, the sealers 35/5 and 30/10 similar ($p = 0.811$) and intermediates times, and the 20/20 present the lowest initial ST. Concerning the final ST, the sealer 40/0 present

the highest time, the sealer 20/20 the intermediate time, and the sealers 35/5 and 30/10 present similar ($p=0.205$) and lowest final ST.

The solubility (S) of experimental materials is presented in the Table 3. After 24 hours the sealer 40/0 and 35/5 had higher S, after 7 days the sealers did not differ, and after 14 and 28 days the sealer 20/20 showed the lowest S. After 7 days the sealer 20/20 stabilized its S, while the other continued to gradually release its components.

The diametral tensile strength (DTS) and the Young's modulus (E) of sealers tested are shown in Table 4. The sealer 40/0 presented the highest values and the sealer 20/20 present de lowest values of DTS and E. The sealers 30/10 and 35/5 presented similar DTS ($p=0.32$) and E ($p=0.968$), which was different and intermediate than the presented by the other sealer.

4 Discussion

All the calcium-based root filings have two active reagents in its compositions, a source of calcium and a salicylates resin. During the handling these two components are mixed and after the introduction in the root canals and subsequent contact with the tissue fluids, the setting reaction starts. The calcium ions reacts with the salicylate molecules forming an ionic polymer. This reaction is responsible for setting and thus to confer physical-mechanical characteristics to the material. Many studies evaluated different calcium sources in an attempt to solve drawbacks of this type of sealers (7, 18), however changes in salicylates resin had not been studied. Was hypothesized that changes in the molecular structure of salicylate derivatives results in different physical mechanical characteristics of the polymer formed as rheological characteristics, solubility and strength.

The salicylate derivatives syntheses were successfully obtained as confirmed by the FTIR and RMN spectrums. Is the first time that a salicylates transesterification reaction is described using titanium isopropoxide as catalyst. This catalyst is extremely safe, therefore is not necessary to remove it the final product, since it decomposes to titanium dioxide which is widely used as white pigment in many dental materials.

The calcium-based endodontic sealers commercially available use in its composition the butyleneglycol disalicylate. This salicylate derivative presents functionality 2 and therefore has the ability to form linear or circular polymers. This technology was firstly described by Dougherty from Caulk in your patent document US 3,047,408 (19). Jandourek in US patent document 4,240,832 uses a resinous condensate polysalicylate in the development of dental cements (20). However, the final product has a melting point below 60°C necessitating the use of methyl salicylate as a diluent. The low functionality and molecular mass of the methyl salicylate determines the worst mechanical properties for the material and a greater solubility.

The setting time of a sealer is important to allow adequate working time and proper consistency to permit the complete filling of the root canal system. The addition of PT reduced the materials initial and final setting times. This time reduction could have occurred due the differences in functionality of salicylate derivatives, the PT presents functionality 4 which makes it more reactive than that BD that present functionality 2, this higher reactivity accelerated the setting reaction of groups that contained PT in its composition. Although the addition of PT to have reduced the setting time, all experimental materials showed viable times for clinical use.

Solubility is essential physicochemical properties of root canal filling. High solubility of a canal sealer might result in loss of structure to the oral environment and create lack of integrity in the sealer. These spaces might provide a pathway for microorganisms and their toxic products into periapical tissues, damaging the endodontic space (21, 22). The addition of PT positively influenced the solubility of experimental sealers. The groups containing larger amount of PT, 30/10 and 20/20, were those with lower solubility in the first 24 hours. The addition of 20% of PT was able to stabilize the solubility of the material after 7 days, while the other continued to gradually release its components until the last evaluation period of 28 days, this can be explained by the polymer formed after curing, the larger the amount of PT more crosslinked the polymer will be, and consequently more stable and less hydrophilic. Achieving stability allows the quality of the filling be preserved, determining factor in the prognosis of endodontic treatment (1-3).

Although the mechanical strength is not the most relevant characteristic of endodontic sealers in view of occlusal forces, this property should be considered in retreatment and posts cementation, cases which is necessary to remove the material inside the root canal, and due its relation to the structural integrity of the material and subsequent sealing of the root system. The evaluation of DTS and were important to observe the effects of use a new salicylate derivative. The analysis of the sealers demonstrated that the addition of PT influenced negatively the mechanical resistance of materials. This may have occurred because of the limited solubility of PT in BD, which can have caused a phase separation and incorporation of defects in the sample. The group with the highest amount of PT and lower BD showed the worst results, while the group without PT showed the highest values for DTS and Young modulus. But, it is well known, that the sealing of endodontically treated teeth is

usually performed by the combination of two materials, the sealer and the gutta-percha cone, however, a sealer mechanical strength may not be its most critical property.

The PT shown to be a derivative of salicylate possible to be incorporated to the endodontic calcium based sealers, according to the properties evaluated in this study. However further studies are needed to verify the impact of the PT in the biological properties of sealer, as pH and calcium ion release.

5 References

1. De Moor RJ, Hommez GM, De Boever JG, Delme KI, Martens GE. Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population. *Int Endod J* 2000;33(2):113-120.
2. Gunduz K, Avsever H, Orhan K, Demirkaya K. Cross-sectional evaluation of the periapical status as related to quality of root canal fillings and coronal restorations in a rural adult male population of Turkey. *BMC Oral Health* 2011;11:20.
3. Kirkevang LL, Orstavik D, Horsted-Bindslev P, Wenzel A. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in a Danish population. *Int Endod J* 2000;33(6):509-515.
4. Duarte MA, Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC, Fraga Sde C. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(3):345-347.
5. Eldeniz AU, Erdemir A, Kurtoglu F, Esener T. Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103(3):e86-91.

6. Massi S, Tanomaru-Filho M, Silva GF, Duarte MA, Grizzo LT, Rabelo Buzalaf MA, et al. pH, Calcium Ion Release, and Setting Time of an Experimental Mineral Trioxide Aggregate-based Root Canal Sealer. *J Endod* 2011;37(6):844-846.
7. Tanomaru-Filho M, Chaves Faleiros FB, Sacaki JN, Hungaro Duarte MA, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2009;35(10):1418-1421.
8. Bae WJ, Chang SW, Lee SI, Kum KY, Bae KS, Kim EC. Human periodontal ligament cell response to a newly developed calcium phosphate-based root canal sealer. *J Endod* 2010;36(10):1658-1663.
9. Schafer E, Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J* 2003;36(10):660-669.
10. Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *J Endod* 2002;28(10):684-688.
11. Salles LP, Gomes-Cornelio AL, Guimaraes FC, Herrera BS, Bao SN, Rossa-Junior C, et al. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. *J Endod* 2012;38(7):971-976.
12. Scarparo RK, Haddad D, Acasigua GA, Fossati AC, Fachin EV, Grecca FS. Mineral trioxide aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. *J Endod* 2010;36(7):1174-1178.
13. Poggio C, Lombardini M, Alessandro C, Simonetta R. Solubility of root-end-filling materials: a comparative study. *J Endod* 2007;33(9):1094-1097.

14. Shie MY, Huang TH, Kao CT, Huang CH, Ding SJ. The effect of a physiologic solution pH on properties of white mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2009;35(1):98-101.
15. International Organization for Standardization. ISO 6876:2001: Dental Root Canal Sealing Materials. Geneva: International Organization for Standardization 2001.
16. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Felipe WT, Tanomaru Filho M, Esberard RM. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *J Endod* 2009;35(4):550-554.
17. Carvalho-Junior JR, Correr-Sobrinho L, Correr AB, Sinhoreti MA, Consani S, Sousa-Neto MD. Solubility and dimensional change after setting of root canal sealers: a proposal for smaller dimensions of test samples. *J Endod* 2007;33(9):1110-1116.
18. Khashaba RM, Chutkan NB, Borke JL. Comparative study of biocompatibility of newly developed calcium phosphate-based root canal sealers on fibroblasts derived from primary human gingiva and a mouse L929 cell line. *Int Endod J* 2009;42(8):711-718.
19. Dougherty EW. Dental cement material. United State Patent 3,047,408. 1962.
20. Jandourek E. Dental pulp capping and cavity lining composition and preparative method. United State Patent 4,240,832. 1980.
21. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Junior FA, De-Deus G, Miranda CE, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J* 2012;45(5):419-428.

22. Ørstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endodontic Topics* 2006; 12: 25–38.

6 Tables

Table 1 – Composition of base pastes evaluated in this study

Base Paste	Bismuth	Butyleneglycol Disalicylate	Pentaerythritol Tetrasalicylate
20/20	60%	20%	20%
30/10	60%	30%	10%
35/5	60%	35%	5%
40/0	60%	40%	0%

Table 2 – Mean (and standard deviation) of initial end final setting time of the experimental sealers evaluated in this study

Sealer	Setting Time (minutes)	
	Initial	Final
20/20	86.67 ($\pm$ 5.58) ^C	775 ($\pm$ 7.75) ^B
30/10	116.67 ($\pm$ 2.58) ^B	550 ($\pm$ 12.25) ^C
35/5	114.17 ($\pm$ 3.76) ^B	560 ($\pm$ 7.75) ^C
40/0	412.5 ($\pm$ 8.22) ^A	803.33 ($\pm$ 4.08) ^A

Different capital letters in columns represent statistically significant differences between the groups ($p < 0.001$).

Table 3 – Mean (and standard deviation) of solubility in different storage time of the experimental sealers evaluated in this study

Sealer	Solubility (%)			
	24 hours	7 days	14 days	28 days
20/20	3,69 ($\pm$ 0,23) ^{Cb}	8,42 ($\pm$ 0,44) ^{Aa}	8,93 ($\pm$ 0,54) ^{Ba}	9,66 ($\pm$ 0,47) ^{Da}
30/10	5,21 ($\pm$ 0,40) ^{Bd}	8,97 ($\pm$ 1,96) ^{Ac}	12,54 ($\pm$ 0,38) ^{Ab}	13,95 ($\pm$ 0,65) ^{Ca}
35/05	6,85 ($\pm$ 0,19) ^{Ad}	8,18 ($\pm$ 0,52) ^{Ac}	13,65 ($\pm$ 0,76) ^{Ab}	16,59 ($\pm$ 0,74) ^{Ba}
40/0	5,74 ($\pm$ 0,25) ^{ABd}	9,05 ($\pm$ 0,78) ^{Ac}	12,74 ($\pm$ 0,63) ^{Ab}	24,14 ($\pm$ 4,14) ^{Aa}

Different capital letters in columns represent statistically significant differences between the groups ($p < 0.001$).
Different small letters in lines indicate significant differences between storage times tested ($p < 0.001$).

Table 4 – Mean (and standard deviation) of diametral tensile strength and Young's modulus of experimental sealers evaluated in this study

Sealer	Diametral tensile strength (MPa)	Young's modulus (MPa)
20/20	0.37 ($\pm$ 0.09) ^C	9.54 ($\pm$ 5.27) ^C
30/10	1.07 ($\pm$ 0.16) ^B	33.24 ($\pm$ 11.10) ^B
35/5	0.89 ($\pm$ 0.18) ^B	31.10 ($\pm$ 13.81) ^B
40/0	1.43 ($\pm$ 0.28) ^A	49.96 ($\pm$ 12.68) ^A

Different capital letters in columns represent statistically significant differences between the groups ($p < 0.001$).

7 Figures

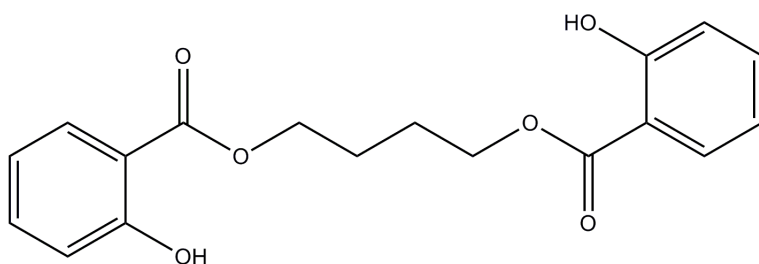


Fig. 1 - Butyleneglycol disalicylate molecular structure

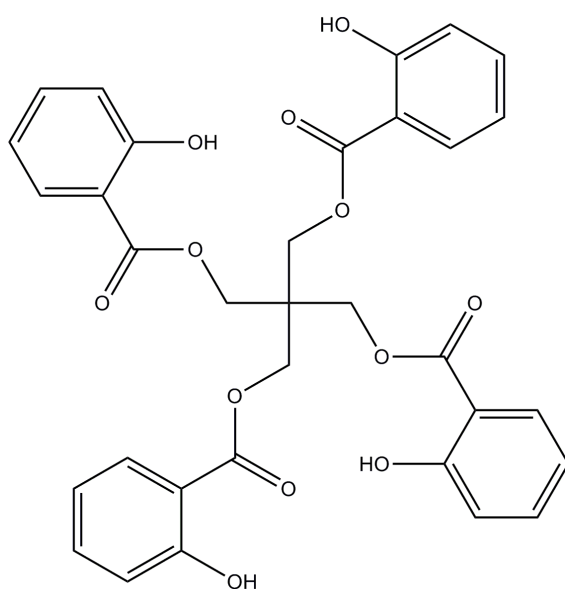


Fig. 2 - Pentaerythritol tetrasalicylate molecular structure

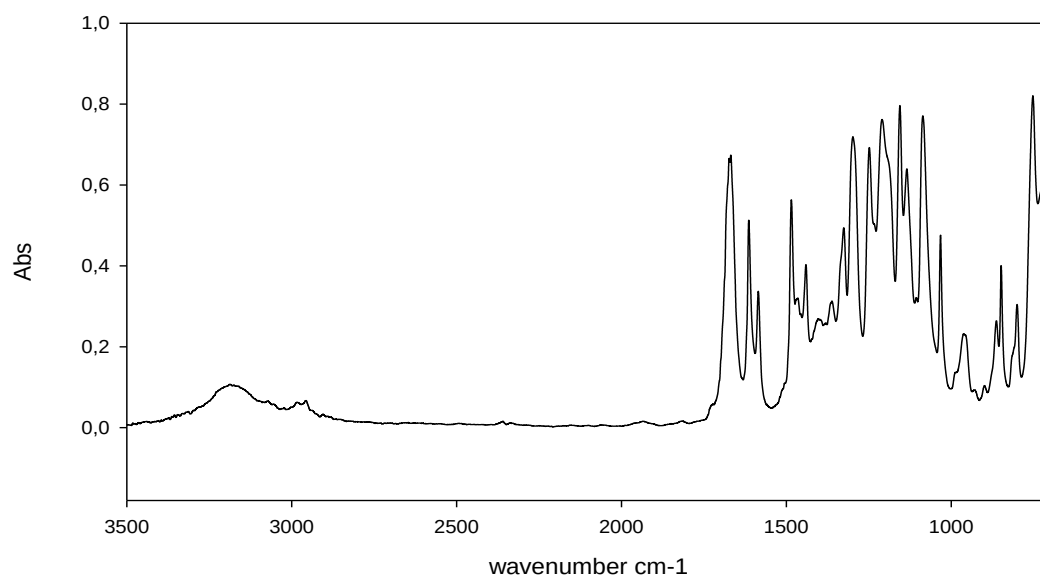


Fig. 3 - FTIR spectra from butileneglycol dissalicylate

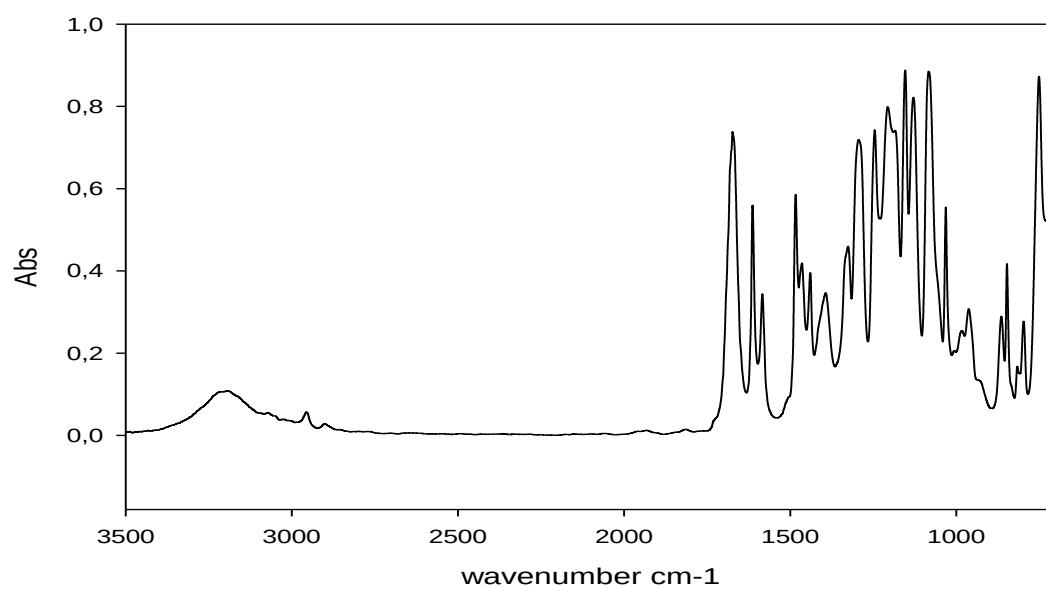


Fig. 4 - FTIR spectra from pentaerythritol tetrasalicylate

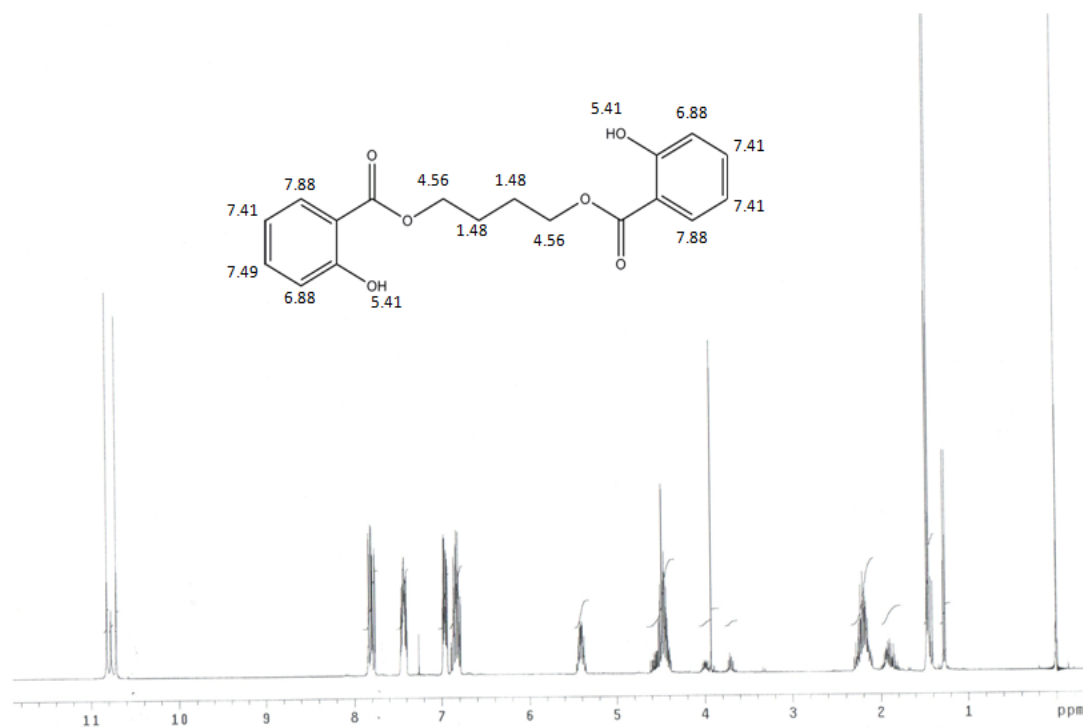


Fig. 5 - ^1H NMR spectrum from butyleneglycol dissalicylate

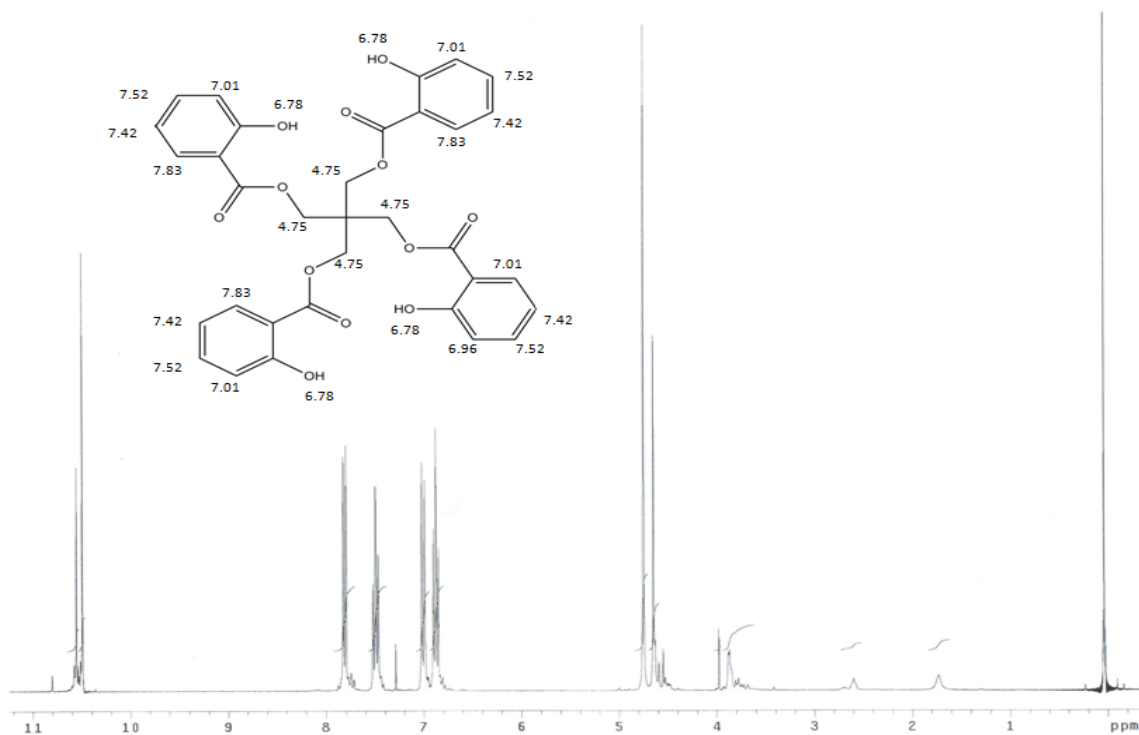


Fig. 6 - ^1H NMR spectrum from pentaerythritol tetrasalicylate

3 CONCLUSÕES

O novo composto sintetizado neste estudo, o pentaeritritol tetrassalicilato, mostrou ser um derivado de salicilato alternativo a ser considerado na formulação de cimentos endodônticos.

A utilização pentaeritritol tetrassalicilato trouxe benefícios às propriedades dos cimentos experimentais testados, principalmente quanto à solubilidade, que é a principal desvantagem de cimentos endodônticos a base de cálcio.

4 REFERÊNCIAS

Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. **International Endodontic Journal**, v.39, n.12, p.921-930, 2006.

BAE, W. J., CHANG, S. W., LEE, S. I., KUM, K. Y., BAE, K. S., KIM, E. C. Human periodontal ligament cell response to a newly developed calcium phosphate-based root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v.36, n.10, p.1658-1663,

BORGES, R. P., SOUSA-NETO, M. D., VERSIANI, M. A., RACHED-JUNIOR, F. A., DE-DEUS, G., MIRANDA, C. E., PECORA, J. D. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. **International Endodontic Journal**, v.45, n.5, p.419-428,

BORTOLUZZI, E. A., BROON, N. J., BRAMANTE, C. M., FELIPPE, W. T., TANOMARU FILHO, M., ESBERARD, R. M. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. **Journal of Endodontics**, v.35, n.4, p.550-554, 2009.

CARVALHO-JUNIOR, J. R., CORRER-SOBRINHO, L., CORRER, A. B., SINHORETI, M. A., CONSANI, S., SOUSA-NETO, M. D. Solubility and dimensional change after setting of root canal sealers: a proposal for smaller dimensions of test samples. **Journal of Endodontics**, v.33, n.9, p.1110-1116, 2007.

DE MOOR, R. J., HOMMEZ, G. M., DE BOEVER, J. G., DELME, K. I., MARTENS, G. E. Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population. **International Endodontic Journal**, v.33, n.2, p.113-120, 2000.

Dougherty EW. Dental cement material. United State Patent 3,047,408. 1962.
DESAI, S., CHANDLER, N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review **Journal of Endodontics**, v.35, n.4, p.475-480, 2009.

DUARTE, M. A., DEMARCHI, A. C., YAMASHITA, J. C., KUGA, M. C., FRAGA SDE, C. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials **Oral Surgery, Oral**

Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics, v.95, n.3, p.345-347, 2003.

ELDENIZ, A. U., ERDEMIR, A., KURTOGLU, F., ESENER, T. Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, v.103, n.3, p.e86-91, 2007.

GUNDUZ, K., AVSEVER, H., ORHAN, K., DEMIRKAYA, K. Cross-sectional evaluation of the periapical status as related to quality of root canal fillings and coronal restorations in a rural adult male population of Turkey. **BMC Oral Health**, v.11, p.20,

International Organization for Standardization. ISO 6876:2001: Dental Root Canal Sealing Materials. Geneva: **International Organization for Standardization**. 2001.

Jandourek E. Dental pulp capping and cavity lining composition and preparative method. **United State Patent** 4,240,832. 1980.

KHASHABA, R. M., CHUTKAN, N. B., BORKE, J. L. Comparative study of biocompatibility of newly developed calcium phosphate-based root canal sealers on fibroblasts derived from primary human gingiva and a mouse L929 cell line. **International Endodontic Journal**, v.42, n.8, p.711-718, 2009.

KIRKEVANG, L. L., ORSTAVIK, D., HORSTED-BINDSLEV, P., WENZEL, A. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in a Danish population. **International Endodontic Journal**, v.33, n.6, p.509-515, 2000.

LEE, K. W., WILLIAMS, M. C., CAMPS, J. J., PASHLEY, D. H. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. **Journal of Endodontics**, v.28, n.10, p.684-688, 2002.

MASSI, S., TANOMARU-FILHO, M., SILVA, G. F., DUARTE, M. A., GRIZZO, L. T., RABELO BUZALAF, M. A., GUERREIRO-TANOMARU, J. M. pH, Calcium Ion Release, and Setting Time of an Experimental Mineral Trioxide Aggregate-based Root Canal Sealer. **Journal of Endodontics**, v.37, n.6, p.844-846,

Ørstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. **Endodontic Topics**. v.12, p. 25–38, 2006

POGGIO, C., LOMBARDINI, M., ALESSANDRO, C., SIMONETTA, R. Solubility of root-end-filling materials: a comparative study. **Journal of Endodontics**, v.33, n.9, p.1094-1097, 2007.

SALLES, L. P., GOMES-CORNELIO, A. L., GUIMARAES, F. C., HERRERA, B. S., BAO, S. N., ROSSA-JUNIOR, C., GUERREIRO-TANOMARU, J. M., TANOMARU-FILHO, M. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. **Journal of Endodontics**, v.38, n.7, p.971-976,

SCARPARO, R. K., HADDAD, D., ACASIGUA, G. A., FOSSATI, A. C., FACHIN, E. V., GRECCA, F. S. Mineral trioxide aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. **Journal of Endodontics**, v.36, n.7, p.1174-1178,

SCHAFER, E., ZANDBIGLARI, T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. **International Endodontic Journal**, v.36, n.10, p.660-669, 2003.

SHIE, M. Y., HUANG, T. H., KAO, C. T., HUANG, C. H., DING, S. J. The effect of a physiologic solution pH on properties of white mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.35, n.1, p.98-101, 2009.

SIPERT, C. R., HUSSNE, R. P., NISHIYAMA, C. K., TORRES, S. A. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **International Endodontic Journal**, v.38, n.8, p.539-543, 2005.

SLUTZKY-GOLDBERG, I., SLUTZKY, H., SOLOMONOV, M., MOSHONOV, J., WEISS, E. I., MATALON, S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. **Journal of Endodontics**, v.34, n.6, p.735-738, 2008.

TANOMARU-FILHO, M., CHAVES FALEIROS, F. B., SAKAKI, J. N., HUNGARO DUARTE, M. A., GUERREIRO-TANOMARU, J. M. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.35, n.10, p.1418-1421, 2009.

TANOMARU, J. M., TANOMARU-FILHO, M., HOTTA, J., WATANABE, E., ITO, I. Y. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. **Acta Odontológica Latinoamericana**, v.21, n.2, p.147-151, 2008.

