

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

Programa de Pós-graduação em Odontologia



Dissertação

**Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato e seu uso  
no desenvolvimento de um adesivo odontológico**

**Fabrício Aulo Ogliari**

**Pelotas, 2006**

FABRÍCIO AULO OGLIARI

**SÍNTESE DO 2,3-EPITIOPROPIL METACRILATO E SEU  
USO NO DESENVOLVIMENTO DE UM ADESIVO  
ODONTOLÓGICO**

Dissertação apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação  
em Odontologia, Área de  
Concentração Dentística da  
Faculdade de Odontologia de  
Pelotas da UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PELOTAS, como  
requisito parcial à obtenção do título  
de Mestre em Dentística.

**Orientador:** Prof. Dr. Evandro Piva

**Co-orientadores:** Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold

Prof. Dr. Flávio Fernando Demarco

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil

2006

**Banca examinadora**

Professor Doutor Evandro Piva (Orientador)

Professor Doutor Marcelo Giannini

Professora Doutora Susana Maria Werner Samuel

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

**Aos meus pais Ilse e Aulo** que nunca mediram esforços para possibilitar o melhor aos seus filhos. Pessoas maravilhosas que me mostraram a importância do trabalho e dos valores da vida em família. Amo vocês!

**À minha irmã Ana Paula** por esses 21 anos de convivência onde crescemos e amadurecemos juntos, com as naturais brigas entre irmãos que de forma paradoxal tornaram a nossa relação mais forte e intensa. Te amo Paulinha!

**À minha namorada Caroline**, mulher maravilhosa que além de ser o amor da minha vida é a minha amiga de todas as horas. Tudo nessa jornada foi infinitamente mais fácil devido a você que me conquistou e me conquista novamente todos os dias. EU TE AMO!!!

**Aos meus avós Dória, Hermínio (*in memoriam*), Deomira e Alcides**, por todas as maravilhosas lembranças desde a minha infância até os dias atuais. Sinto muito orgulho de ser fruto dessa mistura entre o Secco e o Ogliari. *È tutto buona gente.*

**Aos meus familiares** que estiveram sempre ao meu lado mesmo a quilômetros de distância e entenderam (assim espero) as minhas ausências nos almoços e churrascos de família durante esses anos de concentração extrema.

## **AGRADECIMENTOS**

**Aos contribuintes brasileiros** que financiam o Ensino Superior Federal “gratuito”. Minha formação profissional dependeu da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e da Universidade Federal de Pelotas, tendo consciência da minha dívida junto à sociedade.

**Ao meu orientador Professor Doutor Evandro Piva** pela excelência em todos os quesitos que compõe um pesquisador e um ser humano: sabedoria, caráter, simplicidade e, acima de tudo, solidariedade. Sou privilegiado por pertencer à equipe do Professor Piva, por fazer parte do **CDC-Bio** e por ter feito um amigo como você. Tenho uma dívida eterna contigo, pela confiança depositada em mim e por todas as oportunidades que venho tendo nesses últimos tempos. Tenho certeza que estamos apenas no começo de uma parceria que trará para ambos muitos frutos ainda. Pai da Livia, tu é o cara!!!

**Ao meu co-orientador Professor Doutor Cesar Liberato Petzhold**, pessoa extraordinária, que me apresentou o maravilhoso mundo da Química Orgânica. Sua competência, paciência e o seu dom para a docência, tornaram a minha experiência nessa área estranha até então para mim, muito menos árdua.

**Ao meu co-orientador Professor Doutor Flávio Fernando Demarco** um grande incentivador, que confiou em mim desde o início, abrindo portas e possibilitando boa parte das coisas boas que aconteceram comigo nesses últimos tempos. Apesar de colorado, te considero um grande amigo.

**À minha orientadora de Iniciação Científica Professora Doutora Susana Maria Werner Samuel** por despertar em mim a vocação pela pesquisa, mostrando com muita competência a importância dos Materiais Dentários dentro da Odontologia. Nesses anos de convívio, muita coisa aprendi, muitas

oportunidades me foram dadas e tudo isso teve reflexo direto no direcionamento da minha formação profissional e moral. Por isso, como já lhe disse em outras oportunidades, sou eternamente grato.

**À pessoa que eu me refiro sempre como a minha mãe na Odontologia, Professora Carmen Beatriz Borges Fortes.** Minha primeira orientadora científica e minha permanente orientadora das decisões difíceis da vida. Nunca mediu esforços para me ajudar, oportunizando a minha entrada no campo de pesquisa que me encontro atualmente. Prof.<sup>a</sup> Carmen agradeço do fundo do meu coração.

**Ao meu grande amigo Fabrício Mezzomo Collares** parceiro científico de todos esses anos. Agradeço pelo convívio nesses últimos anos. Nossas acaloradas discussões científicas, cada vez mais acirradas, auxiliaram em muito o nosso crescimento profissional. Estendo esse agradecimento à minha amiga desde os tempos de Diretório Acadêmico, Viviane Vanz Collares e ao meu amado afilhado, o pequeno Bruninho.

**Ao Mestre Eduardo Oliveira da Silva** pela minha capacitação no laboratório de Síntese Orgânica. Agradeço pela paciência em ensinar um dentista como realizar e interpretar um espectro de ressonância magnética protônica. Tua inteligência só é superada pela tua disposição e, ajudar sempre que preciso. Um dia ainda vamos fazer a reação da glicose, eu prometo!

**Ao Professor Doutor Marco Antônio Ceschi** pelos grandes ensinamentos na área da Síntese Orgânica. O dia-a-dia em conciliar o pensamento do Químico-Sintético às questões aplicadas da Odontologia tem tornado o nosso convívio desafiador e altamente produtivo. Vida longa a essa parceria.

**Aos meus colegas do Mestrado e do Doutorado Giana, Francine, Sônia, Josiane, Nihad, Elaine, Elenara, Mabel, Adriana, Daniela, Paula, Renata, Rafael, Antônio, Eduardo, Henrique, Rodrigo, Tiago, Luciano, Sinval, Fábio Hermann, Fábio Lima.** Grupo de excelentes profissionais que irão contribuir em muito no ensino da Odontologia brasileira assim como na geração do conhecimento científico.

**Aos queridos alunos de Iniciação Científica Caroline Ely, Diego, Sandrina, Camila, Eliseu, Marcus, Cari, Luciana, Aline, Eduardo Schwartz.** Espero nesta nossa caminhada juntos, poder contagiá-los com o apreço pela vida acadêmica, porque sei que com a seriedade e qualidade do trabalho de cada um de vocês, o **CDC-Bio** terá um futuro muito promissor.

**Aos meus colegas de apartamento Rafael e Romoaldo,** pela grande amizade e companheirismo nessa selva que é a vida de estudantes, longes de casa e cuidando do seu próprio lar. Tudo seria muito mais difícil sem a presença de vocês.

**À secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Josiane** pela disponibilidade em ajudar sempre que preciso. Sua competência tornou o programa muito mais organizado e eficiente.

**Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPel, representado pelo Professor Doutor Evandro Piva** pela oportunidade em desenvolver minhas aptidões acadêmicas em um ambiente de grande qualificação.

**À Professora Doutora Márcia Bueno, diretora da Faculdade de Odontologia da UFPel,** um grande ser humano que com certeza irá conduzir a faculdade para o caminho certo.

**À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior**  
por disponibilizar minha bolsa de estudos.

**À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul**  
pelo financiamento do presente estudo através do Edital PROADE 3 Processo  
N.º 0521064.

## **NOTAS PRELIMINARES**

A presente Dissertação foi redigida segundo o Manual de Normas para Dissertações, Teses e Trabalhos Científicos da Universidade Federal de Pelotas de 2006, adotando o Nível de Descrição 4 – Estruturas em Artigos, que consta no Apêndice D do referido manual.

O invento tecnológico aqui descrito está sob processo de obtenção de patente, entregue à **Agência de Gestão Tecnológica da Universidade Federal de Pelotas** em agosto de 2006.

## RESUMO

OGLIARI, Fabrício Aulo. **Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato e seu uso no desenvolvimento de um adesivo odontológico**. 2006. 87f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

O objetivo deste estudo foi sintetizar e avaliar a influência do 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA) utilizado como monômero funcionalizado sobre a resistência de união imediata e longitudinal de um adesivo comercial. O ETMA foi sintetizado através da transformação do glicidil metacrilato na presença de tiocianato de amônio catalisado por nitrato de cérico de amônio. O produto obtido, após destilação, foi confirmado e caracterizado por ressonância magnética nuclear de prótons e por espectroscopia no infravermelho. ETMA foi utilizado como aditivo na quantidade de 0,1, 1 e 10% em massa a um adesivo comercial (Scotchbond Multiuso - SBMU, 3MESPE). Como controle SBMU sem ETMA foi testado. Foi avaliada a capacidade de copolimerização do ETMA com os outros monômeros do adesivo comercial assim como a sua influência no grau de conversão e na resistência de união à microtração em dentina. A resistência de união a microtração em dentina foi avaliada após 24h, 6 meses e 12 meses de armazenagem em água destilada. As amostras fraturadas do ensaio de microtração foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura e microscopia ótica para a análise do modo de fratura. Foi possível a síntese do ETMA através da conversão de GMA utilizando  $\text{NH}_4\text{SCN}$  como reagente. Um rendimento global de 90% foi atingido utilizando-se um método simples de purificação. A adição de ETMA não influenciou os valores de grau de conversão e estes sistemas monoméricos demonstraram capacidade de copolimerização ente si, não apresentando traços de liberação de ETMA nos grupos de 0,1 e 1%. Os adesivos contendo ETMA apresentaram valores de resistência de união significativamente maiores que o grupo controle sem ETMA ( $p < 0.05$ ). Os valores de resistência de união do grupo controle e dos grupos experimentais

permaneceram estáveis mesmo após 12 meses de armazenagem, sendo que os grupos experimentais apresentaram valores mais elevados de resistência de união em comparação ao controle independentemente do período de avaliação.

**Palavras chave:** adesivo dentinário; episulfeto; microtração; metaloproteases;

## ABSTRACT

OGLIARI, Fabrício Aulo. **2,3-epithiopropyl methacrylate synthesis and application in a dental adhesive**. 2006. 87f. Dissertation (Master degree) – Pos Graduation Program in Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

The aim of this study was to synthesize and to investigate the influence of the 2,3-epithiopropyl methacrylate (ETMA) in a dental adhesive. Synthesis of the ETMA was performed using glycidyl methacrylate as starting reagent, catalyzed by cerium ammonium nitrate in presence of  $\text{NH}_4\text{SCN}$ . After purification, ETMA was characterized by  $^1\text{H}$  NMR and FTIR spectroscopy. ETMA monomer was used as an additive agent in a commercial available dental adhesive (Scotchbond Multipurpose, 3M ESPE) at three different concentrations (0.1, 1 and 10 wt %). Adhesive without ETMA was used as control group. Degree of conversion of the polymerized adhesives was accomplished by FTIR analysis. Blend copolymerization was investigated by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy analysis. To investigate immediate and long-term properties of the adhesives, microtensile bond strength to human dentin and SEM fractographic analysis were performed. ETMA was synthesized through the conversion of GMA with  $\text{NH}_4\text{SCN}$  and high yield was obtained (90%). One-step's synthetic route and a simple manner of purification were described. ETMA presence didn't affect the degree of conversion of the adhesive resins. The monomer that composed the adhesive resins presented copolymerization among them, not presenting ETMA release in 0.1 and 1% groups. Experimental adhesives had statistically higher microtensile bond strength values than the no ETMA adhesive ( $p < 0.05$ ), independently of the water storage. All groups were stable over time.

**Keywords:** dental adhesive; episulfide; microtensile; metalloproteinases;

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.1</b> Rota sintética para a obtenção do monômero ETMA .....	27
<b>Figura 1.2</b> Equação utilizada para o cálculo de grau de conversão .....	28
<b>Figura 1.3</b> Orçamento previsto para a viabilização do projeto.....	34
<b>Figura 1.4</b> Cronograma de atividades do mestrando.....	36
<b>Figura 2.1</b> Espectro FTIR das absorbâncias alifáticas ( $1640\text{cm}^{-1}$ ) e aromáticas ( $1610\text{cm}^{-1}$ ) das resinas não polimerizadas (---) e polimerizadas (—) .....	46
<b>Figura 2.2</b> Esquema da reação de conversão do epóxido para o grupo episulfeto em um monômero metacrilato .....	49
<b>Figura 2.3</b> Espectro de RMN $\text{H}^1$ do monômero 2,3-epitiopropil metacrilato e os respectivos assinalamentos para cada ressonância (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	49
<b>Figura 2.4</b> Caracterização por FTIR do monômero ETMA (disco de NaCl) .....	50
<b>Figura 2.5</b> Espectro de RMN $\text{H}^1$ do eludato relativo ao grupo controle e grupos experimentais com diferentes concentrações de ETMA (solvente $\text{CDCl}_3$ ) .....	51

<b>Figura 2.6</b> Distribuição dos padrões de falha como observados por microscopia eletrônica de varredura .....	53
<b>Figura 3.1</b> Sítio ativo da metaloprotease zinco dependente inibido ionicamente (inibição reversível) .....	67
<b>Figura 3.2</b> Sítio ativo da metaloprotease zinco dependente inibido covalentemente (inibição irreversível) .....	67
<b>Figura 3.3</b> Distribuição dos modos de fratura no ensaio de microtração dos diferentes grupos .....	72
<b>Figura 3.4</b> Reação de um ácido carboxílico com o heterociclo episulfeto (adaptado de Helmkamp e Schnautz, 1958) .....	73

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 2.1.</b> Resultados de grau de conversão e resistência de união à microtração .....	52
<b>Tabela 3.1.</b> Estatística descritiva: Resistência de união à microtração e concentração de ETMA após 24h, 6 meses e 12 meses. Médias, ( $\pm$ d.p.) Two-way ANOVA: médias, ( $\pm$ e.p.) .....	71

## Lista de abreviaturas e siglas

°C	graus Celsius
Bis-GMA	bisfenol glicidil metacrilato
BHT	hidróxibutil tolueno
CAN	nitrato cérico de amônio
cm <sup>-1</sup>	frequência de ondas por centímetro
dp	desvio padrão
ETMA	2,3-epitiopropil metacrilato
ep	erro padrão
g	grama
h	hora
GMA	glicidil metacrilato
GC	grau de conversão
HEMA	2-hidroxietil metacrilato
MEV	microscopia eletrônica de varredura
mg	miligrama
MHz	megahertz
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
mm <sup>2</sup>	milímetro quadrado
mm/min	milímetro por minuto
MMPs	metaloproteases da Matriz
MPa	megapascal
mW/cm <sup>2</sup>	miliwatts por centímetro quadrado
N	newtons
RMN H <sup>1</sup>	ressonância magnética nuclear de prótons
s	segundos
%	porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1 Projeto de pesquisa.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1 Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2 Justificativa.....</b>	<b>24</b>
<b>1.3 Objetivo.....</b>	<b>25</b>
<b>1.4 Materiais e métodos.....</b>	<b>26</b>
<b>1.4.1 Considerações iniciais.....</b>	<b>26</b>
<b>1.4.2 Reagentes.....</b>	<b>26</b>
<b>1.4.3 Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato.....</b>	<b>26</b>
<b>1.4.4 Formulação dos materiais.....</b>	<b>27</b>
<b>1.4.5 Grau de conversão por espectroscopia no infravermelho.....</b>	<b>27</b>
<b>1.5 Referências.....</b>	<b>31</b>
<b>1.6 Financiamento.....</b>	<b>33</b>
<b>1.7 Orçamento.....</b>	<b>34</b>
<b>1.8 Considerações éticas</b>	<b>35</b>
<b>1.9 Cronograma.....</b>	<b>36</b>
<b>1.10 Apêndices.....</b>	<b>37</b>
<b>1.11 Anexo.....</b>	<b>39</b>
<b>2 Artigo n.º 1.....</b>	<b>40</b>
<b>3 Artigo n.º 2.....</b>	<b>64</b>
<b>4 Conclusões.....</b>	<b>77</b>
<b>5 Referências.....</b>	<b>78</b>
<b>6 Apêndice.....</b>	<b>84</b>

## **1 PROJETO DE PESQUISA**

### **1.1 INTRODUÇÃO**

Resinas de baixa viscosidade à base de monômeros metacrilatos são amplamente utilizadas na Odontologia como adesivos que unem materiais restauradores aos tecidos dentais. O mecanismo de ação destes agentes em esmalte e dentina pode ser explicado pela difusão de monômeros em porosidades criadas pela prévia desmineralização do substrato. Após polimerizados, um embricamento micromecânico é formado entre a resina adesiva e os tecidos dentais e esta zona de interdifusão é chamada de camada híbrida (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982). Esta interface precisa de um selamento eficiente, de modo a proteger a dentina do contato direto com o meio oral reduzindo assim as possibilidades de infiltração marginal, injúria pulpar e até a própria perda da restauração (BERGENHOLTZ, 2000; GORDAN et al., 2002). Valores elevados de resistência de união do sistema adesivo com o substrato dental são necessários para contrapor as tensões geradas pela contração de polimerização do compósito restaurador (DELIPERI; BARDWELL; PAPATHANASIOU, 2003) e também pelos esforços mastigatórios. Adicionalmente é desejável a manutenção dos valores de união entre o material adesivo e o dente ao longo do tempo e esse fator é crítico para a longevidade das restaurações (KOSHIRO et al., 2004).

Os adesivos dentinários atuais podem ser classificados segundo a estratégia empregada para o condicionamento da superfície do dente e também segundo o número de passos clínicos empregados (DE MUNCK et al., 2005). Adesivos que empregam o uso do condicionamento com gel de ácido fosfórico que é lavado após sua aplicação, são classificados como adesivos convencionais que podem ser de dois ou

três passos clínicos (Ácido + Primer/Adesivo ou Ácido + Primer + Adesivo). Já os adesivos que utilizam monômeros fosfatados polimerizáveis que desmineralizam o substrato, mas dispensam a sua posterior remoção por lavagem após aplicação são classificados como autocondicionantes podendo ainda serem divididos em adesivos de um ou dois passos clínicos (Primer autocondicionante/Adesivo ou Primer Autocondicionante + Adesivo).

Apesar da grande evolução ocorrida em adesivos odontológicos, como os sistemas adesivos autocondicionantes avaliações *in vivo* e *in vitro* mostram que a durabilidade da interface ainda é um problema (KOSHIRO, et al., 2004; DONMEZ et al., 2005; PEUMANS et al., 2005). Essa falta de estabilidade dos adesivos dentinários é explicada pela degradação dos dois principais constituintes da camada híbrida: o polímero e as fibras de colágeno.

Atualmente as composições de adesivos odontológicos são em sua maioria baseadas em uma mistura de dimetacrilatos hidrófobos e metacrilatos hidrófilos, sendo mais recentemente a participação de monômeros fosforados na composição dos materiais. Para iniciar a polimerização destes sistemas sob irradiação, um sistema iniciador composto de um fotoiniciador e uma amina como co-iniciador têm sido utilizado. O sistema monomérico e de iniciadores precisam atender um número de requerimentos básicos, como um baixo potencial tóxico (DEMARCO et al., 2001), estabilidade e compatibilidade com os tecidos dentais duros. Consequentemente, propriedades como grau de conversão, eficiência de copolimerização entre diferentes monômeros e solubilidade de componentes são características relevantes a serem consideradas.

O outro mecanismo responsável pelo comprometimento do desempenho de adesivos dentinários, é o processo de degradação das fibrilas colágenas. Uma família de proteases zinco dependentes, denominadas metaloproteases da matriz (MMPs) estão presentes em todos os tecidos biológicos, sendo responsáveis pelos processos de remodelação e plastia de colágeno. Também são muito importantes no processo de metástase de tumores, tendo um papel determinante na “abertura de caminho” para as células metastáticas (IKEJIRI et al., 2005). Em Odontologia, estas enzimas têm uma importância fundamental na formação dos tecidos dentários (FANCHON et al., 2004).

Uma vez concluída a formação dos tecidos dentais, estas enzimas acabam permanecendo no tecido, mas como estão imobilizadas pela mineralização do colágeno, ficam em um estado latente. Com a dentina e esmalte intactos, estas enzimas permanecem em seu estado latente, sem a ativação dos sítios catalíticos responsáveis pela ação proteolítica. Estímulos específicos podem determinar a ativação destas enzimas, desencadeando o seu potencial proteolítico. Este fenômeno é frequentemente observado em lesões cariosas onde bactérias cariogênicas são responsáveis por liberação de ácidos que irão desmineralizar a hidroxiapatita (TJÄDERHANE et al., 1998). Esta desmineralização dentinária é suficiente para a ativação das MMPs e assim a degradação do colágeno que foi exposto pela ação bacteriana.

Recentemente as MMPs passaram a ser um assunto de grande importância para a Odontologia Restauradora também. Em um estudo de Pashley e colaboradores publicado em 2004 (PASHLEY et al., 2004), foi identificado após o condicionamento ácido da dentina a presença de MMPs no estado ativo. Concordando com a observação da ativação, foi observada também a degradação do colágeno dentinário quando as MMPs estavam no seu estado ativo. Assim, deve-se considerar a possibilidade dessas MMPs contribuírem para a degradação de constituintes da camada híbrida, o que ajudaria explicar o comprometimento do desempenho de adesivos dentinários ao longo do tempo. Com isso, quando se pensa em longevidade de restaurações adesivas, é prudente considerar além da degradação do polímero, a degradação das fibras colágenas. Portanto para constituir um adesivo com estabilidade longitudinal satisfatória seria necessário considerar a utilização de um sistema de monômeros hidroliticamente estáveis além da presença de algum tipo de inibidor de MMPs. Diferentes inibidores de MMPs são conhecidos, como por exemplo, substâncias compostas por zinco (DE SOUZA; GERLACH; LINE, 2000), clorexidina (PASHLEY, et al., 2004) e compostos sulfurados (ROSENBLUM et al., 2003). Este último grupo é conhecido como um potente inibidor de MMPs, atuando através da interação do grupamentos episulfeto e o sítio catalítico da enzima. O grupamento episulfeto coordena com o íon zinco facilitando a abertura do anel através de um ataque nucleofílico pelo sítio ativo composto pelo glutamato (IKEJIRI, et al., 2005). Porém, via de regra, estes são compostos sem a capacidade de copolimerização com monômeros metacrilatos, o que pode ser um

limitante no seu uso em adesivos odontológicos. No entanto, existe a possibilidade da funcionalização de um monômero metacrilato pela conversão do grupo epóxido do metacrilato de glicidila (GMA) por um grupamento episulfeto. O resultado da substituição deste grupamento é a formação do 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA). Neste composto estão presentes o grupamento episulfeto, com potencial de inibição de MMPs e o grupamento metacrilato, que determinaria a possibilidade de copolimerização com os outros monômeros constituintes do adesivo. Esta substância nunca foi utilizada na constituição de qualquer material odontológico. Atualmente, o ETMA vem sendo pesquisado na área das ciências de membranas, na síntese de membranas anfóteras, melhorando suas propriedades (NONAKA et al., 2003).

O ETMA não existe comercialmente, sendo necessária a sua obtenção através de síntese laboratorial. A síntese do ETMA através da conversão do GMA com tiouréia, utilizando como solventes o etanol e água, já foi descrita previamente (ROGERS, 1965), mas os rendimentos obtidos foram consideravelmente baixos, sendo em torno de 34%. Iranpoor e Kazemi em 1996 (IRANPOOR; KAZEMI, 1996) descreveram a conversão de diferentes epóxidos em episulfetos na presença do  $\text{NH}_4\text{SCN}$  e ácido de Lewis com rendimentos maiores do que 85%. Os autores utilizaram o catalisador a base do Ce(IV) para promover uma abertura de anel do epóxido por ataque nucleofílico, utilizando o  $\text{NH}_4\text{SCN}$  como agente de transferência de enxofre. No entanto nenhum dos epóxidos testados neste estudo possuía o grupamento metacrilato. Resultados preliminares de um estudo realizado em nosso laboratório, sintetizando ETMA a partir do GMA e utilizando a rota sugerida pelo estudo de Iranpoor e Kazemi de 1996, apresentaram um rendimento quantitativo acima de 90%. Com este rendimento a utilização do ETMA torna-se industrialmente viável e abre uma perspectiva de sua utilização em materiais odontológicos.

Além do potencial de inibição das MMPs, outra questão interessante na utilização deste tipo de monômero é que monômeros funcionalizados do tipo metacrilatos com um grupo heterociclo como substituinte, tem dois sítios reativos independentes para iniciar a polimerização. Eles podem polimerizar pela geração de radicais livres, através da ligação vinílica do grupamento metacrilato ou também através de uma polimerização iônica, ocorrida pela abertura do anel heterociclo. Estas

diferentes formas de polimerização podem ocorrer isoladamente, determinando polímeros com características diferentes, ou então de forma combinada, mais uma vez alterando a propriedades do polímero.

## **1.2 JUSTIFICATIVA**

Até o presente momento, a utilização do ETMA em adesivos odontológicos ainda não foi descrita. Com a possibilidade de obtenção do ETMA através de uma rota sintética de alto rendimento quantitativo, com facilidade de separação do produto assim como um elevado grau de pureza do mesmo, o uso deste monômero na indústria torna-se promissor. Frente às potencialidades da inclusão desse monômero na formulação de adesivos dentinários, torna-se necessária uma investigação científica mais aprofundada visando o desenvolvimento de novos biomateriais para a aplicação em Odontologia.

### **1.3 OBJETIVOS**

Os objetivos deste estudo são: descrever uma rota sintética para a obtenção do monômero funcionalizado ETMA utilizando um composto derivado do Ce(IV) como catalisador; utilizar o ETMA como aditivo de um adesivo odontológico, avaliando seu desempenho na capacidade de união imediata e longitudinal em dentina; avaliar as características do copolímero formado entre o ETMA e demais monômeros odontológicos. A hipótese nula a ser testada é que o acréscimo do ETMA na composição de um sistema adesivo não irá determinar diferença na resistência de união e no grau de conversão dos polímeros obtidos.

## **1.4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **1.4.1 Considerações iniciais**

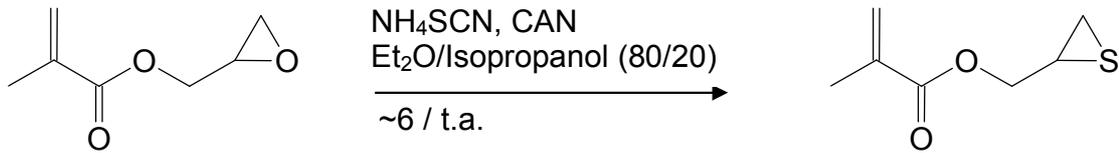
Este projeto foi encaminhado ao comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas e foi aprovado sob o protocolo número 32/05. O projeto caracteriza-se por um estudo interdisciplinar (Odontologia-Química) e interinstitucional (UFPel - UFRGS) sendo os experimentos executados em ambas instituições.

### **1.4.2 Reagentes**

Glicidil metacrilato 97% (Sigma-Aldrich), tiocianato de amônio 97,5% (Nuclear), nitrato cérico IV de amônio 99% (Vetec), álcool isopropílico PA (Synth) e éter etílico PA (Nuclear) serão utilizados conforme recebidos, sem adicional purificação.

### **1.4.3 Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato**

A síntese do ETMA será realizada em escala laboratorial, utilizando-se um balão de 250mL acoplado a um condensador de refluxo. 10g de GMA serão dissolvidos em 80mL de éter etílico e 20mL de álcool iso-propílico. Adicionalmente, 5,9g de tiocianato de amônio serão adicionados, seguido por 0,5g de nitrato cérico de amônio. O meio reacional será misturado por agitação magnética em temperatura ambiente, tendo a conversão dos reagentes em produto acompanhada por cromatografia de camada delgada. Uma representação esquemática da rota sintética utilizada é demonstrada na Figura 1.1. Ao fim da reação (aproximadamente 6 horas) o conteúdo do balão será filtrado em papel filtro e funil para remoção dos sólidos presentes. Será adicionado neste momento 10mg de BHT e o solvente será removido no vácuo. O produto concentrado será destilado com auxílio de alto vácuo, a pureza verificada por cromatografia gasosa e o produto terá seu rendimento quantificado e sua estrutura confirmada por ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H<sup>1</sup>, Varian-VXR 200 MHz).



**Figura 1.1.** Rota sintética para a obtenção do monômero ETMA.

#### 1.4.4 Formulação dos materiais

O ETMA será incorporado como aditivo de um adesivo comercialmente disponível (Scotchbond Multiuso, 3MESPE). A incorporação do monômero funcionalizado será realizada no componente hidrófobo do sistema adesivo, resultando em concentrações finais de 0,1, 1 e 10% em massa de aditivo. Como controle será utilizado o mesmo adesivo sem a adição de ETMA.

#### 1.4.5 Grau de conversão por espectroscopia no infravermelho

As diferentes preparações serão colocadas entre tiras de poliéster, com o objetivo de formar uma fina película de 6,0mm de diâmetro. Estas serão então fotoativadas por 10s cada. As amostras serão removidas cuidadosamente da película e armazenadas durante 24 horas em ambiente seco, protegido da luz e à temperatura ambiente. Em seguida serão avaliadas em um espectrofotômetro no infravermelho que utiliza a equação Transformada de Fourier (Shimadzu, FTIR 8300). O espectro será obtido através de 32 leituras com uma resolução de  $4\text{cm}^{-1}$ , no modo de transmissão. A porcentagem de ligações duplas carbono-carbono não reagidas (% C=C) será determinada pela razão da intensidade da absorbância observadas do C=C alifático (altura do pico em  $1640\text{cm}^{-1}$ ) contra um padrão interno antes e depois da polimerização do material. A intensidade de absorbância da ligação dupla carbono-carbono aromática (altura do pico em  $1610\text{cm}^{-1}$ ) será utilizada como padrão interno. O grau de conversão será determinado pela subtração  $100\% - \% \text{ C=C}$ . A equação utilizada para a obtenção do grau de conversão é descrita na Figura 1.2.

$$GC = 1 - \left( \frac{\text{absorbância (1640cm}^{-1}) / \text{absorbância (1610cm}^{-1}) \text{ polímero}}{\text{absorbância (1640cm}^{-1}) / \text{absorbância (1610cm}^{-1}) \text{ monômero}} \right) \times 100$$

**Figura 1.2.** Equação utilizada para o cálculo de grau de conversão.

Seis amostras serão avaliadas por grupo. Os resultados do grau de conversão serão submetidos à análise estatística para comparação dos grupos. Para a fotoativação dos materiais será utilizada uma unidade de fotoativação composta por uma lâmpada halógena (XL 3000, 3M ESPE). A intensidade de luz do aparelho será mensurada constantemente durante os ensaios através de um radiômetro (Model 100, Demetron). Esta intensidade deverá ser igual ou superior à 450mW/cm<sup>2</sup>.

#### **1.4.6 Copolimerização entre os monômeros metacrilatos**

Inicialmente a constituição do adesivo comercial será caracterizada por análises espectroscópicas. Para avaliar se o ETMA irá copolimerizar com os outros monômeros metacrilatos da composição, amostras cilíndricas (5,0 (±0,1)mm diâmetro x 2, (±0,1)mm de altura) serão armazenadas em CDCl<sub>3</sub> por sete dias em temperatura ambiente. Ao final deste período o solvente será analisado por RMN H<sup>1</sup> e as integrais dos assinalamentos atribuídos ao grupamento episulfeto serão quantificados se presentes.

#### **1.4.7 Resistência de união à microtração e análise do modo de fratura**

Dezesseis molares humanos hígidos, com período de extração inferior a três meses serão utilizados para esta avaliação. Após a extração os dentes serão armazenados em cloramina T 0,5% durante sete dias, sendo posteriormente transferidos para água destilada, transferidos para um freezer e mantidos congelados até seu uso. Os dentes serão distribuídos aleatoriamente entre os quatro grupos avaliados (controle, 0,1, 1 e 10% de ETMA). Depois de incluídos em resina acrílica, o esmalte oclusal será removido através de lixas de SiC com granulação número 180 montadas em politriz mecânica com abundante irrigação de água. A dentina superficial exposta receberá um polimento com lixas de SiC com granulação número 600, sob

abundante irrigação com água, no sentido de padronizar a espessura de lama dentinária formada. A superfície de dentina será inspecionada em estereomicroscópio óptico com aumento 40X para assegurar a ausência de esmalte remanescente na superfície. A dentina será condicionada com gel de ácido fosfórico a 35% (Acigel, SS White) por 15s, sendo lavada com água durante outros 15s. O excesso de água será removido com papel absorvente, tomando-se o cuidado de manter a dentina visivelmente úmida. Como primer será utilizado o produto comercial Scotchbond Primer (3MESPE, St Paul MN, EUA) que será aplicado durante 20s em toda a superfície com auxílio de um pincel descartável e receberá um jato de ar de 5s para auxiliar na evaporação do solvente. Em seguida será aplicado o componente adesivo e o material será fotoativado por 10s, sendo em seguida totalmente recoberto por um compósito restaurador (Filtek Z250, 3MESPE), que será colocado em incrementos de 1,0mm sendo cada um destes fotoativados por 20s. Serão colocados e fotoativados quatro incrementos de compósito. Após 24h de armazenagem em água destilada à 37°C, as amostras serão seccionadas em cortadeira de precisão (ISOMET 1000, Buheler). Serão realizados cortes de maneira a produzir palitos com área em sua secção transversa de 0,5mm<sup>2</sup> aproximadamente, obtendo-se entre doze e dezesseis palitos por dente. As amostras serão divididas em três períodos de avaliação: imediatamente após o corte; após 6 meses de armazenagem dos palitos em água à 37°C e após 12 meses de armazenagem em água (entre 15 e 20 palitos por grupo). Estes palitos possuirão suas áreas mensuradas uma a uma, sendo em seguida fixados em um dispositivo próprio para ensaios de microtração, com o auxílio de um adesivo à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel, Loctite). As amostras serão tracionadas a uma velocidade de 0,5mm/min até sua falha em uma máquina de ensaio mecânico (Emic DL500) com uma célula de carga de 500N. Os valores obtidos em N serão divididos pela área de cada amostra, obtendo-se assim o valor da resistência de união à microtração de cada amostra em MPa. Os dados obtidos serão submetidos à análise estatística. As amostras fraturadas correspondentes à dentina serão metalizadas e observadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) com um aumento de 100X para a determinação do modo de falha de cada amostra. As falhas serão classificadas em coesivas em adesivo, resina ou dentina, em adesiva e do tipo mistas.

#### **1.4.8 Tratamento estatístico**

O número de repetições especificados nas metodologias do estudo são os valores mais comumente utilizados na literatura. No entanto o número definitivo de repetições em cada avaliação terá como base o cálculo de amostra executado em estudos piloto prévios. De posse dos resultados dos experimentos, o método estatístico mais apropriado será escolhido com base na aderência no modelo de distribuição normal e igualdade de variâncias. Para todos os testes será considerado o valor  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo. Para a realização da análise estatística, será utilizado o programa estatístico SigmaStat 3.01.

## 1.5 REFERÊNCIAS

BERGENHOLTZ, G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v.11, n.4, p.467-480, 2000.

DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; PEUMANS, M.; POITEVIN, A.; LAMBRECHTS, P.; BRAEM, M.; VAN MEERBEEK, B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results **J Dent Res**, v.84, n.2, p.118-132, 2005.

DE SOUZA, A. P.; GERLACH, R. F.; LINE, S. R. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts **Dental Materials**, v.16, n.2, p.103-108, 2000.

DELIPERI, S.; BARDWELL, D. N.; PAPATHANASIOU, A. Effect of different polymerization methods on composite microleakage **American Journal of Dentistry**, v.16, p.73a-76a, 2003.

DEMARCO, F. F.; TARQUINIO, S. B. C.; JAEGER, M. M. M.; DE ARAUJO, V. C.; MATSON, E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents **Quintessence International**, v.32, n.3, p.211-220, 2001.

DONMEZ, N.; BELLI, S.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Ultrastructural correlates of in vivo/in vitro bond degradation in self-etch adhesives **Journal of Dental Research**, v.84, n.4, p.355-359, 2005.

FANCHON, S.; BOURD, K.; SEPTIER, D.; EVERTS, V.; BEERTSEN, W.; MENASHI, S.; GOLDBERG, M. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization **Eur J Oral Sci**, v.112, n.2, p.171-176, 2004.

GORDAN, V. V.; MJOR, I. A.; VAZQUEZ, O.; WATSON, R. E.; WILSON, N. Self-etching primer and resin-based restorative material: two-year clinical evaluation **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v.14, n.5, p.296-302, 2002.

IKEJIRI, M.; BERNARDO, M. M.; BONFIL, R. D.; TOTH, M.; CHANG, M.; FRIDMAN, R.; MOBASHERY, S. Potent Mechanism-based Inhibitors for Matrix Metalloproteinases **The Journal of Biological Chemistry**, v.280, n.40, p.33992-334002, 2005.

IRANPOOR, N.; KAZEMI, F. Cerium(IV) Catalysis: Efficient Conversion of Epoxides to Thiiranes **Synthesis**, n.07, p.821-822, 1996.

KOSHIRO, K.; INOUE, S.; TANAKA, T.; KOASE, K.; FUJITA, M.; HASHIMOTO, M.; SANO, H. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system **European Journal of Oral Sciences**, v.112, n.4, p.368-375, 2004.

NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.16, n.3, p.267-273, 1982.

NONAKA, T.; MATSUMURA, S.; OGATA, T.; KURIHARA, S. Synthesis of amphoteric polymer membranes from epithiopropyl methacrylate-butylmethacrylate-N,N-dimethylaminopropyl acrylamide-methacrylic acid copolymers and the permeation behavior of various solutes through the membranes. **Journal of Membrane Science**, v.212, p.39-53, 2003.

PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L.; CARVALHO, R. M.; ITO, S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging **Journal of Dental Research**, v.83, n.3, p.216-221, 2004.

PEUMANS, M.; KANUMILLI, P.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials **Dental Materials**, v.21, n.9, p.864-881, 2005.

ROGERS, F. E. Polymerization of monomers containing thiiran rings. **Journal of Polymer Science**, v.A3, n.7, p.2701-2703, 1965.

ROSENBLUM, G.; MEROUEH, S. O.; KLEIFELD, O.; BROWN, S.; SINGSON, S. P.; FRIDMAN, R.; MOBASHERY, S.; SAGI, I. Structural basis for potent slow binding inhibition of human matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) **Journal of Biological Chemistry**, v.278, n.29, p.27009-27015, 2003.

TJÄDERHANE, L.; LARJAVA, H.; SORSA, T.; UITTO, V.-J.; LARMAS, M.; SALO, T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **Journal of Dental Research**, v.77, n.8, p.1622-1629, 1998.

## 1.6 FINANCIAMENTO

Este projeto conta com um financiamento de R\$15.000,00 adquiridos junto ao órgão de fomento FAPERGS através do edital PROADE 3 (Processo nº. **0521064**).

## 1.7 ORÇAMENTO

Descrição	Qtde.	Custo Unit.	Total
Glicidil metacrilato	500g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
Nitrato cérico de amônio	100g	R\$ 265,00	R\$ 265,00
Tiocianato de amônio	500g	R\$ 125,00	R\$ 125,00
Álcool Isopropílico	500mL	R\$ 97,00	R\$ 97,00
Éter Etilico	500mL	R\$ 100,00	R\$ 100,00
Clorofórmio deuterado	100mL	R\$ 200,00	R\$ 200,00
BHT	1g	R\$ 60,00	R\$ 60,00
Nitrogênio líquido	10L	R\$ 2,00	R\$ 20,00
Cromatografia de camada delgada	1cx	R\$ 900,00	R\$ 900,00
Ressonância magnética	6 análises	R\$ 100,00	R\$ 600,00
Infravermelho FTIR	30 análises	R\$ 80,00	R\$ 2400,00
Cromatografia gasosa	2 análises	R\$ 80,00	R\$ 160,00
Microscopia eletrônica de varredura	12 horas	R\$ 30,00	R\$ 360,00
Vidraria de laboratório	-	-	R\$ 500,00
Gel de cianoacrilato	4 un	R\$ 10,00	R\$ 40,00
Disco diamantado de corte	1 un	R\$ 1600,00	R\$ 1600,00
Sistema adesivo comercial	2 kits	R\$ 120,00	R\$ 240,00
Lixas metalográficas	30 un	R\$ 1,00	R\$ 30,00
Resina acrílica	1 kit	R\$ 20,00	R\$ 20,00
Cartucho de tinta – impressora	1 un	R\$ 100,00	R\$ 100,00
Folhas A4	2x100	R\$ 5,00	R\$ 10,00
Impressão da Dissertação	8 un	R\$ 50,00	R\$ 200,00
Apresentação no GBMD 2005 e 2006	-	-	R\$ 1200,00
Revisão de Inglês	1 revisão	R\$ 200,00	R\$ 200,00
		<b>Total</b>	<b>R\$ 10.650,00</b>

**Figura 1.3** Orçamento previsto para a viabilização do projeto.

## **1.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

Segue no Anexo 1 o parecer do Comitê de Bioética na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

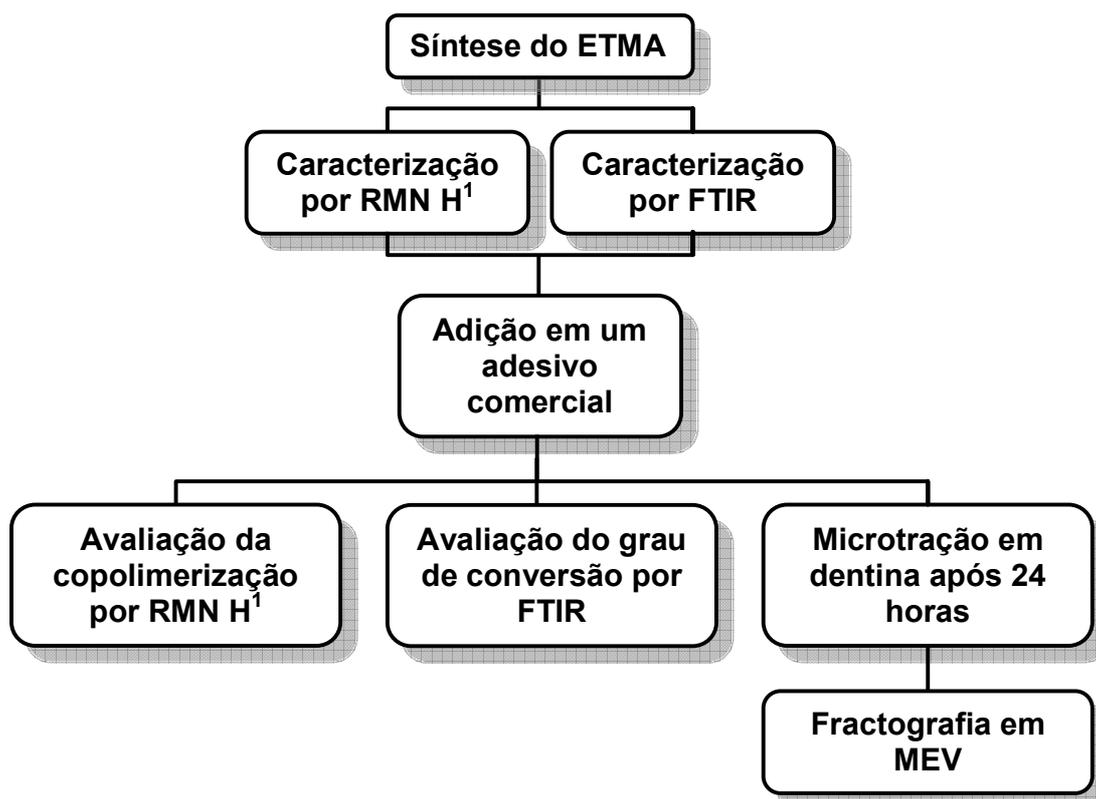
## 1.9 CRONOGRAMA

<b>Período</b>	<b>Revisão da Literatura</b>	<b>Treinamento em Laboratório</b>	<b>Fase Experimental</b>	<b>Organização de Resultados e Estatística</b>	<b>Apresentação em Eventos</b>	<b>Submissão para Publicação</b>	<b>Qualificação</b>	<b>Redação da Dissertação</b>	<b>Defesa da Dissertação</b>
Março-05	x								
Abril-05	x	x	x						
Maio-05			x						
Junho-05			x	x					
Julho-05			x		x				
Agosto-05			x						
Setembro-05			x	x					
Outubro-05						Artigo n. 1 - Journal of Dentistry			
Novembro-05	x		x	x		Correções no artigo solicitadas por revisores.			
Dezembro-05						Artigo n. 1 aceito.			
Janeiro-06	x								
Fevereiro-06	x								
Março-06	x								
Abril-06			x						
Maio-06			x	X			x	x	
Junho-06						Artigo n. 2 - J. Biom. Mat. Res.		x	
Ago/Out-06					x			x	
Novembro-06									x

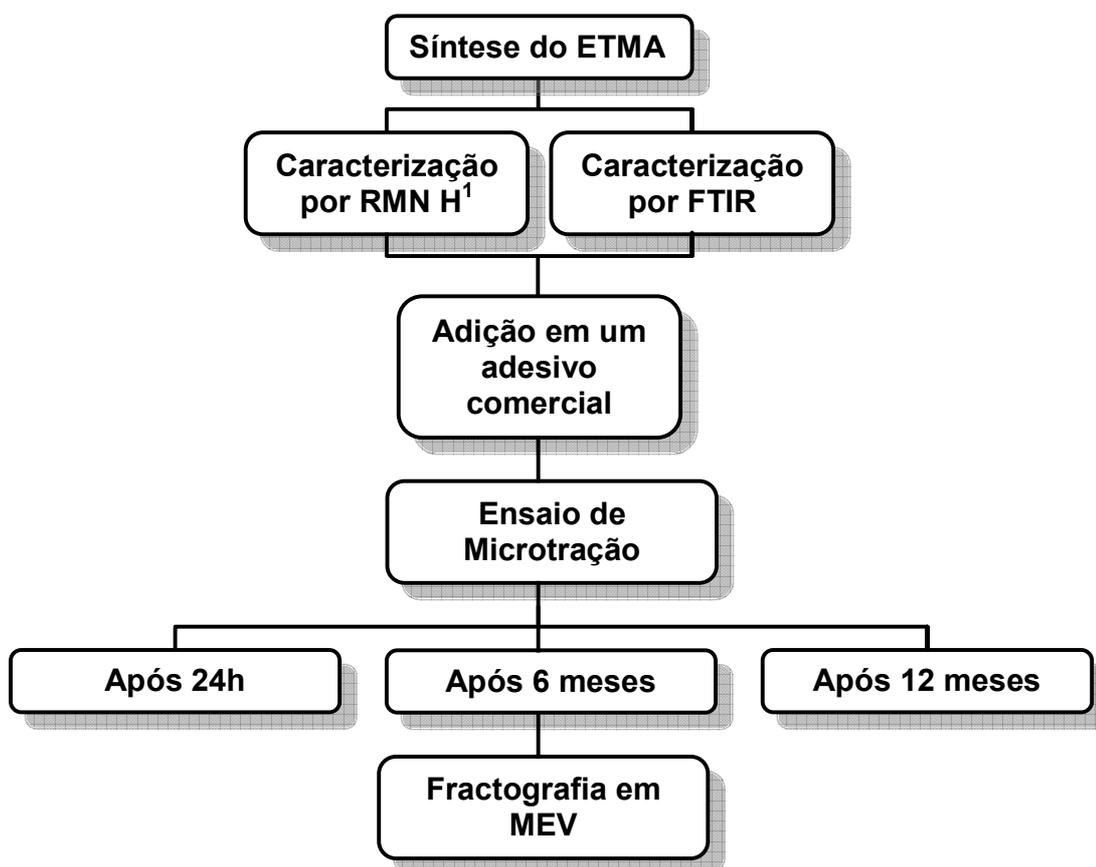
Figura 1.4 Cronograma de atividades do mestrando.

## 1.10 APÊNDICES

## APÊNDICE A – Organograma correspondente ao Artigo 1.



**Nota:** Este artigo foi submetido ao periódico Journal of Dentistry sendo aceito para publicação em Dezembro de 2005.

**APÊNDICE B – Organograma correspondente ao Artigo 2.**

**Nota:** Este artigo será submetido ao periódico Journal of Biomedical Materials Research.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº 32/05  
REF. PROTOCOLO DE PESQUISA Nº 30/05

Com base no parecer do relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa "Síntese de um novo adesivo dentinário utilizando um monômero funcionalizado experimental", de responsabilidade do Professor Dr Evandro Piva.

Pelotas, 12 de agosto de 2005

  
Profª Dra. Maria Laura Menezes Bonow  
Coordenadora do CEP-FO-UFPeI

Obs.: Retirar formulário para relatório na Secretaria do CEP.

**2 ARTIGO n.º 1 \***

**Título: 2,3-epitiopropil metacrilato como monômero funcionalizado em um adesivo odontológico.**

**English title: 2,3-epithiopropyl methacrylate as functionalized monomer in a dental adhesive.**

**Fabício Aulo Ogliari<sup>a§</sup>, Marli L. T. Sordi<sup>b</sup>, Marco Antônio Ceschi<sup>b</sup>, Cesar Liberato Petzhold<sup>b</sup>, Flávio Fernando Demarco<sup>a</sup>, Evandro Piva<sup>a</sup>**

**<sup>a</sup> Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDC-Bio), Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil**

**<sup>b</sup> Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal do rio Grande do Sul, RS, Brasil**

**§ Autor para correspondência: CDC-Bio, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas. Rua Gonçalves Chaves, 457, Pelotas, RS, Brasil. CEP: 96015-560. Tel/Fax: +55-53-3222-6690.**

**E-mail: ogliari@gmail.com (Fabício A. Ogliari)**

**\* Artigo formatado segundo normas do periódico Journal of Dentistry. Publicado em 2006 como: 2,3-epithiopropyl methacrylate as functionalized monomer in a dental adhesive. *Journal of Dentistry* 34(7):472-477.**

## Resumo

*Objetivo:* O objetivo deste estudo foi investigar novos adesivos dentinários formulados com o monômero 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA).

*Métodos:* A síntese e a caracterização do ETMA foram realizadas. Resinas adesivas com diferentes concentrações de ETMA (0,1, 1 e 10% em massa) foram formuladas. Para comparação controles sem ETMA e com a adição de GMA foram utilizados. Análise em FTIR foi utilizada para verificar o grau de conversão. A copolimerização entre os monômeros foi investigada por espectroscopia RMN H<sup>1</sup>. Para investigar as propriedades imediatas dos adesivos experimentais, a resistência de união à microtração e a análise de fratura em MEV foram estudadas.

*Resultados:* ETMA foi sintetizado com um rendimento quantitativo de 90% em uma rota sintética de uma etapa. O grau de conversão das resinas experimentais e controles não foram significativamente diferentes. Diferentes monômeros demonstraram capacidade de copolimerização ente si, não apresentando traços de liberação de ETMA nos grupos de 0,1 e 1%. Os adesivos contendo ETMA apresentaram valores de resistência de união significativamente maiores que o grupo controle sem ETMA ( $p < 0.05$ ).

*Conclusão:* A adição do ETMA em um adesivo dentinário determinou um aumento na resistência de união sem prejudicar as outras propriedades avaliadas.

**Palavras chave:** agente de união; derivados do bisfenol A; adesão; copolímero; monômero; fotopolimerização

## Introdução

Resinas de baixa viscosidade à base de monômeros metacrilatos são amplamente utilizadas na Odontologia como adesivos que unem materiais restauradores aos tecidos dentais. O mecanismo de ação destes agentes em esmalte e dentina pode ser explicado pela difusão de monômeros em porosidades criadas pela prévia desmineralização do substrato. Após polimerizados, um embricamento micromecânico é formado entre a resina adesiva e os tecidos dentais e esta zona de interdifusão é chamada de camada híbrida.<sup>1</sup> Esta interface precisa de um selamento eficiente, de modo a proteger a dentina do contato direto com o meio oral reduzindo assim as possibilidades de infiltração marginal, injúria pulpar e até a própria perda da restauração.<sup>2,3</sup> Valores elevados de resistência de união do sistema adesivo com o substrato dental são necessários para contrapor as tensões geradas pela contração de polimerização do compósito restaurador<sup>4</sup> e também pelos esforços mastigatórios. Adicionalmente é desejável a manutenção dos valores de união entre o material adesivo e o dente ao longo do tempo e esse fator é crítico para a longevidade das restaurações.<sup>5</sup>

Apesar da grande evolução ocorrida em adesivos odontológicos, como os sistemas adesivos autocondicionantes avaliações *in vivo* e *in vitro* mostram que a durabilidade da interface ainda é um problema.<sup>5-7</sup> Essa falta de estabilidade dos adesivos dentinários é explicada pela degradação dos dois principais constituintes da camada híbrida: o polímero e as fibras de colágeno.

Atualmente as composições de adesivos odontológicos são em sua maioria baseadas em uma mistura de dimetacrilatos hidrófobos e metacrilatos hidrófilos, sendo mais recentemente a participação de monômeros fosforados na composição dos materiais. Para iniciar a polimerização destes sistemas sob irradiação, um sistema iniciador composto de um fotoiniciador e uma amina como co-iniciador têm sido utilizado. O sistema monomérico e de iniciadores precisam atender um número de requerimentos básicos, como um baixo potencial tóxico<sup>8</sup>, estabilidade e compatibilidade com os tecidos dentais duros. Conseqüentemente, propriedades como grau de conversão, eficiência de

copolimerização entre diferentes monômeros e solubilidade de componentes são características relevantes a serem consideradas.

Monômeros funcionalizados do tipo metacrilatos com um grupo heterociclo como substituinte, tem dois sítios reativos independentes para iniciar a polimerização. Eles podem polimerizar pela geração de radicais livres, através da ligação vinílica do grupamento metacrilato ou também através de uma polimerização iônica, ocorrida pela abertura do anel heterociclo resultando em polímeros com propriedades diferenciadas.. Além da obtenção de polímeros mais estáveis, com propriedades físico-mecânicas melhoradas, a reação de abertura de anel torna o monômero altamente reativo.<sup>9</sup>

Existe a possibilidade da funcionalização de um monômero metacrilato pela conversão do grupo epóxido do metacrilato de glicidila (GMA) por um grupamento episulfeto. O resultado da substituição deste grupamento é a formação do 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA). Atualmente, o ETMA vem sendo pesquisado na área das ciências de membranas, na síntese de membranas anfóteras, melhorando suas propriedades.<sup>10</sup> Esta molécula nunca foi utilizada na constituição de adesivos dentinários, mas o uso de outros monômeros tirana como o 4,5-epitiopentil metacrilato e o 9,10-epitiodecil metacrilato demonstraram aumentar a resistência de união de resina acrílica quimicamente ativada a ligas metálicas nobres.<sup>11</sup> O objetivo da presente investigação foi desenvolver uma nova mistura de comonômeros para ser utilizada como um adesivo dentinário, usando o ETMA como agente reativo. A síntese do ETMA, o grau de conversão, a avaliação da copolimerização e papel do ETMA na resistência de união à microtração foram realizados.

## **Materiais e métodos**

### **Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato**

Em um balão de 250mL acoplado à um condensador de refluxo. 10g de glicidil metacrilato 97% (GMA, Sigma-Aldrich) foram dissolvidos em 80mL de éter etílico (Synth) e 20mL de álcool iso-propílico (Nuclear). Adicionalmente, 5,9g de tiocianato de amônio (Nuclear) foram adicionados, seguido por 0,5g de nitrato cérico de amônio (CAN, Vetec). O meio reacional foi misturado por agitação magnética em temperatura ambiente, tendo a conversão dos reagentes em produto acompanhada por cromatografia de camada delgada. Ao fim da reação (aproximadamente 6h) o conteúdo do balão foi filtrado em papel filtro e funil para remoção dos sólidos presentes. Foi adicionado neste momento 10mg de BHT e o solvente removido em um rotavapor Bucchi. O produto concentrado foi destilado com auxílio de alto vácuo, a pureza verificada por cromatografia gasosa e o produto teve seu rendimento quantificado e sua estrutura confirmada por ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H<sup>1</sup>, Varian-VXR 200 MHz). A pureza foi confirmada por cromatografia gasosa (Shimadzu GC-17A Gás Cromatograph equipado com um detector FID).

### **Formulação dos materiais**

O ETMA foi incorporado como aditivo de um adesivo comercialmente disponível (Scotchbond Multiuso, 3MESPE – Lote: 4NR 2007-02) à base de 2,2-bis[4-(2-hidroxi-3-metacrilóiloxipropil)fenil]propano (Bis-GMA) e 2-hidroxietil metacrilato (HEMA). A relação entre estes dois constituintes do adesivo comercial foi previamente caracterizada por ressonância magnética nuclear (RMN H<sup>1</sup>, Varian-VRX at 200 MHz), obtendo-se uma relação de Bis-GMA:HEMA de 67:33 em massa. A incorporação do monômero funcionalizado foi realizada no componente hidrófobo do sistema adesivo, resultando em concentrações finais de 0,1, 1 e 10% em massa de aditivo. Como controle foi utilizado o mesmo adesivo, porém sem a adição de ETMA. Adicionalmente um grupo com 1% de

GMA foi realizado para avaliar a influência desse precursor do ETMA na resistência de união à microtração.

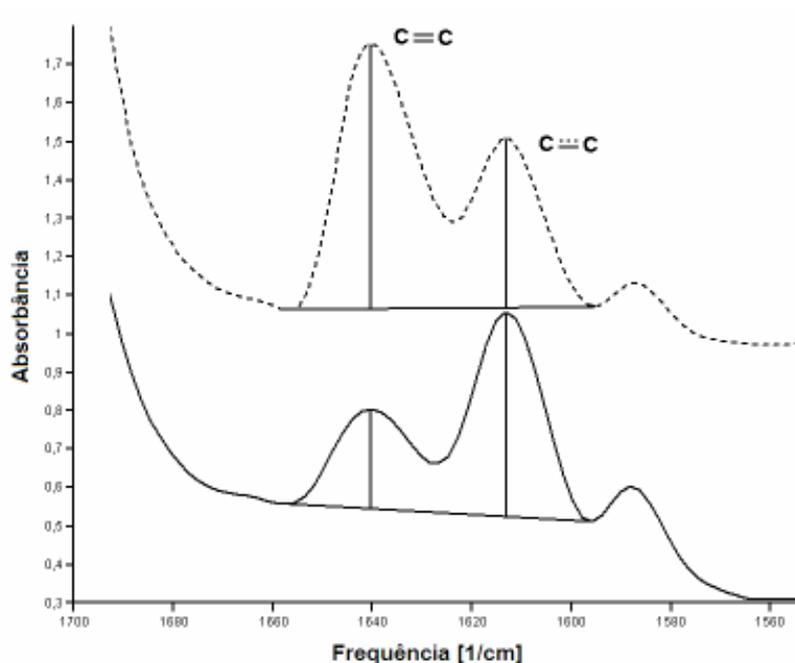
### **Copolimerização entre os monômeros metacrilatos**

Para avaliar a capacidade do ETMA em formar um copolímero com o sistema Bis-GMA/HEMA, amostras cilíndricas (5,0 ( $\pm 0,1$ )mm diâmetro x 2, ( $\pm 0,1$ )mm de altura) foram preparadas. Para uma polimerização homogênea, os corpos de prova foram fotoativados por 20s na superfície de base e topo (Curing Light XL 3000, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA). Uma intensidade de luz de  $550\text{mW/cm}^2$  foi utilizada, mensurada com um radiômetro (Model 100, Demetron, Danbury, CT, EUA). As amostras foram armazenadas em frascos com  $\text{CDCl}_3$  que foram herméticamente selados. Após sete dias em temperatura ambiente o solvente contendo o eludato foi analisado por RMN  $\text{H}^1$  e a região dos assinalamentos atribuídos ao grupamento episulfeto avaliadas.

### **Grau de conversão por espectroscopia no infravermelho**

As diferentes preparações foram colocadas entre tiras de poliéster, com o objetivo de formar uma fina película de 8,0mm de diâmetro. Estas foram então fotoativadas por 10s cada. As amostras foram removidas cuidadosamente da película com auxílio de um bisturi cirúrgico e armazenadas durante 24 horas em ambiente seco, protegido da luz e à temperatura ambiente. Em seguida foram avaliadas em um espectrofotômetro no infravermelho que utiliza a equação Transformada de Fourier (Shimadzu, FTIR 8300). O espectro foi obtido através de 32 leituras com uma resolução de  $4\text{cm}^{-1}$ , no modo de transmissão. A porcentagem de ligações duplas carbono-carbono não reagidas (% C=C) foi determinada pela razão da intensidade da absorbância observadas do C=C alifático (altura do pico em  $1640\text{cm}^{-1}$ ) contra um padrão interno antes e depois da polimerização do material. A intensidade de absorbância da ligação dupla carbono-carbono aromática (altura do pico em  $1610\text{cm}^{-1}$ ) foi utilizada como padrão interno (Figura 2.1). O grau de conversão foi determinado pela subtração de  $100\% - \% \text{C=C}$ . Seis amostras foram avaliadas por grupo. Os resultados do grau de conversão foram submetidos à análise estatística para comparação dos

grupos usando ANOVA segundo um critério, em um nível de significância previamente ajustado de 0,05.



**Figura 2.1.** Espectro FTIR das absorbâncias alifáticas ( $1640\text{cm}^{-1}$ ) e aromáticas ( $1610\text{cm}^{-1}$ ) das resinas não polimerizadas (---) e polimerizadas (—).

### **Resistência de união à microtração e análise do modo de fratura**

Vinte molares humanos hígidos, com período de extração inferior a três meses foram utilizados para esta avaliação. Os dentes foram coletados após consentimento informado dos pacientes, sob um protocolo de pesquisa (número 30/05), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (documento número 32/05).

Após a extração os dentes foram armazenados em cloramina T 0,5% durante sete dias, sendo posteriormente transferidos para água destilada e congelados em um freezer até seu uso. Os dentes foram distribuídos

aleatoriamente entre os cinco grupos avaliados (controle, 0,1, 1, 10% de ETMA e 1% de GMA) . Depois de incluídos em resina acrílica, o esmalte oclusal foi removido em um desgastador de modelos de gesso para a formação de uma superfície dentinária coronária plana e de profundidade rasa. A dentina superficial exposta recebeu um polimento com lixas de SiC com granulação número 600, sob abundante irrigação com água, no sentido de padronizar a espessura de lama dentinária formada. A dentina foi condicionada com gel de ácido fosfórico a 35% (Acigel, SS White) por 15s, sendo lavada com água durante outros 15s. O excesso de água foi removido com papel absorvente, tomando-se o cuidado de manter a dentina visivelmente úmida. Como primer foi utilizado o produto comercial Scotchbond Primer (3MESPE, St Paul MN, EUA – Lote 4AM 2007-03) que foi aplicado durante 20s em toda a superfície com auxílio de um pincel descartável e recebeu um jato de ar de 5s para auxiliar na evaporação do solvente. Em seguida foi aplicado o componente adesivo e o material foi fotoativado por 10s (Curing Light XL 3000), sendo em seguida totalmente recoberto por dois incrementos de um compósito restaurador (Filtek Z250, 3MESPE), sendo cada um destes fotoativados por 20s. Após 24h de armazenagem em água destilada à 37°C, as amostras foram seccionadas em cortadeira de precisão (ISOMET 1000, Buehler). Foram realizados cortes de maneira a produzir palitos com área em sua secção transversa de 0,5mm<sup>2</sup> aproximadamente. Estes palitos foram fixados em um dispositivo próprio para ensaios de microtração, com o auxílio de um adesivo à base de cianocrilato (Super Bonder Gel, Loctite). As amostras foram tracionadas a uma velocidade de 0,5mm/min até sua falha em uma máquina de ensaio mecânico (Emic DL500). Os dados obtidos foram analisados por ANOVA segundo um critério e pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, com um nível de significância de 0,05.

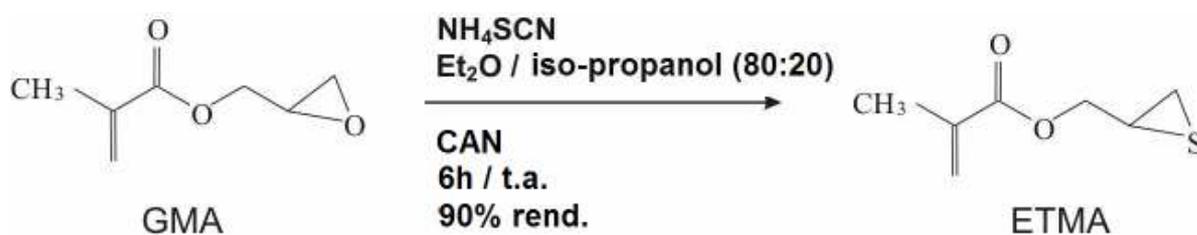
As amostras fraturadas correspondentes à dentina foram desidratadas em sílica gel por 24h em um dessecador em temperatura ambiente. Todos os corpos de prova (n=100) foram cobertos com ouro, observados em microscópio eletrônico de varredura (MEV - Jeol, JSM-6060) com um aumento de 100X e foram classificados conforme o seu padrão de fratura: na interface adesiva,

coesiva no adesivo, ou falha mista quando da ocorrência entre estes dois últimos.

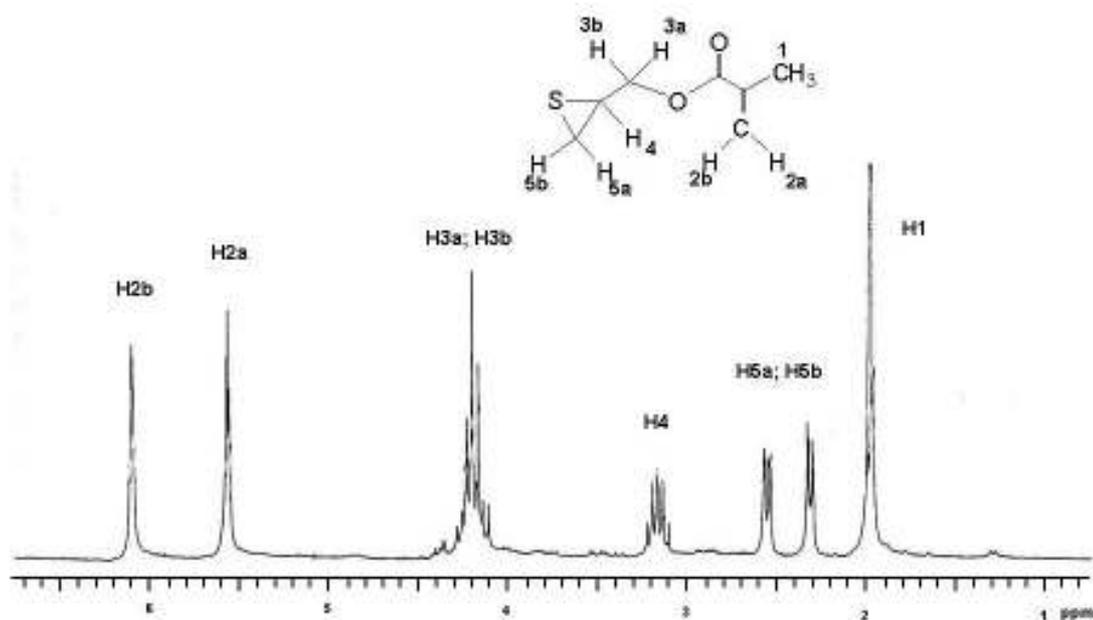
## Resultados

### Síntese e caracterização do ETMA

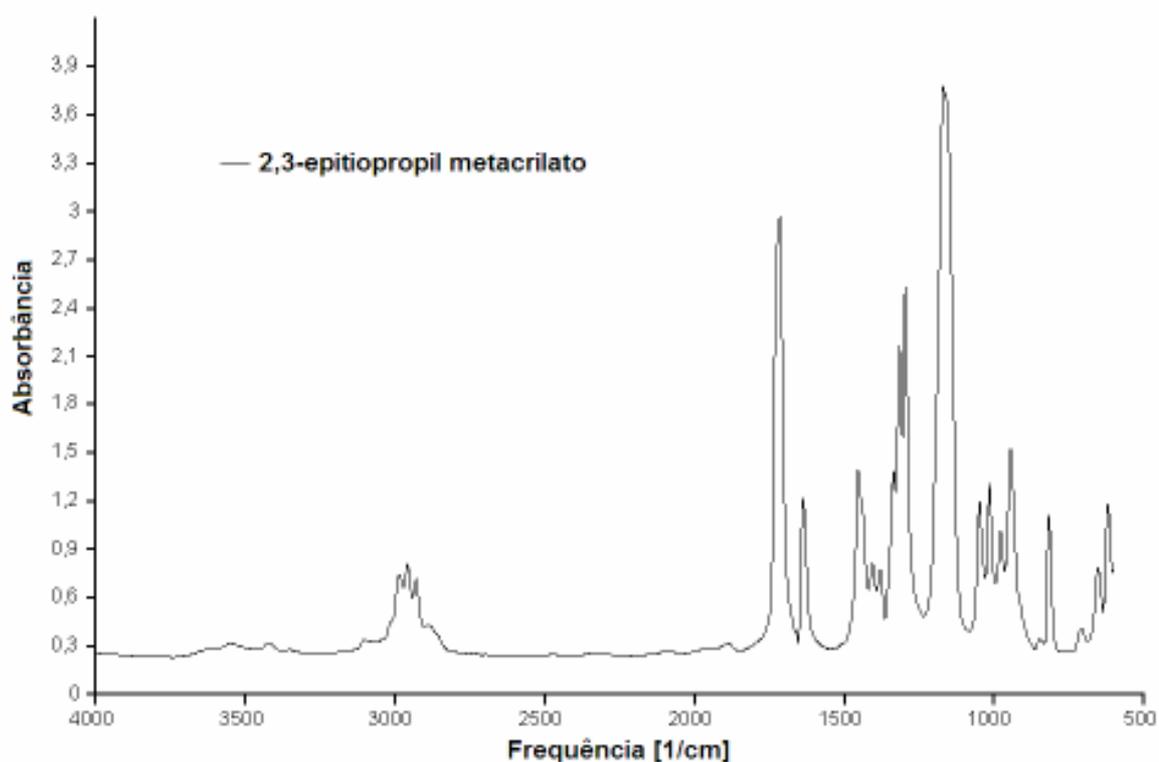
Depois de 6h de reação, a total conversão do produto de partida foi observada. O produto de reação 2,3-epitiopropil metacrilato foi quantificado em 9,0g, rendimento de 90% (Figura 2.2). Na Figura 2.3 é apresentado o espectro RMN  $H^1$  e os assinalamentos respectivos a cada ressonância. Na Figura 2.4 o espectro do monômero ETMA obtido é mostrado.



**Figura 2.2.** Esquema da reação de conversão do epóxido para o grupo episulfeto em um monômero metacrilato.



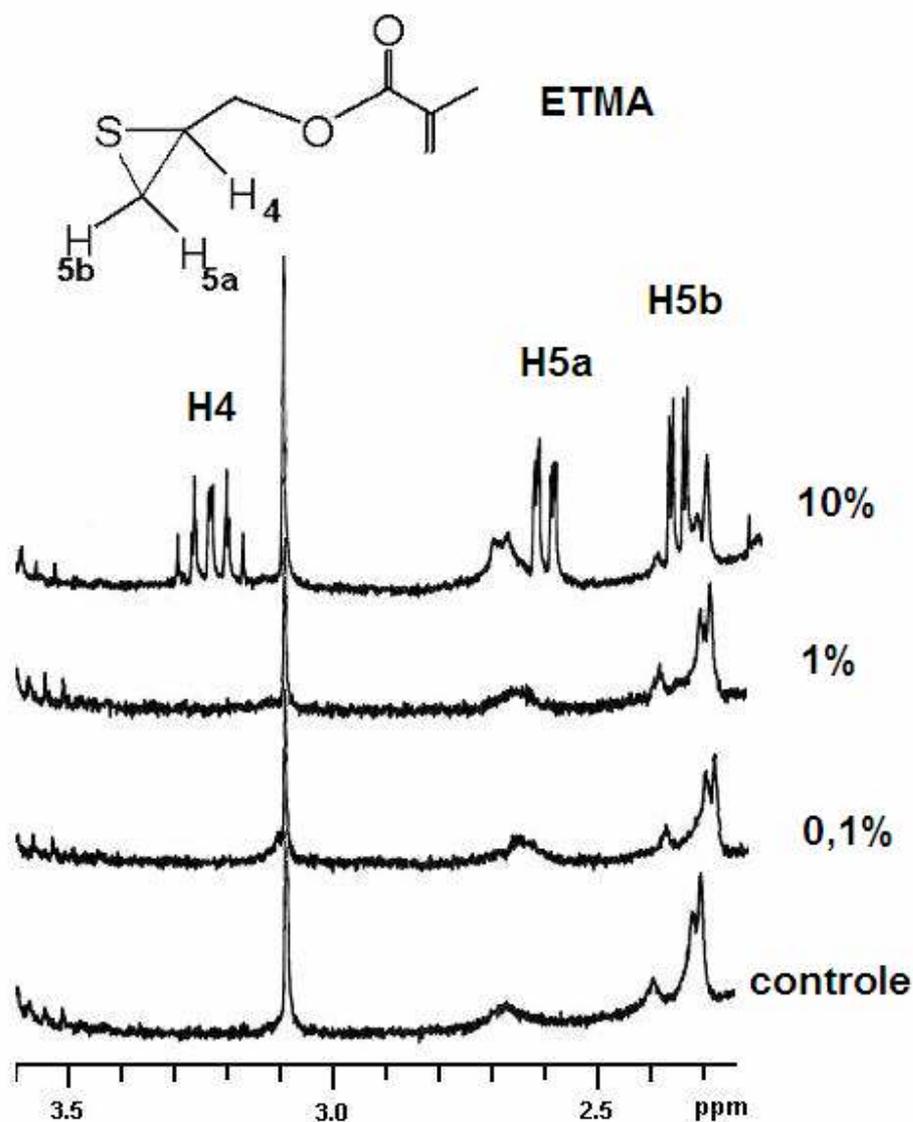
**Figura 2.3.** Espectro de RMN  $H^1$  do monômero 2,3-epitiopropil metacrilato e os respectivos assinalamentos para cada ressonância (200 MHz,  $CDCl_3$ ).



**Figura 2.4.** Caracterização por FTIR do monômero ETMA (disco de NaCl).

### **Copolimerização do sistema polimérico**

Os resultados de copolimerização obtidos pela análise em RMN  $H^1$  são demonstrados na Figura 2.5. Quando armazenados em  $CDCl_3$ , os polímeros com adição de 0,1% e 1% de ETMA não apresentaram evidência de liberação de traços do monômero funcionalizado no solvente. No entanto, com 10% de ETMA, o espectro evidenciou deslocamentos relativos ao grupamento episulfeto em  $\delta$  2.4, 2.6 e 3.2 ppm. Estes achados demonstram a presença de monômeros não reagidos no  $CDCl_3$ , que não participaram na formação do polímero.



**Figura 2.5.** Espectro de RMN  $H^1$  do eludato relativo ao grupo controle e grupos experimentais com diferentes concentrações de ETMA (solvente  $CDCl_3$ ).

### Grau de conversão

A Tabela 2.1 apresenta o grau de conversão das películas finas avaliadas. A avaliação em FTIR sugere que a presença de ETMA, nas diferentes concentrações, não influenciou o grau de conversão, segundo a análise estatística realizada ( $p > 0,05$ ).

### Resistência de união à microtração

As médias de resistência de união à microtração e desvios padrões são mostrados na Tabela 2.1. Nenhuma amostra fraturou prematuramente, ou seja, antes do ensaio propriamente dito. A análise de variância demonstrou que a composição do adesivo foi um fator significativo para resistência de união. Independentemente da concentração, comonômeros contendo ETMA e GMA, determinaram maiores valores de resistência de união à microtração, como demonstrado pelo teste de Tukey ( $p < 0,001$ ). Os adesivos experimentais não diferiram significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 2.1**  
**Resultados de grau de conversão e resistência de união à microtração.**

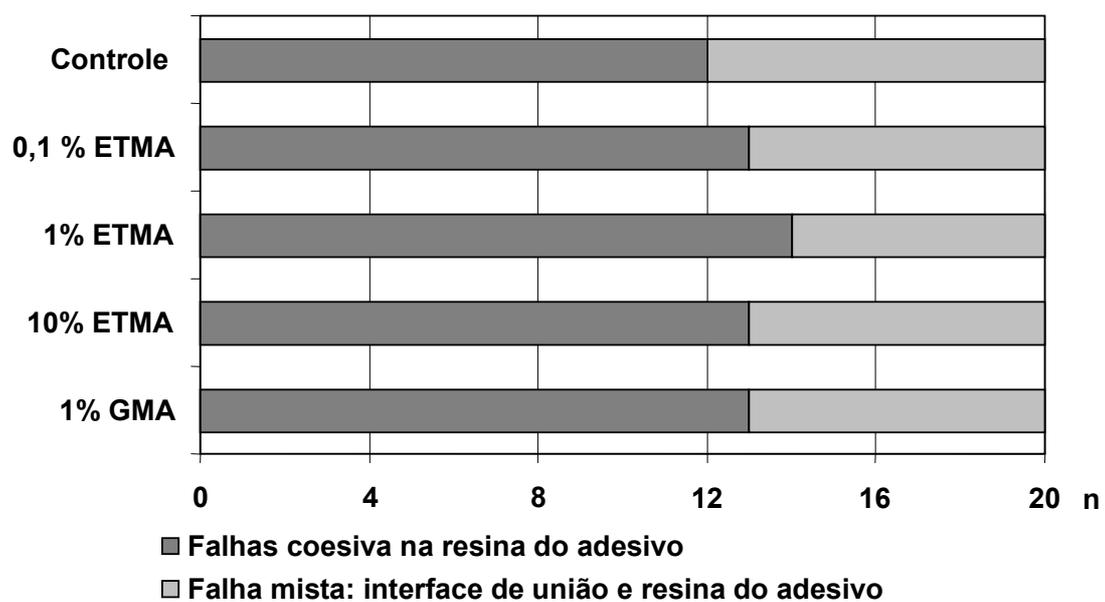
	Grau de conversão*		Resistência de união	
	Medias (d.p.) %	n= 6	médias (d.p.) MPa	n = 20
<b>Controle (sem ETMA)</b>	63,3 (± 4,8)		32,6 (± 7,6) <sup>a</sup>	
<b>0,1% - ETMA</b>	62,6 (± 4,8)		43,1 (± 9,5) <sup>b</sup>	
<b>1% - ETMA</b>	66,8 (± 3,0)		48,5 (± 11,2) <sup>b</sup>	
<b>10% - ETMA</b>	63,5 (± 1,9)		48,8 (± 12,9) <sup>b</sup>	
<b>1% - GMA</b>	64,3 (± 2,7)		45,5 (± 13,1) <sup>b</sup>	

\* Sem diferença estatisticamente significante ( $p > 0,05$ )

Grupos identificados por letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ( $p < 0,001$ ).  
d.p. = desvio padrão

### Análise de fratura

A distribuição dos padrões de fratura está descrita na Figura 2.6. A análise das superfícies fraturadas durante o teste de resistência de união à microtração revelou o predomínio de falhas coesivas no adesivo além de falhas do tipo mista. Falhas inteiramente na interface adesiva ou falhas coesivas em dentina, não ocorreram.



**Figura 2.6.** Distribuição dos padrões de falha como observados por microscopia eletrônica de varredura. Falhas totalmente na interface de união, não ocorreram.

## Discussão

A síntese do ETMA através da conversão do GMA com tiouréia em etanol e água foi descrita previamente<sup>12</sup>, mas os rendimentos obtidos foram consideravelmente baixos, em torno de 34%. Iranpoor e Kazemi em 1997<sup>13</sup> descreveram a conversão de diferentes epóxidos em episulfetos na presença de  $\text{NH}_4\text{SCN}$  e ácido de Lewis com rendimentos maiores que 85%. No entanto, nenhum dos epóxidos avaliados possuía a função metacrilato na molécula. Usando nitrato de amônio cérico como ácido de Lewis, este estudo pela primeira vez obteve ETMA através do GMA com o alto rendimento de 90%. Os altos rendimentos possíveis com esta rota sintética reduzem o custo do ETMA, tornando o produto viável comercialmente. Evidência de que a síntese do ETMA foi possível sem a abertura do anel episulfeto está presente pelas ressonâncias expressadas e assinaladas como H4, H5a e H5b no RMN  $\text{H}^1$  (Figura 2.3). A polimerização iônica determinaria o desaparecimento dessas ressonâncias. Os espectros FTIR do monômero ETMA (Figura 2.4) apresenta picos característicos em  $1718\text{cm}^{-1}$  e  $1610\text{cm}^{-1}$ , correspondendo respectivamente à carbonila do éster e à ligação dupla carbono-carbono alifática.

O desenvolvimento do adesivo dentinário experimental através da adição de ETMA foi realizado e pressão atmosférica, sem a necessidade do uso de solventes. Homopolímeros de ETMA obtidos através de polimerização radicalar foi previamente demonstrada<sup>9</sup>, mas a sua copolimerização com outros monômeros ainda não havia sido descrita. Este estudo conduz à evidência da possibilidade de copolimerização do ETMA com dois monômeros regularmente utilizados em Odontologia na composição de adesivos dentinários.

O desempenho da maior parte dos adesivos em avaliações *in vitro* a curto prazo, é atualmente considerado aceitável<sup>14</sup>. No entanto, quando avaliações longitudinais são realizadas, a efetividade da união é crítica.<sup>15,16</sup> Dois mecanismos são propostos para explicar esse comportamento. Uma teoria gera em torno da degradação do colágeno da camada híbrida por metaloproteases da matriz (MMPs). Estas são enzimas proteolíticas derivadas do próprio hospedeiro,

presentes no tecido dentinário<sup>17</sup> e potencialmente ativadas e liberadas lentamente ao longo do tempo afetando a interface resina-dentina.<sup>18</sup> Pouca informação está disponível até o momento sobre a real contribuição das MMPs na degradação da união dentinária ao longo do tempo.

Outro importante mecanismo que explica a redução na capacidade de união são as possíveis alterações que acontecem no adesivo dentinário. Uma vez que as propriedades mecânicas da camada híbrida tem um papel fundamental nos valores de resistência de união<sup>19,20</sup> a durabilidade da interface resina-dentina está correlacionada com a durabilidade desses componentes. Na realidade, propriedades mecânicas inferiores dos componentes de um adesivo foram demonstradas quando estes foram armazenados por 1 ano em água.<sup>21</sup> Uma possível explicação para isso é o inchamento do polímero e a dissolução de alguns componentes. Apesar da eficiência da água como solvente desses polímeros ser baixa, ela é capaz de atuar na estrutura polimérica, promovendo o inchamento da matriz seguido pelo desentrelaçamento da cadeia, potencializando a dissolução do polímero.<sup>22</sup> Assim, a manutenção da interface resina-dentina depende da estabilidade da resina do adesivo em água.

Além da influência nas propriedades mecânicas, a densidade de ligações cruzadas em um polímero pode determinar também a capacidade deste em resistir ao ataque por solventes.<sup>23,24</sup> Ainda, o grau de conversão de ligações duplas carbono-carbono pode influenciar a estabilidade à longo prazo do polímero assim como a biocompatibilidade no ambiente oral. Monômeros metacrilatos não polimerizados como o Bis-GMA, o trietilenoglicol dimetacrilato (TEGDMA), o uretano dimetacrilato (UDMA) e o HEMA, mesmo em baixas concentrações resultam na citotoxicidade em cultura de células<sup>25,26</sup> e tem efeitos negativos quando aplicados diretamente sobre o órgão pulpar humano.<sup>8</sup> Em uma investigação utilizando células de uma linhagem imortalizada de odontoblastos de ratos MDPC-23, mais toxicidade foi observada quando agentes de união não polimerizados foram aplicados nas células ao invés de materiais polimerizados, provocando uma dramática alteração morfológica observada em MEV.<sup>27</sup> Com um maior grau de conversão, um material mais biocompatível é

esperado devido a redução de monômeros não polimerizados. Adicionalmente, a compatibilidade entre diferentes monômeros no sistema adesivo, verificado pela copolimerização dos monômeros, pode evitar a liberação de monômeros e oligômeros imiscíveis ao ambiente oral. No presente estudo, a análise em FTIR não demonstrou qualquer influência do ETMA no grau de conversão das blendas avaliadas. Nenhuma informação está disponível a respeito da biocompatibilidade do ETMA e este tópico está atualmente em discussão e avaliação em nosso laboratório.

Tem sido observado que a resina do adesivo é o elo mais fraco da interface resina-dentina<sup>19</sup> fato esse que foi corroborado com a predominância de falhas coesivas observada no presente estudo. Alterações nas propriedades mecânicas da resina do adesivo podem influenciar diretamente a resistência de união.

Neste estudo, uma modificação foi realizada em um adesivo convencional de três passos, com a resina adesiva contendo um monômero hidrófobo com um sítio reativo baseado no heterociclo episulfeto. Esta abordagem foi escolhida baseada na possibilidade de interações entre o episulfeto e o primer utilizado que apresenta um pH relativamente baixo. Em condições específicas a abertura do anel contendo o heteroátomo enxofre pode ocorrer, promovendo a ligação cruzada de moléculas lineares.<sup>9</sup> A abertura do episulfeto pode ocorrer através de radiação ultravioleta, aquecimento e quando o mesmo é exposto a um pH ácido.<sup>9,28</sup> A incorporação do ETMA em membranas trocadoras de íons aumenta as propriedades mecânicas destas em função do aumento do entrecruzamento das suas moléculas lineares.<sup>29</sup> O primer do Scotchbond tem um baixo pH (pH=3.3) devido à presença do copolímero resultante da polimerização do ácido acrílico e ácido itacônico. Quando uma resina hidrófoba contendo ETMA ou GMA foi aplicada sobre o primer, provavelmente a abertura do heterociclo (episulfeto ou epóxido) ocorreu. Este evento é colocado como hipótese principal para explicar o aumento na resistência de união quando comparado com o grupo controle (Tabela 2.1). Se essa reação ocorreu, uma interface adesiva mais estável pode ser esperada. Investigações adicionais desses novos biomateriais

à respeito da densidade de ligações cruzadas *in situ* precisa ser realizada pra confirmar ou rejeitar essa hipótese. Além disso, o efeito da incorporação do ETMA em uma avaliação longitudinal de resistência de união está sob investigação.

**Conclusão**

ETMA foi facilmente obtido no laboratório com alto rendimento quantitativo, e sua adição como componente de um adesivo dentinário demonstrou ser promissora, aumentando a resistência de união à dentina.

**Agradecimentos**

Nós gostaríamos de agradecer ao Dr. John M. Powers, pelas sugestões durante a preparação do manuscrito. F.A.O. e M.L.T.S. são gratos à CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, Brasil) pela bolsa de estudos.

## Referências

1. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research* 1982;**16**:267-273.
2. Bergenholtz G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 2000;**11**:467-480.
3. Gordan VV, Mjor IA. Short- and long-term clinical evaluation of post-operative sensitivity of a new resin-based restorative material and self-etching primer. *Operative Dentistry* 2002;**27**:543-8.
4. Deliperi S, Bardwell DN, Papathanasiou A. Effect of different polymerization methods on composite microleakage. *American Journal of Dentistry* 2003;**16**:73a-76a.
5. Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *European Journal of Oral Sciences* 2004;**112**:368-75.
6. Donmez N, Belli S, Pashley DH, Tay FR. Ultrastructural correlates of in vivo/in vitro bond degradation in self-etch adhesives. *Journal of Dental Research* 2005;**84**:355-359.
7. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials* 2005;**21**:864-81.

8. Demarco FF, Tarquinio SBC, Jaeger MMM, de Araujo VC, Matson E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents. *Quintessence International* 2001;**32**:211-220.
9. Egawa H, Ishikawa M, Tsunooka M, Ueda T, Tanaka M. Photocrosslinking of poly(2,3-epithiopropyl methacrylate) film with 254 nm irradiation. *Journal of Polymer Science* 1983;**21**:479-486.
10. Nonaka T, Matsumura S, Ogata T, Kurihara S. Synthesis of amphoteric polymer membranes from epithiopropyl methacrylate-butylmethacrylate-N,N-dimethylaminopropyl acrylamide-methacrylic acid copolymers and the permeation behavior of various solutes through the membranes. *Journal of Membrane Science* 2003;**212**:39-53.
11. Kadoma Y. Surface treatment agent for dental metals using a thiirane monomer and a phosphoric acid monomer. *Dent Mater J* 2002;**21**:156-69.
12. Rogers FE. Polymerization of monomers containing thiiran rings. *Journal of Polymer Science* 1965;**A3**:2701-2703.
13. Iranpoor N, Kazemi F. Stereospecific Formation of S(-) Styrene Sulfide: Efficient Conversion of Epoxides to Thiiranes Catalysed with Ru(III). *Tetrahedron* 1997;**53**:11377-11382.
14. Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, et al. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhes Dent* 2001;**3**:237-45.
15. Okuda M, Pereira PNR, Nakajima H, Tagami J. Relationship between nanoleakage and long-term durability of dentin bonds. *Operative Dentistry* 2001;**26**:482-490.

16. Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM, Grande RHM. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Dental Materials* 2004;**20**:669-676.
17. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Journal of Dental Research* 1998;**77**:1622-1629.
18. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research* 2004;**83**:216-221.
19. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russel CM, Pashley DH. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *Journal of Dental Research* 1995;**74**:1093-1102.
20. Takahashi A, Sato Y, Uno S, Pereira PNR, Sano H. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin. *Dental Materials* 2002;**18**:263-268.
21. Carrilho MRD, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. *Dental Materials* 2005;**21**:232-241.
22. Drummond R, Boydston GL, Peppas NA. Properties of positives resists. III. The dissolution behavior of poly(methyl methacrylate-co-malei-anhydride). *Journal of Applied Polymer Science* 1990;**39**:2267-2277.
23. Gillham JK. Formation and properties of network polymeric materials. *Polymer Engineering and Science* 1979;**19**:676-682.

24. He Y, Zhu B, Inoue Y. Hydrogens bonds in polymer blends. *Progress in Polymer Science* 2004;**29**:1021-1051.
25. Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE. Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents in vitro. *Journal of Endodontics* 1992;**18**:589-96.
26. Wennberg A, Mjor IA, Hensten-Pettersen A. Biological evaluation of dental restorative materials--a comparison of different test methods. *Journal Biomedical Materials Research* 1983;**17**:23-36.
27. Costa CA, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dental Materials* 1999;**15**:434-41.
28. Tsunooka M, Tanaka S, Tanaka M. Photocrosslinking of poly(2,3-epithiopropyl methacrylate) by the oxidation of pendant episulfide groups. *Journal of Polymer Science* 1985;**23**:2495-2505.
29. Nonaka T, Maeda H, Nakayama M, Egawa H. Transport of alkali metal ions against its concentration gradient through 2,3-epithiopropyl methacrylate-methacrylic acid copolymer membrane. *Journal of Applied Polymer Science* 1987;**34**:1025.

### **3 ARTIGO n.º 2 \***

**Título: Avaliação longitudinal de um adesivo dentinário contendo o monômero funcionalizado 2,3-epitiopropil metacrilato: achados após 12 meses.**

***English title: Long-term evaluation of 2,3-epithiopropyl methacrylate based adhesive: 12 months findings.***

#### **Autores**

**Fabício Aulo Ogliari<sup>a§</sup>, Eduardo Oliveira da Silva<sup>b</sup>, Marco Antônio Ceschi<sup>b</sup>, Cesar Liberato Petzhold<sup>b</sup>, Flávio Fernando Demarco<sup>a</sup>, Evandro Piva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> **Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDC-Bio), Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil**

<sup>b</sup> **Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal do rio Grande do Sul, RS, Brasil**

<sup>§</sup> **Autor para correspondência: CDC-Bio, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas. Rua Gonçalves Chaves, 457, Pelotas, RS, Brasil. CEP: 96015-560. Tel/Fax: +55-53-3222-6690.**

**E-mail: ogliari@gmail.com (Fabício A. Ogliari)**

**Artigo formatado para o Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**

## Resumo

**Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso do monômero funcionalizado 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA) no desempenho longitudinal de um adesivo dentinário.

**Métodos:** ETMA foi sintetizado através da conversão do glicidil metacrilato utilizando  $\text{NH}_4\text{SCN}$  como reagente. O material foi incorporado nas concentrações de 0,1, 1 e 10% em um adesivo comercial. Dentina humana foi utilizada como substrato para adesão e amostras para ensaio de resistência de união à microtração com reduzidas áreas adesivas de aproximadamente  $0,5\text{mm}^2$  foram utilizadas. As amostras foram avaliadas 24h após confecção e após 6 meses e 12 meses de armazenagem em água destilada. A estabilidade do anel episulfeto na presença de ácido metacrílico foi avaliada por ressonância magnética nuclear.

**Resultados:** a presença de ETMA em um adesivo comercial determinou um aumento significativo nos valores de resistência de união à microtração ( $p < 0,001$ ). A concentração de 1% de ETMA determinou os maiores valores de resistência de união à microtração ( $p < 0,001$ ). O fator tempo de armazenagem em água não foi significativo, com os valores de resistência de união à microtração estáveis ao longo dos 12 meses de armazenagem em água ( $p = 0,39$ ).

**Conclusão:** o uso do ETMA em um adesivo dentinário determinou benefícios significativos no desempenho de um adesivo dentinário, obtendo valores de resistência de união estáveis ao longo do tempo.

**Palavras-chave:** adesivo dentinário; longevidade; monômero funcionalizado; microtração; abertura de anel.

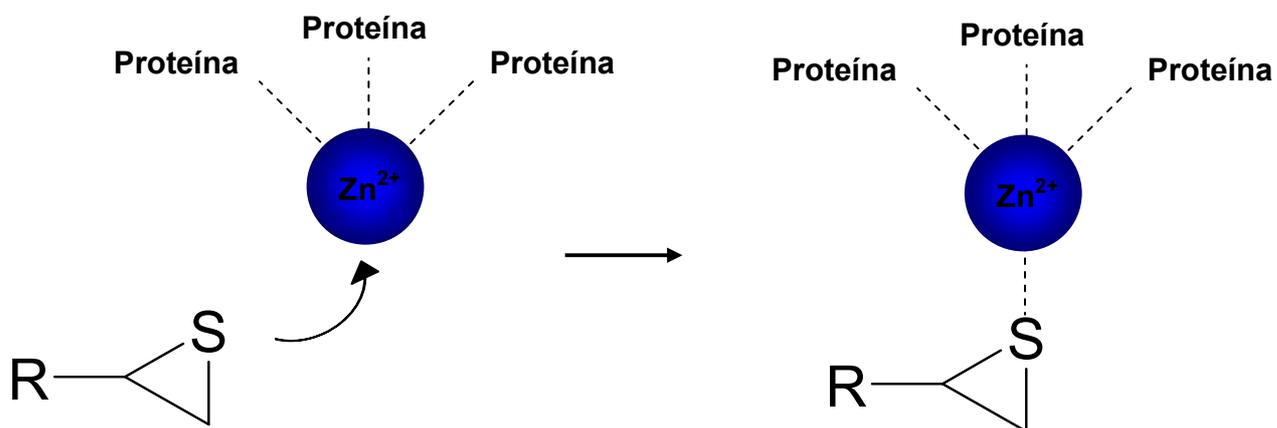
## Introdução

Recentemente foi relatada a importância das metaloproteases da matriz (MMP) na degradação das fibrilas de colágeno dentinário, o que poderia ajudar a explicar a redução dos valores de resistência de união da interface dentina/resina ao longo do tempo <sup>1</sup>. MMPs são endopeptidases zinco-dependentes que tem um papel fundamental no desenvolvimento embrionário, na cicatrização de lesões teciduais e em todos os estágios da progressão de tumores, como a angiogênese, crescimento tumoral e metástase <sup>2</sup>.

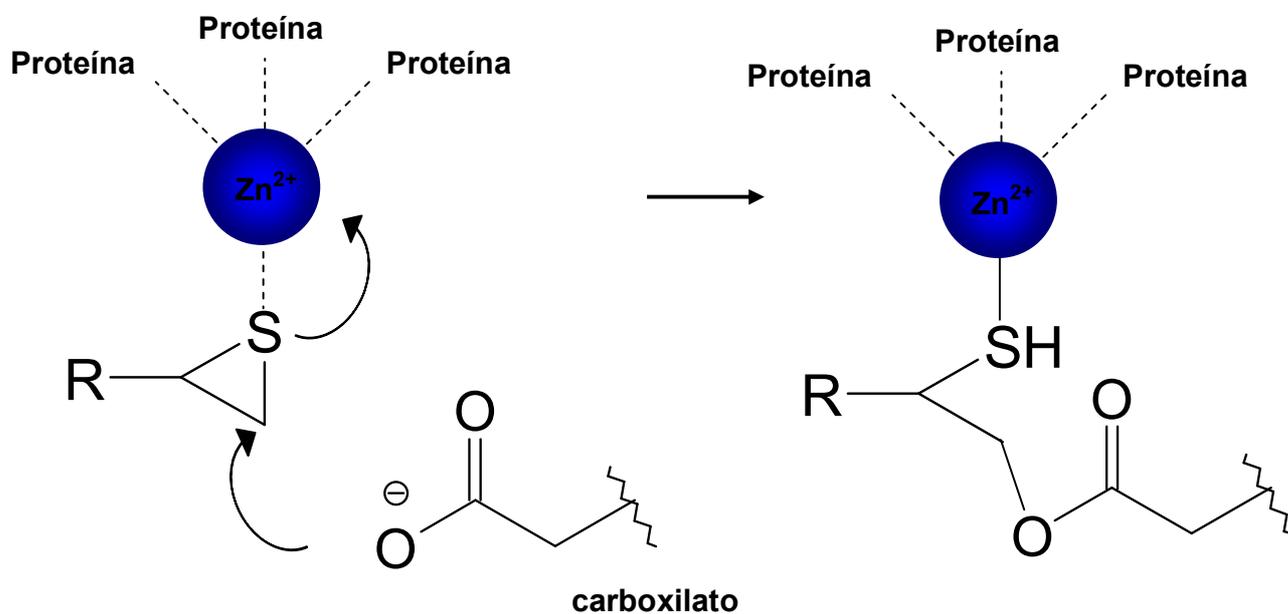
Assim, quando a estabilidade da resistência de união à dentina é avaliada os dois principais constituintes da camada híbrida devem ser considerados: o polímero e o colágeno. Além de ser necessário utilizar adesivos compostos por monômeros resistentes à hidrólise, a integridade das fibrilas de colágeno é um fator relevante.

Os grupos funcionais conhecidos como tiranas ou episulfetos são conhecidos como agentes inibidores das MMPs <sup>2-4</sup>. O mecanismo de inibição da enzima pode ser explicado pela ligação do grupo episulfeto aos sítios ativos da enzima, em uma coordenação do átomo enxofre com o sítio catalítico à base de zinco. A inibição pode ser reversível, quando é formado um par iônico, gerando as espécies ionicamente inibidas (Figura 3.1). Ainda existe a possibilidade da existência de uma inibição irreversível (Figura 3.2), quando o episulfeto, tem sua ligação covalente carbono-enxofre quebrada após a coordenação com o zinco, por outras espécies reativas do próprio substrato, como o ácido glutâmico, gerando assim as espécies covalentemente inibidas <sup>2</sup>. Assim, uma abordagem interessante para a obtenção de adesões à dentina mais estáveis é a utilização de inibidores de metaloproteases. Em nosso estudo prévio, um monômero polimerizável por geração de radicais livres, contendo o grupamento episulfeto foi sintetizado com um rendimento quantitativo elevado, demonstrando um significativo aumento nos valores iniciais de resistência de união à dentina quando utilizado como componente de um adesivo dentinário <sup>5</sup>. Uma dúvida que ainda permanece é se este ganho inicial em desempenho se manteria em uma avaliação a longo prazo. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do

2,3-epitiopropil metacrilato, um monômero contendo enxofre na forma de episulfeto, na resistência de união à microtração em dentina em uma avaliação longitudinal.



**Figura 3.1** - Sítio ativo da metaloprotease zinco dependente inibido ionicamente (inibição reversível).



**Figura 3.2** – Sítio ativo da metaloprotease zinco dependente inibido covalentemente (inibição irreversível).

## **Materiais e Métodos**

### ***Síntese do 2,3-epitiopropil metacrilato (ETMA)***

A síntese foi realizada em uma balão trilobulado contendo 10 g de glicidil metacrilato (Sigma-Aldrich Co, EUA) dissolvido em 80 mL de éter etílico e 20 mL de iso-propanol. À mistura foi adicionado 5,9 g de NH<sub>4</sub>SCN (Nuclear, Brasil) e 0,5 g nitrato cérico de amônio (Vetec, Brasil). A reação foi colocada em agitação magnética, em temperatura ambiente e acompanhada por cromatografia de camada delgada e cromatografia gasosa. A reação após 6 h, foi interrompida, os sólidos filtrados e os solventes evaporados em rotavapor com auxílio de vácuo. O material concentrado foi destilado com auxílio de vácuo e o produto obtido quantificado e caracterizado por ressonância magnética protônica (RMN H<sup>1</sup>, Varian-VXR 200 MHz). A pureza foi confirmada por cromatografia gasosa (Shimadzu GC-17A Gas Chromatograph, equipado com um detector FID).

### ***ETMA como aditivo de um adesivo dentinário***

Um adesivo comercial, composto por 2,2-bis[4-(2-hidroxi-3-metacrilóiloxipropil)fenil]propano e 2-hidroxietil metacrilato (Adper Scotchbond Multiuso - SBMU, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA – Lote: 4NR 2007-02) foi utilizado para receber a adição de ETMA. Composições com três concentrações de ETMA foram preparadas (0,1, 1 e 10 % em massa). Como grupo controle, Adper Scotchbond Multiuso sem ETMA foi utilizado.

### ***Estabilidade do grupo episulfeto na presença de um ácido carboxílico***

ETMA (8mg), foi misturado com um excesso molar de ácido metacrílico (8,7mg, Fluka, EUA) e a mistura inserida em um tubo de ressonância magnética. CD<sub>3</sub>Cl<sub>3</sub> foi adicionado e a amostra avaliada imediatamente por RMN H<sup>1</sup>. A amostra no tubo foi novamente avaliada após 24h, 48h, 7 dias e 14 dias após o início da mistura do ETMA com o ácido metacrílico. A área integrada dos picos em  $\delta$  2.4, 2.6 e 3.2 ppm foram calculadas. A abertura de anel quando ocorre,

determina o desaparecimento ou a redução da área integrada nestes assinalamentos.

### ***Resistência de união à microtração em dentina***

Dezesseis molares humanos hígidos foram utilizados neste estudo. Os dentes foram coletados após consentimento informado dos pacientes e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Pelotas. Após a limpeza dos dentes, estes foram armazenados por 7 dias em uma solução aquosa de cloramina T a 0,5% sendo após este período, armazenados em água destilada a 4°C. Os dentes foram incluídos em cilindros de resina acrílica, tendo o esmalte oclusal removido em desgastador de modelos de gesso para a formação de uma superfície plana de dentina superficial. A dentina exposta foi polida com lixas de carbetto de silício de granulação número 600 em uma politriz horizontal para a padronização da espessura da lama dentinária. As superfícies polidas foram observadas em lupa estereoscópica com aumento de 40x para a confirmação da inexistência de esmalte residual sobre essas superfícies. A dentina polida foi condicionada com gel de ácido fosfórico durante 15s. Após abundante lavagem por 15s, o excesso de água foi removido com papel absorvente, deixando a superfície visivelmente úmida. Em seguida foi aplicado o primer do sistema Scotchbond Multiuso (3M ESPE, Lote: 4AM 2007-03) e a superfície recebeu um jato de ar de 5s a uma distância de 3cm. Os dentes foram de forma aleatória divididos em quatro grupos, uma para cada concentração de ETMA e um para controle (sem ETMA). Uma camada do adesivo foi aplicada e fotoativada por 10 s por uma unidade de lâmpada halógena (Curing Light XL 3000) com 550mW/cm<sup>2</sup> de intensidade de luz medidas por radiômetro (Model 100, Demetron, EUA). Após a hibridização as superfícies foram cobertas com dois incrementos de um compósito restaurador (Filtek Z250, 3M ESPE), que foram individualmente fotoativados por 20 s. Os dentes foram armazenados por 24 h em água destilada a 37 °C e seccionados perpendicularmente à interface adesiva, com um disco diamantado de 0,3 mm refrigerado por água (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL), produzindo palitos com

uma área adesiva de aproximadamente  $0,5 \text{ mm}^2$  para o teste de resistência de união à microtração. Dois palitos de cada dente foram testados após 24 h e os outros palitos de cada dente foram separadamente armazenados em 25 mL de água destilada à  $37^\circ\text{C}$  por 6 meses e 12 meses. A água de armazenagem foi trocada semanalmente. A superfície adesiva de cada palito foi individualmente mensurada, com um paquímetro digital, antes de cada ensaio de microtração. Estes palitos foram fixados com cola de cianoacrilato (Loctite, Brasil) em um dispositivo próprio para ensaios de microtração. O ensaio de microtração foi realizado em uma máquina de ensaios mecânicos Emic DL-500 (Emic, São José dos Pinhais, Brasil) em uma velocidade de deslocamento de 1 mm/min. Os valores de resistência de união foram calculados em MPa e submetidos à Análise de Variância segundo um critério e ao teste de comparações múltiplas de Tukey com um nível de significância de 0,05.

A fractografia da metade correspondente à dentina de cada espécime testado foi realizada em microscopia ótica em um aumento de 100 e 500 vezes (Futuretech, Japão). As falhas foram classificadas de acordo com os padrões da fratura: na interface adesiva, coesiva no adesivo (ou compósito) ou mista quando as duas anteriores estiveram presentes.

## Resultados

### Síntese do ETMA

A síntese do ETMA obteve um rendimento de 90% após 6 horas de reação. O produto foi confirmado por RMN  $^1\text{H}$ . 200MHz,  $\text{CDCl}_3$ :  $\delta$  (ppm) 1,9 (s.3H), 2,3 (d. 1H), 2,5 (d. 1H), 3,2 (q. 1H), 4,2 (m. 2H), 5,6 (s. 1H), 6,1 (s. 1H).

### Estabilidade do grupo episulfeto na presença de um ácido carboxílico

Na avaliação da mistura de ácido metacrílico e ETMA em RMN  $^1\text{H}$  imediatamente após o início da reação e após 48 h, e após 14 dias não foram observadas alterações significativas referentes às ressonâncias associadas aos hidrogênios do episulfeto. Em outras palavras, os assinalamentos em  $\delta$  2.4, 2.6 e 3.2 ppm mantiveram-se presentes durante todos os períodos, o que indica a ausência da reação de abertura de anel.

### Resistência de união à microtração

Os valores médios de resistência de união a microtração em dentina obtidos em 24 h, 6 meses e 12 meses estão presentes na Tabela 3.1. As falhas prematuras ocorridas foram devidamente registradas.

**Tabela 3.1.** Estatística descritiva: Resistência de união à microtração e concentração de ETMA após 24h, 6 meses e 12 meses. Médias, ( $\pm$ d.p.). Two-way ANOVA: médias, ( $\pm$ e.p.)

	MPa (d.p.) - Estatística descritiva			Two-way ANOVA (e.p.)***
	24h *	6 meses	12 meses	Fator [ ] ETMA
<b>Controle</b>	32,6 (7,6)	29,5 (9.1)	34,9 (7,3) - 20,9 (18,4) **	32,3 (1,8) <sup>a</sup>
<b>0,1% - ETMA</b>	43,2 (9,5)	47 (13,7)	47,8 (8,6)	45,6 (1,6) <sup>b</sup>
<b>1% - ETMA</b>	48,5 (11,2)	54,3 (12,7)	51,8 (12)	51,3 (1,6) <sup>c</sup>
<b>10% - ETMA</b>	48,8 (12,9)	44,3 (13)	46,7 (11,9)	46,8 (1,6) <sup>b</sup>

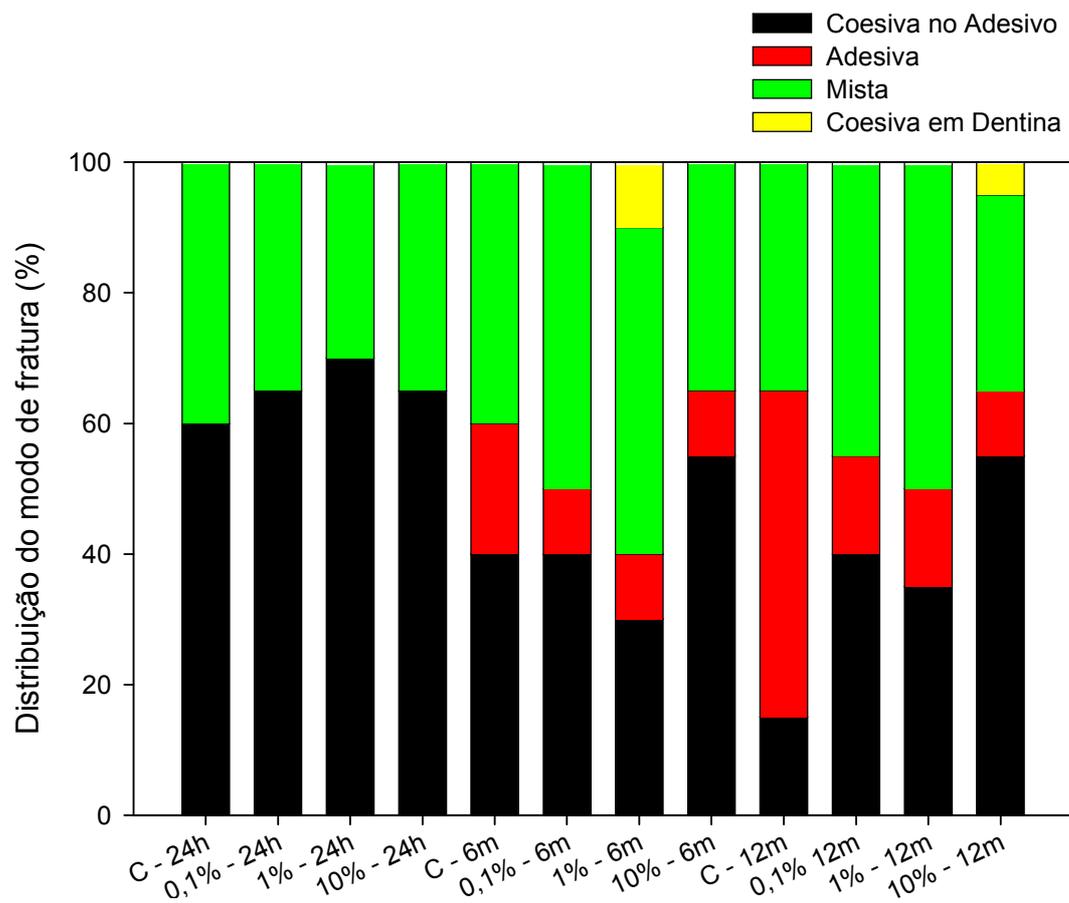
\* dados obtidos do estudo inicial (Ogliari et al., J Dent, 2006 Aug;34(7):472-7.)

\*\* média e desvio padrão considerando falhas prematuras (n= 8), atribuindo a estas o valor "zero" - não incluído na estatística

\*\*\* Fator Tempo:  $p=0,39$ ; Fator [ ] ETMA:  $p<0,001$  ; Interação entre fatores:  $p=0,153$ ; Letras sobrescritas diferentes, indicam diferença significativa.

### Análise de fratura

A Figura 3.3 ilustra a distribuição dos modos de fratura observados no estudo.

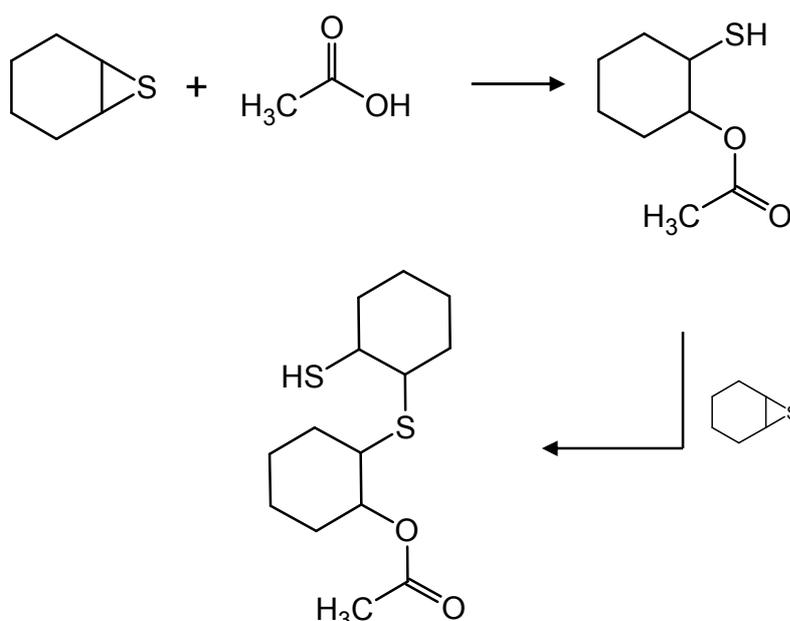


**Figura 3.3:** Distribuição dos modos de fratura no ensaio de microtração dos diferentes grupos

## Discussão

Em concordância com nosso estudo prévio, a incorporação do ETMA em um adesivo comercial, demonstrou um aumento significativo nos valores de resistência de união à microtração à dentina <sup>5</sup>. É improvável que este aumento da resistência de união seja em função de uma melhor infiltração dos monômeros na camada desmineralizada de colágeno, uma vez que o ETMA é um monômero hidrófobo. Assim, pelo menos em superfícies úmidas de dentina, o comportamento do ETMA como um surfactante está descartado.

O mecanismo sugerido na primeira parte deste estudo para explicar o aumento da adesão foi considerar a possibilidade da abertura do anel episulfeto. Isto foi colocado como uma hipótese porque se sabe que a ligação carbono-enxofre do episulfeto é rompida quando este é reagido com compostos ácidos <sup>6</sup>. Adicionalmente, foi observada em nosso laboratório a ocorrência da abertura do anel episulfeto quando o ETMA foi reagido com CuBr ou também com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (dados não publicados). Com a abertura do anel episulfeto, o ETMA poderia ser reticulado posteriormente através da polimerização radicalar, o que determinaria melhores propriedades de polímero formado. Helmkamp e Schnautz em 1958<sup>7</sup> descrevem a reação de um substrato onde a reação de episulfetos com ácido acético ocorre segundo o mecanismo descrito na Figura 3.4:



**Figura 3.4** - Reação de um ácido carboxílico com o heterociclo episulfeto. (adaptado de Helmkamp e Schnautz, 1958).

Com base no estudo de Helmkamp e Schnautz de 1958, cogitou-se a hipótese de que, os grupamentos carboxílicos do copolímero alquênico presente no primer do adesivo comercial Scotchbond Multiuso, poderiam determinar a abertura do anel episulfeto e assim explicar o aumento da adesão observado no estudo de microtração. Para verificar esta hipótese, ácido metacrílico foi reagido com ETMA e essa reação acompanhada por RMN  $H^1$  durante 28 dias. Nenhuma evidência de abertura de anel foi observada nos diferentes períodos de avaliação em função da permanência das ressonâncias referentes ao episulfeto localizadas em campo alto de 2,2 (d. 1H), 2,4 (d. 1H) e 3,1 (q. 1H) ppm. Assim, na abordagem adotada pelo presente estudo, a hipótese de que o ácido carboxílico presente no primer do SBMU tenha reagido como ETMA e determinado a abertura de anel, não pôde ser sustentada.

A partir de um experimento realizado em nosso laboratório, foi observado a reação de abertura do anel episulfeto quando o ETMA foi reagido com  $H_3PO_4$ . Uma hipótese que foi levantada é que se eventualmente após o condicionamento ácido da dentina e lavagem com água, ácido fosfórico residual permanecer, uma possível reação de abertura de anel *in situ* poderia ocorrer. No entanto, não foi encontrado na literatura pelos autores do presente trabalho, estudos que avaliassem a possibilidade de permanência de resíduos do agente condicionante após enxágüe para sustentar esta hipótese.

Outra hipótese de interação de componentes do sistema adesivo com o ETMA no sentido de provocar uma reação de abertura de anel é a atuação da amina terciária do sistema de fotoiniciação presente no adesivo. Sabe-se que concentrações abaixo de 1% de *N,N*-dimetildodecilamina são capazes de produzir polímeros através da polimerização aniônica do episulfeto com uma massa molar média de 180000 g/mol<sup>8</sup>. Dessa forma, estudos avaliando a possibilidade de polimerização aniônica do ETMA em presença de aminas terciárias utilizadas em adesivos odontológicos são necessários.

Uma atual preocupação em relação à adesão dentinária é a durabilidade à longo prazo<sup>9</sup>. Apesar de valores elevados de resistência de união serem necessários para suportarem as tensões geradas pela contração de

polimerização dos compósitos restauradores <sup>10</sup> é fundamental para um sistema adesivo, a estabilidade longitudinal da união. Atualmente são discutidos dois mecanismos para explicar a falta de estabilidades das interfaces resina/dentina ao longo do tempo: degradação do polímero do adesivo e degradação das fibrilas de colágeno pelas metaloproteases. O presente estudo sugere a incorporação de um agente com potencial de inibição de MMPs em um adesivo dentinário, com o intuito de conferir ao material, poder inibitório *in situ* das MMPs.

Com a incorporação do ETMA em um adesivo dentinário, foi observado um aumento significativo nos valores de resistência de união à microtração quando comparado ao grupo controle. No entanto, o aumento dos valores de resistência de união obtidos com o uso do ETMA, apesar de importante, somente pode ser considerado um ganho real em desempenho se esses valores se mantiverem estáveis ao longo do tempo. No presente estudo, para investigar o desempenho à longo prazo das uniões resina-dentina, palitos com uma reduzida interface de união de 0,5mm<sup>2</sup> foram escolhidos para determinar um maior desafio para a estabilidade da interface. Apesar disso, os valores médios de resistência de união, independente da presença do ETMA, mantiveram-se estáveis ao longo do tempo. Isto pode estar relacionado à já conhecida performance do SBMU em investigações longitudinais <sup>11</sup>. É importante chamar atenção para o fato de que o ganho obtido pelo uso do ETMA se manteve ao longo dos 12 meses de armazenagem das amostras em água. Avaliações longitudinais com um maior tempo de investigação devem ser realizadas.

## **Conclusões**

A incorporação do ETMA em um adesivo comercial determinou um aumento significativo na resistência de união desses à dentina. Em termos de longevidade, nenhum dos grupos avaliados apresentou redução nos valores de resistência de união ao longo do tempo.

## Referências

1. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research* 2004;83(3):216-221.
2. Ikejiri M, Bernardo MM, Bonfil RD, Toth M, Chang M, Fridman R, Mobashery S. Potent Mechanism-based Inhibitors for Matrix Metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry* 2005;280(40):33992-334002.
3. Kruger A, Arlt MJ, Gerg M, Kopitz C, Bernardo MM, Chang M, Mobashery S, Fridman R. Procurar. *Cancer Research* 2005;65:3523-3526.
4. Gu Z, Cui J, Brown S, Fridman R, Mobashery S, Strongin AY, Lipton SA. *Journal of Neuroscience* 2005;25:6401-6408.
5. Ogliari FA, de Sordi MLT, Ceschi MA, Petzhold CL, Demarco FF, Piva E. 2,3-Epithiopropyl methacrylate as functionalized monomer in a dental adhesive. *Journal of Dentistry* 2006;34(7):472-477.
6. Tsunooka M, Tanaka S, Tanaka M. Photocrosslinking of poly(2,3-epithiopropyl methacrylate) by the oxidation of pendant episulfide groups. *Journal of Polymer Science* 1985;23(9):2495-2505.
7. Helmkamp GK, Schnautz N. Stereochemistry of the lithium aluminum deuteride reduction of the thiirane ring. *Tetrahedron* 1958;2(3-4):304-307.
8. Sigwalt P, Spassky N. Chapter 9: Cyclic Compounds Containing Sulfur in the Ring. In: Ivin KJ, Saegusa T, editors. *Ring-Opening polymerization*. New York: Elsevier Applied Science; 1984. p 603-714.
9. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84(2):118-32.
10. Deliperi S, Bardwell DN, Papathanasiou A. Effect of different polymerization methods on composite microleakage. *American Journal of Dentistry* 2003;16:73a-76a.
11. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82(2):136-40.

## 4. CONCLUSÕES

**De acordo com as metodologias empregadas podemos concluir que:**

- Uma rota sintética com alto rendimento químico para a obtenção do 2,3-epitiopropil metacrilato foi descoberta.
- A incorporação do ETMA em um adesivo comercial, não determinou alterações no grau de conversão do material.
- Foi demonstrado o potencial de copolimerização do ETMA sistemas monoméricos compostos por Bis-GMA/HEMA.
- A incorporação do ETMA em um adesivo comercial determinou um aumento significativo na resistência de união desses à dentina.
- Em termos de longevidade, nenhum dos grupos avaliados apresentou redução nos valores de resistência de união ao longo do tempo.

## 5 REFERÊNCIAS

1. BERGENHOLTZ, G. Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v.11, n.4, p.467-480, 2000.
2. CARRILHO, M. R. D.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; TJADERHANE, L.; CARVALHO, R. M. Mechanical stability of resin-dentin bond components **Dental Materials**, v.21, n.3, p.232-241, 2005.
3. COSTA, C. A.; VAERTEN, M. A.; EDWARDS, C. A.; HANKS, C. T. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23 **Dental Materials**, v.15, n.6, p.434-441, 1999.
4. DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; PEUMANS, M.; POITEVIN, A.; LAMBRECHTS, P.; BRAEM, M.; VAN MEERBEEK, B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results **Journal of Dental Research**, v.84, n.2, p.118-132, 2005.
5. DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P. Four-year water degradation of a resin-modified glass-ionomer adhesive bonded to dentin **European Journal of Oral Sciences**, v.112, n.1, p.73-83, 2004.
6. DELIPERI, S.; BARDWELL, D. N.; PAPATHANASIOU, A. Effect of different polymerization methods on composite microleakage **American Journal of Dentistry**, v.16, p.73a-76a, 2003.
7. DEMARCO, F. F.; TARQUINIO, S. B. C.; JAEGER, M. M. M.; DE ARAUJO, V. C.; MATSON, E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of

- 2 dentin bonding agents **Quintessence International**, v.32, n.3, p.211-220, 2001.
8. DE SOUZA, A. P.; GERLACH, R. F.; LINE, S. R. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts **Dental Materials**, v.16, n.2, p.103-108, 2000.
  9. DONMEZ, N.; BELLI, S.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Ultrastructural correlates of in vivo/in vitro bond degradation in self-etch adhesives **Journal of Dental Research**, v.84, n.4, p.355-359, 2005.
  10. DRUMMOND, R.; BOYDSTON, G. L.; PEPPAS, N. A. Properties of positives resists. III. The dissolution behavior of poly(methyl methacrylate-co-malei-anhydride). **Journal of Applied Polymer Science**, v.39, n.11/12, p.2267-2277, 1990.
  11. EGAWA, H.; ISHIKAWA, M.; TSUNOOKA, M.; UEDA, T.; TANAKA, M. Photocrosslinking of poly(2,3-epithiopropyl methacrylate) film with 254 nm irradiation. **Journal of Polymer Science**, v.21, p.479-486, 1983.
  12. FANCHON, S.; BOURD, K.; SEPTIER, D.; EVERTS, V.; BEERTSEN, W.; MENASHI, S.; GOLDBERG, M. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization **European Journal of Oral Sciences**, v.112, n.2, p.171-176, 2004.
  13. GILLHAM, J. K. Formation and properties of network polymeric materials. **Polymer Engineering and Science**, v.19, p.676-682, 1979.
  14. GORDAN, V. V.; MJOR, I. A.; VAZQUEZ, O.; WATSON, R. E.; WILSON, N. Self-etching primer and resin-based restorative material: two-year

- clinical evaluation **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v.14, n.5, p.296-302, 2002.
15. GU Z, CUI J, BROWN S, FRIDMAN R, MOBASHERY S, STRONGIN AY, LIPTON SA. **Journal of Neuroscience**, v.25, p.6401-6408, 2005.
16. HANKS, C. T.; WATAHA, J. C.; PARSELL, R. R.; STRAWN, S. E. Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents in vitro **Journal of Endodontics**, v.18, n.12, p.589-596, 1992.
17. HE, Y.; ZHU, B.; INOUE, Y. Hydrogens bonds in polymer blends. **Progress in Polymer Science**, v.29, p.1021-1051, 2004.
18. HELMKAMP, G. K.; SCHNAUTZ, N. Stereochemistry of the lithium aluminum deuteride reduction of the thiirane ring **Tetrahedron**, v.2, n.3-4, p.304-307, 1958.
19. IKEJIRI, M.; BERNARDO, M. M.; BONFIL, R. D.; TOTH, M.; CHANG, M.; FRIDMAN, R.; MOBASHERY, S. Potent Mechanism-based Inhibitors for Matrix Metalloproteinases **The Journal of Biological Chemistry**, v.280, n.40, p.33992-334002, 2005.
20. INOUE, S.; VARGAS, M. A.; ABE, Y.; YOSHIDA, Y.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G.; SANO, H.; VAN MEERBEEK, B. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin **Journal of Adhesive Dentistry**, v.3, n.3, p.237-245, 2001.
21. IRANPOOR, N.; KAZEMI, F. Cerium(IV) Catalysis: Efficient Conversion of Epoxides to Thiiranes **Synthesis**, n.07, p.821-822, 1996.

22. IRANPOOR, N.; KAZEMI, F. Stereospecific Formation of S(-) Styrene Sulfide: Efficient Conversion of Epoxides to Thiiranes Catalysed with Ru(III) **Tetrahedron**, v.53, n.33, p.11377-11382, 1997.
23. KADOMA, Y. Surface treatment agent for dental metals using a thiirane monomer and a phosphoric acid monomer **Dental Materials Journal**, v.21, n.2, p.156-169, 2002.
24. KOSHIRO, K.; INOUE, S.; TANAKA, T.; KOASE, K.; FUJITA, M.; HASHIMOTO, M.; SANO, H. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system **European Journal of Oral Sciences**, v.112, n.4, p.368-375, 2004.
25. KRUGER A, ARLT MJ, GERG M, KOPITZ C, BERNARDO MM, CHANG M, MOBASHERY S, FRIDMAN R. **Cancer Research**, v.65, p.3523-3526, 2005.
26. NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.16, n.3, p.267-273, 1982.
27. NONAKA, T.; MAEDA, H.; NAKAYAMA, M.; EGAWA, H. Transport of alkali metal ions against its concentration gradient through 2,3-epithiopropyl methacrylate-methacrylic acid copolymer membrane. **Journal of Applied Polymer Science**, v.34, p.1025, 1987.
28. NONAKA, T.; MATSUMURA, S.; OGATA, T.; KURIHARA, S. Synthesis of amphoteric polymer membranes from epithiopropyl methacrylate-butylmethacrylate-N,N-dimethylaminopropyl acrylamide-methacrylic acid copolymers and the permeation behavior of various solutes through the membranes. **Journal of Membrane Science**, v.212, p.39-53, 2003.

29. OGLIARI, F. A.; DE SORDI, M. L. T.; CESCHI, M. A.; PETZHOLD, C. L.; DEMARCO, F. F.; PIVA, E. 2,3-Epithiopropyl methacrylate as functionalized monomer in a dental adhesive **Journal of Dentistry**, v.34, n.7, p.472-477, 2006.
30. OKUDA, M.; PEREIRA, P. N.; NAKAJIMA, M.; TAGAMI, J. Relationship between nanoleakage and long-term durability of dentin bonds **Operative Dentistry**, v.26, n.5, p.482-490, 2001.
31. PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L.; CARVALHO, R. M.; ITO, S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging **Journal of Dental Research**, v.83, n.3, p.216-221, 2004.
32. PEUMANS, M.; KANUMILLI, P.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials **Dental Materials**, v.21, n.9, p.864-881, 2005.
33. REIS, A.; LOGUERCIO, A. D.; CARVALHO, R. M.; GRANDE, R. H. M. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component **Dental Materials**, v.20, n.7, p.669-676, 2004.
34. ROGERS, F. E. Polymerization of monomers containing thiiran rings. **Journal of Polymer Science**, v.A3, n.7, p.2701-2703, 1965.
35. ROSENBLUM, G.; MEROUEH, S. O.; KLEIFELD, O.; BROWN, S.; SINGSON, S. P.; FRIDMAN, R.; MOBASHERY, S.; SAGI, I. Structural basis for potent slow binding inhibition of human matrix metalloproteinase-

- 2 (MMP-2) **Journal of Biological Chemistry**, v.278, n.29, p.27009-27015, 2003.
36. SANO, H.; TAKATSU, T.; CIUCCHI, B.; RUSSEL, C. M.; PASHLEY, D. H. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. **Journal of Dental Research**, v.74, p.1093-1102, 1995.
37. SIGWALT P, SPASSKY N. Chapter 9: Cyclic Compounds Containing Sulfur in the Ring. In: **Ivin KJ, Saegusa T, editors. Ring-Opening polymerization**. New York: Elsevier Applied Science; 1984. p 603-714.
38. TAKAHASHI, A.; SATO, Y.; UNO, S.; PEREIRA, P. N. R.; SANO, H. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin **Dental Materials**, v.18, n.3, p.263-268, 2002.
39. TJÄDERHANE, L.; LARJAVA, H.; SORSA, T.; UITTO, V.-J.; LARMAS, M.; SALO, T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **Journal of Dental Research**, v.77, n.8, p.1622-1629, 1998.
40. TSUNOOKA, M.; TANAKA, S.; TANAKA, M. Photocrosslinking of poly(2,3-epithiopropyl methacrylate) by the oxidation of pendant episulfide groups. **Journal of Polymer Science**, v.23, n.9, p.2495-2505, 1985.
41. WENNBERG, A.; MJOR, I. A.; HENSTEN-PETTERSEN, A. Biological evaluation of dental restorative materials--a comparison of different test methods **Journal Biomedical Materials Research**, v.17, n.1, p.23-36, 1983.

## 6 APÊNDICE

**Atividades do mestrando dentro do Programa de Pós-Graduação em Odontologia durante o período de março de 2005 e novembro de 2006.**

### ***Participações em Editais:***

Elaboração de projeto submetido ao órgão de fomento Fapergs, no Edital Proade 3 - Processo n.º 0521064. O projeto foi contemplado, num montante de R\$ 10.000,00 (dez mil Reais) para compra de material permanente e de R\$ 5.000,00 (cinco mil Reais) de material de consumo. Estes recursos foram aplicados no desenvolvimento da presente dissertação de mestrado.

Elaboração de projeto que foi submetido ao órgão de fomento CNPq, no Edital Universal 2006. Edital não contemplado.

Elaboração de projeto que foi submetido ao Edital Multiusuários do Finep de 2006. Edital não contemplado.

Elaboração de projeto em parceria empresa/instituição que foi submetido ao programa PIPE da FAPESP. Resultado não divulgado até o presente momento.

Elaboração de projeto em parceria empresa/instituição que foi submetido ao Edital Subvenção Econômica do Finep. Resultado não divulgado até o presente momento.

Participação no projeto: ***“Nanocompósitos cerâmicos funcionalizados e suas aplicações tecnológicas.”*** submetido ao CNPq em 2006.

### ***Artigos publicados no período***

Ogliari FA, de Sordi MLT, Ceschi MA, Petzhold CL, Demarco FF, Piva E (2006). 2,3-Epithiopropyl methacrylate as functionalized monomer in a dental adhesive. *Journal of Dentistry* 34(7):472-477

Silveira de Araújo C, Incerti da Silva T, Ogliari FA, Meireles SS, Piva E, Demarco FF. (2006). Microleakage of Seven Adhesive Systems in Enamel and Dentin. *Journal Of The Contemporary Dental Practice* 5(7):026-033.

Schneider LFJ, Consani S, Ogliari F, Correr AB, Sobrinho LC, Sinhoreti MAC (2006). Effect of time and polymerization cycle on the degree of conversion of a resin composite. *Operative Dentistry* 31(4):489-495.

Arossi, GA; Ogliari, FA; Samuel, SMW; Busato, ALS. Microdureza de Topo e Fundo de Resinas Compostas Submetidas à Polimerização Adicional em Estufa e Autoclave. (2006). *Centro de Estudos e Pesquisas em Odontologia*, v. 1, p. 1-2.

#### ***Artigos com aceite no período***

Campregher, UB; Ogliari, FA; Fortes, CBB; Collares, FM; Correa, AM; Samuel, SMW. Effectiveness of Second-Generation LED Light Curing Units.. *Journal Of The Contemporary Dental Practice*, aceito em maio de 2006.

#### ***Artigos submetidos no período***

Ogliari, FA; Ely, C; Zanchi, CH; Fortes, CBB; Samuel, SMW; Demarco, FF; Petzhold, CL; Piva, E. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. Submetido para o periódico *Dental Materials*.

Piva, E; Moraes, RR; Ogliari, FA; Cora, F; Henn, S; Correr Sobrinho, L. Papain-based gel for chemo-mechanical caries removal: influence on bond

strength to dentin. Submetido para o periódico European Journal of Oral Sciences.

Demarco, FF; Ogliari, FA; Bocangel, JS; Piva, E. Evaluation of Bovine tooth substrates in microtensile bond strength, microleakage, and microhardness tests. Submetido ao periódico Journal of Adhesive Dentistry.

Schneider, LF; Ogliari FA; Consani, S; Correr, L; Sinhoreti, MAC. Influence of the light energy densities on the composite degree of conversion and temperature change with different photo-activation methods. Submetido ao periódico Journal of Esthetic and Restorative Dentistry.

***Prêmios conquistados no período***

1º Lugar na Categoria C5 - Pós-Graduação da 23 Reunião da SBPqO - Atibaia, SP, Brasil

1º Lugar Prêmio Norberto Czernay - Categoria Pós-Graduação – 40º GBMD Uberlândia/MG – Brasil

1º Lugar Destaque em pesquisa na 38ª Semana Acadêmica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

1º Lugar Prêmio Norberto Czernay de melhor trabalho do 41º GBMD.

2º Lugar - Destaque em pesquisa na 37ª Semana Acadêmica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

***Cursos de curta duração ministrados:***

Utilização do software Endnote para a otimização na redação de artigos científicos – treinamento do pessoal da pós-graduação UFPel.

Uso da ferramenta Scifinder Scholar 2006 – treinamento do pessoal da pós-graduação UFPel.

Utilização do software Sigma Stat com aplicação em Odontologia para o tratamento estatístico de dados. – treinamento do pessoal da pós-graduação UFPel.

Utilização do software Sigma Plot com aplicação em Odontologia para a criação de gráficos avançados. – treinamento do pessoal da pós-graduação UFPel.

***Co-orientações***

Co-orientador do aluno de iniciação científica Diego Detoni no projeto: Desenvolvimento de um adesivo convencional de três passos experimental.

Co-orientador da aluna de iniciação científica Camila Teresa Lubian no projeto: Desenvolvimento de um adesivo convencional de três passos experimental.

Co-orientador da aluna de iniciação científica Sandrina Henn no projeto: Influência da concentração de monômero fosfatado no desempenho de um adesivo autocondicionante de dois passos.