



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM - FFOE
CURSO DE ODONTOLOGIA

GABRIELA ARAÚJO LOURENÇO

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOMODIFICAÇÃO DO COLÁGENO DE
DIFERENTES POLIFENÓIS DE ORIGEM NATURAL**

FORTALEZA
2019

GABRIELA ARAÚJO LOURENÇO

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOMODIFICAÇÃO DO COLÁGENO DE
DIFERENTES POLIFENÓIS DE ORIGEM NATURAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Odontologia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.
Co-orientador: Prof. Me. Marcelo Victor Sidou
Lemos.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L934a Lourenço, Gabriela Araújo.
AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOMODIFICAÇÃO DO COLÁGENO DE DIFERENTES
POLIFENÓIS DE ORIGEM NATURAL / Gabriela Araújo Lourenço. – 2019.
35 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.

Coorientação: Prof. Me. Marcelo Victor Sidou Lemos.

1. Polifenóis. 2. Biomodificação. 3. Dentina. I. Título.

CDD 617.6

GABRIELA ARAÚJO LOURENÇO

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOMODIFICAÇÃO DO COLÁGENO DE
DIFERENTES POLIFENÓIS DE ORIGEM NATURAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Odontologia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em
Odontologia.

Aprovado em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Cecília Atem Gonçalves de Araujo Costa
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Profa. Me. Maria Elisa Martins Moura
Doutoranda da Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus**, por me abençoar de tal medida que me possibilitou chegar até aqui superando todas as dificuldades e me permitindo realizar um sonho.

Aos meus pais, **Claudecila e Valdir**, que são exemplos de amor incondicional, que sempre fizeram de tudo para me apoiar nessa jornada.

Aos meus irmãos, **Emanuel e Samuel**, que sempre me viram como exemplo e foram indispensáveis para que eu chegasse até aqui. O apoio de vocês me impulsiona e me fez perceber que posso sempre fazer mais.

À minha família, em especial, **Eugênia, Elane, Marilak e Claunice**, que tiveram contribuição direta na minha caminhada até aqui. O apoio de toda família na minha vida é muito importante.

Aos meus amigos de turma **Eduardo, João Pedro, Geibson e Mikael** por estarem comigo ao longo desses 5 anos de graduação, por me proporcionarem momentos inesquecíveis e por sempre estarem presentes nos altos e baixos não apenas na graduação.

A **Emily e Jorge**, por me aceitarem em suas vidas e fazerem com que tudo fique alegre. Obrigada por cada abrigo, passeio, jornada, almoço e dias de coração leve.

Ao **Prof. Sérgio Lima Santiago**, que me orientou na realização desse trabalho com paciência, por ter acreditado em mim e ter me dado oportunidade de integrar sua equipe. Admiro sua forma agregadora, gentil e inteligente de tirar de nós o nosso melhor. Carrega em si virtudes de um verdadeiro docente.

Ao **Marcelo Sidou**, que me ensinou e norteou-me com a paciência e companheirismo ao longo da graduação.

A **Ana Laura, Maria Clara, Samuel, Salma, Isabelly, Talita, David, Adelson, Nadine, Cecilia** e todos do Laboratório de Pesquisa, que me acolheram e fizeram todo trabalho mais divertido. Foi ótimo passar meus turnos e férias com vocês.

Ao projeto de extensão **CENTRAU**, que me deu oportunidade de vivenciar e integrar conhecimentos ímpares proporcionando crescimento pessoal e em conhecimento.

À minha **turma 2019.1**, por tudo que vivemos ao longo desses anos, pelos laços construídos e por sempre pensar no bem coletivo. Guardo com carinho toda história que construímos juntos.

A todos os **professores e servidores** que compõem a Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Ceará. Obrigada por acreditarem no ensino público de qualidade, por nos inspirarem e serem exemplos na nossa formação profissional.

RESUMO

Na tentativa de aumentar a longevidade de procedimentos adesivos, estratégias têm sido empregadas, dentre elas podemos destacar a realização de ligações cruzadas de colágeno dentinário por meio de diferentes polifenóis. Logo, o objetivo do presente estudo foi comparar a capacidade de formação de ligações cruzadas entre ácido elágico, hesperidina, apigenina e curcumina utilizando as concentrações 20 μ M, 200 μ M e 2mM. Para isto, foram confeccionadas cento e trinta barras de dentina com 1,7 X 0,5 X 6 mm de dimensão, as barras foram desmineralizadas completamente em solução de ácido fosfórico a 10% durante 5 horas, em temperatura ambiente. Os agentes de biomodificação foram diluídos em hidróxido de sódio (NaOH) na concentração pertinente a cada grupo com o auxílio de um agitador magnético até serem completamente diluídos, seguido de filtração da solução. As barras de dentina foram distribuídas aleatoriamente em 12 grupos distintos (n=10) e mantidas em suas respectivas soluções por um período de 1 hora. Posteriormente foram submetidas aos testes de flexão de 3 pontos, alteração de massa e espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), empregando respectivamente máquina universal de ensaios, balança de precisão e espectrômetro. A partir dos dados obtidos, realizou-se um teste de normalidade utilizando o teste de Kolmogorov – Smirnov, seguido de ANOVA a dois critérios e pós-teste de Tukey. Quando analisado o módulo de elasticidade (ME), a curcumina e o ácido elágico 200 μ M mostraram-se eficazes em aumentar o ME, enquanto hesperidina e apigenina foram efetivas na concentração 20 μ M. Foi observado que mais de uma concentração foi efetiva em cada grupo. Não foram observadas variações de massa significativas. Houveram picos não proporcionais em relação ao aumento da concentração na região 3000 e 3600 cm^{-1} correspondente a região que indica a formação de pontes de hidrogênio. Estudos devem ser realizados sobre a influência dos solventes não convencionais no processo de reticulação de colágeno. A biomodificação de colágeno dentinário é uma importante estratégia na melhoria das propriedades da matriz dentinária, sendo os polifenóis agentes valiosos dado ao seu potencial para a melhoria das propriedades mecânicas deste.

Palavras-chave: Polifenóis. Biomodificação. Dentina.

ABSTRACT

In the attempt to increase the longevity of adhesive procedures, strategies have been employed, among them we can highlight the crosslinking of dentin collagen by means of different polyphenols. Therefore, the objective of the present study was to compare the ability of crosslinking formations between ellagic acid, hesperidin, apigenin and curcumin using 20 μ M, 200 μ M and 2mM concentrations. For this, one hundred and thirty dentin bars were prepared with 1.7 X 0.5 X 6 mm in size, the bars were completely demineralized in 10% phosphoric acid solution for 5 hours at room temperature. The agents of biomodification were diluted in sodium hydroxide (NaOH) in relevant concentration to each group with the aid of a magnetic stirrer until completely diluted, followed by filtering the solution. The dentin bars were randomly distributed in 12 distinct groups (n = 10) and kept in their respective solutions for a period of 1 hour. Afterwards, they were submitted to 3-point flexural tests, mass change and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), using, respectively, a universal test machine, precision scale and spectrometer. From the data obtained, a normality test was performed using the Kolmogorov-Smirnov test, followed by two-way ANOVA and Tukey's post-test. When the modulus of elasticity (ME) was analyzed, curcumin and 200 μ M ellagic acid were effective in increasing ME, while hesperidin and apigenin were effective at 20 μ M concentration. It was observed that more than one concentration was effective in each group. No significant mass variations were observed. There were non-proportional peaks in relation to the increase of the concentration in the region 3000 and 3600 cm^{-1} corresponding to the region that indicates the formation of hydrogen bonds. Studies should be conducted on the influence of non-conventional solvents on the collagen cross-linking process. Biomodification of dentin collagen is an important strategy in improving dentin matrix properties, and polyphenols are valuable agents due to their potential for improving the mechanical properties of dentin.

Keywords: Polyphenols. Biomodification. Dentin.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo Geral	13
2.1.1	Objetivo Específicos	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1	Aspectos éticos	14
3.2	Delineamento Experimental	14
3.2.1	Preparo dos espécimes	14
3.2.2	Preparo das soluções	15
3.2.3	Imersão nas soluções	15
3.2.4	Módulo de elasticidade	15
3.2.5	Modificação de massa	16
3.2.6	Espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier – FTIR	16
3.3	Análise estatística	16
4	RESULTADOS	18
5	DISCUSSÃO	19
6	CONCLUSÃO	22
	REFERÊNCIAS	23
	APÊNCIDE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	28
	APÊNDICE B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	29
	APÊNDICE C – TABELAS	33
	APÊNCIDE D – GRÁFICOS FTIR	35

1 INTRODUÇÃO

Restaurações adesivas são amplamente utilizadas com objetivo de repor tecido dental perdido por fratura e cárie, por exemplo. A interface formada a partir da união da matriz orgânica dentinária (colágeno tipo I), cristais residuais de hidroxiapatita, monômeros resinosos e solvente, chama-se camada híbrida. Esta é trazida na literatura como o elo mais fraco na ligação dentina-resina. Falhas nessa ligação podem levar à degradação dos componentes através da formação de vias onde circulará o fluido oral, produtos bacterianos e enzimas proteolíticas. (AL-AMMAR et al., 2009; CASTELLAN et al., 2010). O uso de estratégias como a biomodificação da dentina com intuito de melhorar as propriedades mecânicas da camada híbrida e de reduzir a degradação das fibrilas colágenas tem ganhado cada vez mais destaque e são recursos importantes na tentativa de estender a longevidade da adesão entre dentina e resina (TAY; PASHLEY, 2009; TJÄDERHANE et al., 2013; BEDRAN-RUSSO et al., 2014). Ligação cruzada, reticulação polimérica ou *cross-link* pode ser induzido a partir de agentes sintéticos ou naturais. Consiste no processo onde cadeias poliméricas são interligadas por ligações químicas formando uma rede polimérica tridimensional. Como resultado dessa reação, as estruturas tendem a perder sua fluidez e tornam-se mais rígidas. Quando aplicados junto ao colágeno tipo I, presente em dentina, algumas substâncias tem a capacidade de promover tal reticulação polimérica, tanto intrafibrilar, quanto interfibrilar (BEDRAN-RUSSO et al, 2014).

Dentre os agentes sintéticos utilizados com essa finalidade podemos destacar o glutaraldeído e a carbodiimida, entretanto, a citotoxicidade do primeiro e a limitada ação *cross-link* da segunda apresentam-se como fatores limitantes a suas aplicações clínicas (BEDRAN-RUSSO et al., 2010).

Dentro desse contexto, existe uma busca crescente por agentes naturais de ligação cruzada, biomodificadores, de colágeno. A biomodificação da dentina usando reticuladores foi introduzida para melhorar a estabilidade mecânica da dentina. As proantocianidinas (extraídas da semente de uva) se destacam por apresentarem influência positiva sobre dentina em diversas características como resistência à tração (BEDRAN-RUSSO et al., 2011), dureza (DOS SANTOS et al., 2011), módulo de elasticidade (CASTELLAN et al., 2010; AGUIAR et al., 2014), resistência adesiva (MACEDO et al., 2009; AL-AMMAR et al., 2009; BROYLES et al., 2013), resistência à biodegradação (LIU, et al., 2013) e redução da desmineralização (PAVAN et al., 2011). Entretanto, há ainda poucos estudos que revelem bons resultados utilizando-se períodos curtos e clinicamente viáveis de aplicação de soluções contendo essas

substâncias (LIU, et al., 2013). Além disso, as mesmas apresentam como principal desvantagem a pigmentação do substrato ao qual foi aplicado, o que torna sua utilização pouco atrativa em Odontologia estética, o que gera uma busca por novos agentes naturais que também possuam capacidade de melhorar as propriedades mecânicas do colágeno (BEDRAN-RUSSO et al., 2014).

Os polifenóis são encontrados naturalmente em vegetais, cereais, frutas e bebidas. Estes apresentam efeitos positivos contra condições de saúde como câncer, osteoporose, asma, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (PANDEY E RIZVI, 2009). Diferem entre si de acordo com o número de anéis fenólicos, planta de origem, técnica de obtenção do extrato e origem geográfica (AGUIAR et al., 2014; CASTELLAN et al., 2010). Neste cenário, é importante que novas substâncias sejam estudadas a fim de observar sua eficácia na biomodificação do colágeno dentinário. Segundo a literatura, diferentes polifenóis com estruturas químicas semelhantes às proantocianidinas podem atuar como agentes de ligações cruzadas, tais como as catequinas (VIDAL et al., 2014). Porém, inúmeros outros polifenóis de origem natural podem ser utilizados tais como ácido elágico, hesperidina, apigenina e curcumina. Visto que todos, exceto a curcumina, nunca tiveram seus efeitos avaliados em colágeno dentinário.

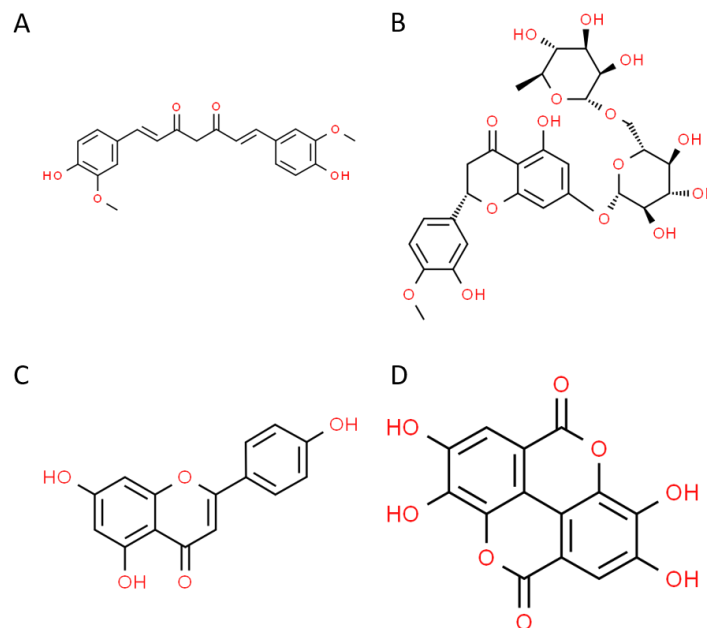


Fig. 01- Estruturas químicas dos polifenóis: (A) Curcumina, (B) Hesperidina, (C) Apigenina e (D) Ácido Elágico.

A curcumina (CM) é o principal componente bioativo da cúrcuma, tempero derivado

dos rizomas de *Curcuma longa linn.* Durante séculos, a curcumina demonstrou apresentar excelentes benefícios terapêuticos em várias doenças. Devido às suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias, a curcumina desempenha um papel regulador benéfico significativo em várias condições patológicas incluindo câncer, doença cardiovascular, doença de Alzheimer, distúrbios inflamatórios e distúrbios neurológicos (YALLAPU et al., 2015). Seseogullari-Dirihan e colaboradores em 2015, em um estudo *in vitro*, demonstraram que o pré-tratamento com uma solução de curcumina foi efetivo em preservar colágeno assim como inibir a ação de collagenases, tais como metaloproteinases de matriz e cisteíno-catepsinas, porém mais estudos são necessários para confirmar tal ação.

Já a hesperidina (HPN) é um flavonóide extraído de frutas cítricas. Os benefícios médicos deste flavonóide citrino incluem efeitos antioxidante, antiinflamatório e anticarcinogênico (TRZECIAKIEWICZ et al, 2010). Segundo Hiraishi e colaboradores em 2017, a HPN tem capacidade de interagir com o colágeno, indicando que essa interação pode contribuir para a preservação do mesmo, protegendo-o da degradação por meio de collagenases.

Outro flavonóide de origem natural bastante promissor em Odontologia restauradora é a apigenina (APG), abundantemente presente em frutas e vegetais comuns, como laranja e camomila. É reconhecida como um flavonóide bioativo, já que mostrou possuir propriedades antiinflamatórias, antioxidantes e anticarcinogênicas. Estudos epidemiológicos sugerem que uma dieta rica nesse flavonóide está relacionada a um menor risco de certos tipos de câncer, particularmente câncer de mama, trato digestivo, pele, próstata e certas doenças malignas hematológicas. Tem sido sugerido que a apigenina pode ser protetora em outras doenças que são afetadas pelo processo oxidativo, como doenças cardiovasculares e neurológicas, embora mais pesquisas precisem ser conduzidas a este respeito (SHUKLA E GUPTA, 2010).

Por fim, o ácido elágico (AE), um membro de flavonóides, é normalmente produzido por plantas e formado como taninos, conhecidos como elagitaninos. O AE contém dois grupos lactona e quatro grupos hidroxilas, nos quais o grupo hidroxila é conhecido por aumentar a atividade antioxidante na peroxidação lipídica e proteger as células dos danos oxidativos (PARI E SIVASANKARI, 2008). Atualmente o AE tem recebido atenção especial por causa de sua ampla gama de propriedades biológicas, como a atividade antioxidante, quimiopreventiva (ÇERIBAŞI et al, 2010; TÜRK et al, 2008), antiapoptótico (TÜRK et al, 2010), antimutagênico (PRIYADARSINI et al, 2002), antifibrótico (THRESIAMMA E KUTTAN, 1996), antiinflamatório (IINO et al, 2002), antiaterosclerótica (AVIRAM et al, 2004), antibacteriana (AKIYAMA et al, 2001) e antireplicação do HIV (MARTINO et al,

2004). Além de acelerar a formação óssea após a extração dentária em ratos sádios (AL-OBAIDI et al, 2014).

Embora todas as substâncias citadas acima se mostrem promissoras em Odontologia restauradora, não existem estudos na literatura comparando a capacidade de formações de ligações cruzadas de colágeno das substâncias citadas anteriormente. Logo o objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade de formação de ligações cruzadas entre ácido elágico, hesperidina, apigenina e curcumina e encontrar, a partir de varredura de concentrações, a mínima concentração efetiva. As hipóteses do estudo são: (1) todas as substâncias testadas apresentam impacto positivo no módulo de elasticidade do colágeno e (2) têm impacto positivo na variação de massa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a capacidade de biomodificação dos polifenóis de origem natural.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração mais efetiva para cada substância analisada;
- Mensurar o módulo de elasticidade dos espécimes de colágeno dentinário após imersão em polifenóis naturais;
- Verificar a formação de ligações cruzadas de colágeno, antes e após tratamento com polifenóis de origem natural;
- Mensurar alterações na massa.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Os procedimentos clínicos de coleta dos dentes foram realizados nos pacientes que se apresentaram na clínica de Cirurgia Buco-Dentária da FFOE/UFC, nos cursos de aperfeiçoamento e/ou especialização em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da Academia Cearense de Odontologia (ACO/CEC) e Associação Brasileira de Odontologia (ABO/CE) com, no mínimo, 01 (um) dente terceiro molar hígido com indicação de remoção cirúrgica, semi-incluso ou incluso. Foi considerado hígido, o dente que ao exame de inspeção visual não apresentou trincas, desgastes ou lesões cariosas. Os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), sob a regulamentação do protocolo de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da Universidade Federal do Ceará sob o número 3.212.734 (Apêndice B).

3.2 Delineamento experimental

Os fatores de estudo sob investigação foram o uso de diferentes agentes de biomodificação e diferentes concentrações dos mesmos. Sendo o primeiro fator avaliado em 5 níveis: (1) hesperidina; (2) apigenina; (3) Curcumina á e (4) ácido elágico, e o segundo avaliado em 3 níveis: 20 μ M, 200 μ M e 2mM, além do uso de (5) NaOH (controle negativo). As variáveis dependentes do estudo foram o módulo de elasticidade, avaliada quantitativamente através do teste de flexão de 3 pontos e alteração de massa, medida em balança de precisão. Para cada grupo experimental foram utilizados 10 espécimes (n=10). Para análise qualitativa das ligações presentes realizou-se o teste de espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).

3.2.1 Preparo dos espécimes

Um total de 130 (N = 10) barras de dentina com 1,7 X 0,5 X 6,0 mm de dimensão foram confeccionadas. Em seguida os espécimes foram desmineralizados completamente em solução 10% de H₃PO₄ durante o período de 5 horas, em temperatura ambiente. Posteriormente as barras foram lavadas abundantemente com água deionizadas e armazenadas

em água deionizada até a realização do teste de flexão.

3.2.2 Preparo das soluções

Todos os polifenóis foram dissolvidos nas respectivas concentrações em NaOH 0,5M, para tanto os mesmos foram mantidos em agitador magnético por 1 hora protegidos da presença de luz, seguido de filtragem com papel filtro. Após tal procedimento o pH foi aferido, sendo as soluções utilizadas imediatamente após preparo (Tabela 1).

3.2.3 Imersão nas soluções

As barras de dentina desmineralizadas foram divididas aleatoriamente em 12 grupos (n=10), passaram por processo de biomodificação através de submersão na solução correspondente ao seu grupo durante 1 hora, em placa de 96 poços. Posteriormente os espécimes foram lavados utilizando água deionizada, armazenados novamente em placa de 96 poços e seguiram para dessecação.

3.2.4 Módulo de elasticidade

O Módulo de elasticidade (ME) foi determinado em um ensaio de flexão de 3 pontos com uma célula de carga de 5,0 N montada em uma máquina de ensaios mecânicos universal (Instron 3345; Instron Inc., Canton, MA, USA) com velocidade de 0,5 mm/min (AGUIAR et al., 2014).

Imediatamente após desmineralização, realizou o teste de flexão de três pontos, obtendo-se assim os valores iniciais de todas as barras testadas, posteriormente os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em seus respectivos grupos e foi realizado um teste estatístico (Anova a dois critérios) a fim de verificar a ausência de diferença estática entre os valores iniciais ($p=0,708$).

Em seguida as barras foram imersas nas respectivas soluções durante 1 hora e foram novamente testadas, obtendo-se assim os valores de módulo de elasticidade após biomodificação.

Para análise de dados os valores iniciais e finais foram inseridos na seguinte fórmula

fim de se obter uma razão entre eles: $x = \frac{ME \text{ após biomod.}}{ME \text{ inicial}}$

3.2.5 Modificação de massa

Os palitos de dentina desmineralizados foram pesados antes (M_1) e após (M_2) a sua biomodificação com uma balança analítica de precisão de 0,00001mg (precisão: 0.01mg, AUX-220, Shimadzu, Tóquio, Japão). As amostras foram secas em um dessecador à vácuo contendo sulfato de cálcio anidro, durante 24 horas à temperatura ambiente. A avaliação da mudança de massa ($W_{MC}\%$) foi determinada com a porcentagem de ganho ou perda de base de cada amostra com base na seguinte fórmula:

$$W_{MC}\% = ((M_2 \times 100/M_1)) - 100$$

Onde M_1 é a massa matriz de dentina desmineralizada antes da biomodificação da dentina e M_2 é a massa matriz da dentina biomodificada (AGUIAR et al., 2014).

3.2.6 Espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier- FTIR

Barras de colágeno desmineralizadas com dimensões semelhantes as anteriores foram dessecadas durante 24 horas, posteriormente foram submetidas ao teste de espectroscopia por transformada de Fourier (FT-IR) em ambiente de vácuo antes e após biomodificação. Antes da leitura todos os espécimes foram dissecados por um período de 24 horas. O espectro dos espécimes secos foi feito a partir de espectrômetro (Vertex 70V, Brunker, MA, EUA) na resolução de 4cm^{-1} , onde foram anexados a uma placa de Reflectância Total Atenuada (ATR cristal ATR e o seleneto de zinco (ZnSe) com feixe de transmissão entre 4000 e 400cm^{-1}) (LIU et al., 2013) utilizando 100 como força de calibre. Avaliando o pico na região 3000 e 3600cm^{-1} . (DENG et al., 2013)

3.3 Análise estatística

A partir dos dados obtidos foram realizadas análises estatísticas descritivas, onde os resultados foram expressos como Média dos valores de Módulo de Elasticidade (M), desvio padrão (DP) e número de espécimes testados (N); $[M \pm DP (N)]$. Foi realizado um teste de normalidade utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Em seguida, para comparação entre

os grupos foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) a dois critérios. Eventuais diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste de Tukey. Em todas as situações, foi adotado o nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Quando analisada a razão entre o ME imediatamente após biomodificação e o ME inicial podemos observar que o grupo tratado com ácido elágico 200 μ M mostrou-se superior às demais concentrações deste mesmo agente biomodificador. Analisando os demais agentes testados, não foi possível observar diferença entre as concentrações, a exceção da apigenina 2mM que se apresentou inferior a apigenina 20 μ M ($p=0,878$) (Tabela 2).

Em relação aos valores de variação de massa, não foram observadas diferenças entre as diferentes concentrações dentro de um mesmo grupo, nem entre as diferentes substâncias dentro de uma mesma concentração ($p=0,280$) (Tabela 3).

Os espectros obtidos na análise de espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier podemos observar em todos os grupos tratados um aumento no pico encontrado entre 3000-3500 cm^{-1} , porém a intensidade dos mesmos não se apresentou proporcional a concentração das substâncias testadas.

5 DISCUSSÃO

Existe pouca ou nenhuma literatura a respeito de biomodificação utilizando as substâncias estudadas. O estudo teve como princípio avaliar qual concentração é mais eficaz utilizando a menor quantidade de produto na dissolução, lançando mão da realização de varredura de concentrações.

Todas as substâncias testadas apresentaram pelo menos uma concentração efetiva em elevar o módulo de elasticidade quando comparado ao controle (NaOH), aceitando a primeira hipótese deste estudo. Isso deve ter ocorrido pela interação com o colágeno tipo I que ocorre através da formação de ligações covalentes, formação de pontes de hidrogênio, interações iônicas e hidrófobas (BEDRAN-RUSSO et al., 2011), melhorando as propriedades mecânicas (AGUIAR et al., 2014).

O uso do solvente alcalino justificou-se, pois os polifenóis têm uma grande variedade de estruturas, algumas substâncias não se dissolvem em solventes convencionais, a água, como a curcumina (SESEOGULLARI-DIRIHANR et al., 2018), ou álcool. Logo, foi necessário a realização de estudo piloto prévio para determinar o solvente adequado para cada substância testada e sua influência sobre a variação do módulo de elasticidade em relação ao solvente convencional (1:1 H₂O/Et), não sendo observadas diferenças entre eles. O NaOH 0,5M foi utilizado dado aos resultados apresentados, onde foi observado que as substâncias se dissolvem de forma mais homogênea e em maiores concentrações, permitindo a utilização em concentrações de até 2mM.

A literatura não responde à questão sobre o potencial dos solventes não convencionais no aumento da formação de ligações cruzadas. Os solventes convencionais são utilizados como veículos para a infiltração de substâncias no colágeno dentinário, podendo apresentar efeito adjuvante como a cetona. Ao remover a água da matriz de colágeno desmineralizada, a cetona proporciona enrijecimento dessa matriz que, juntamente com a formação de ligações entre as fibras de colágeno, resultam em menor ruptura por fadiga ou deformação mesmo após longos períodos (EKAMBARAM; YIU; MATINLINNA, 2015). Entretanto, não há registros de estudos anteriores trazendo o NaOH como solvente, apresentando o uso do NaOH apenas como agente de regulação de pH (AL-AMMAR et al., 2009; CASTELLAN et al., 2011; GARBISA et al., 2001; JACKSON et al., 2010; SESEOGULLARI-DIRIHAN et al., 2018; ZHU et al., 2018).

Alguns polifenóis como proantocianidina e curcumina têm capacidade de formar

ligações de hidrogênio e inibição de proteases endógenas. A segunda apresenta capacidade de agregação dependendo da concentração para formação de ligações de hidrogênio e interações de carga eletrostática fazendo com que se tornem mais resistentes às proteólises endógenas, fazendo com que haja efeitos positivos em relação à massa (SESEOGULLARI-DIRIHANR et al., 2015). Os dados obtidos mostram que não houveram diferenças estatisticamente significantes na variação de massa em todas as substâncias e concentrações, como é possível observar na Tabela 3. Isto pode ser explicado pelo tempo de avaliação utilizado no estudo, especulando-se que não houve tempo hábil para que houvesse degradação. Logo, sugere-se que novos estudos sejam realizados a fim de verificar a estabilização de massa em períodos prolongados.

A curcumina apresentou-se efetiva em elevar o módulo de elasticidade em relação ao controle nas concentrações 200 μ M E 2mM. Indo de acordo com o estudo de Seseogullari-Dirihan e colaboradores em 2015, que sugere que a ação de reticulação de colágeno é efetiva dada a inativação inicial de proteases endógenas na concentração de 200 μ M.

Já a hesperidina, mostrou-se funcional na concentração de 20 μ M, o que pode ser explicado pela capacidade de formar ligações cruzadas, prevenção da degradação proteolítica (ISLAM et al., 2014) e estabilização do colágeno dentinário (HIRAISHI et al., 2011).

A apigenina obteve resultados positivos no módulo de elasticidade em todas as concentrações. Não há resultados anteriores presentes na literatura para fins de comparação em relação à biomodificação, porém atestam sua biocompatibilidade e capacidade antibacteriana (ZHU et al., 2018), sendo essas características positivas para a aplicação clínica.

O ácido elágico apresentou-se efetivo em elevar o módulo de elasticidade em relação ao controle nas concentrações 200 μ M E 2mM. Também não apresenta precedentes em estudos de biomodificação de colágeno dentinário. Porém é conhecido por seu efeito antioxidante na proteção de outros tecidos (IINO et al., 2002; PRIYADARSINI et al., 2002; TÜRK et al., 2010).

Os resultados do FTIR apontam que as substâncias têm capacidade de interagir com as fibrilas com objetivo de criar ligações cruzadas de colágeno a partir da avaliação de formação de pontes de hidrogênio entre as fibrilas ao avaliarmos seu pico correspondente no intervalo 3000 e 3600 cm^{-1} . (DENG et al., 2013) (Apêndice D). Picos na faixa utilizada na literatura avaliam qualitativamente a capacidade de biomodificação do colágeno dentinário entre as substâncias e suas concentrações. Não houve proporcionalidade entre as concentrações e os resultados obtidos, o que pode indicar que há efetividade a partir de uma faixa de

concentração e logo após pode ou não manter sua capacidade.

Com os dados obtidos, foi observado que os polifenóis de origem natural estudados apresentam capacidade de biomodificação de colágeno a partir da formação de ligações cruzadas pelos resultados do ME e FTIR. O tempo limitado do estudo pode ter influenciado na manutenção da massa em todos os grupos, por isso sugere-se que haja estudos em períodos prolongados para observar a influência das substâncias na variação de massa. Contudo, foi possível observar que 20 μ M foi a mínima concentração estatisticamente efetiva para as substâncias hesperidina e apigenina, enquanto a curcumina e o ácido elágico foram efetivos na concentração 200 μ M. É necessário que haja maiores estudos a respeito da influência do pH das substâncias e diferentes solventes no processo de reticulação de colágeno.

6 CONCLUSÃO

Biomodificação de colágeno dentinário é uma estratégia que busca melhorar as propriedades da matriz dentinária agindo de forma preventiva, reparadora ou regenerativa.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR TR, VIDAL CMP, PHANSALKAR RS, TODOROVA I, NAPOLITANO JG, MCALPINE JB, CHEN SN, PAULI GF, BEDRAN-RUSSO AK. Dentin Biomodification Potential Depends on Polyphenol Source. **J Dent Res**, Chicago, v. 93, n. 4, p. 417-422, 2014.
- AKIYAMA H, FUJII K, YAMASAKI O, OONO T, IWATSUKI K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **J Antimicrob Chemother**, vol. 48, n. 4, p. 487–491, 2001.
- AL-AMMAR A, DRUMMOND JL, BEDRAN-RUSSO AK. The Use of Collagen Cross-Linking Agents to Enhance Dentin Bond Strength. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, Hoboken, v. 91, n. 1, p. 419–424, 2009.
- AL-OBAIDI MMJ, AL-BAYATY FH, AL BATRAN R, HASSANDARVISH P, ROUHOLLAHI E. Protective effect of ellagic acid on healing alveolar bone after tooth extraction in rat—a histological and immunohistochemical study. **Arch Oral Biol.**, vol. 59, n. 9, p. 987–999, 2014.
- AVIRAM M, ROSENBLAT M, GAITINI DI. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. **Clinical Nutrition**, vol. 23, n. 3, p. 423–433, 2004.
- BEDRAN-RUSSO AK, VIDAL CM, DOS SANTOS PH, CASTELLAN CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. **J Biomed Mater Res Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v. 94, n.1, p. 250-255, 2010.
- BEDRAN-RUSSO AK, CASTELLAN CS, SHINOHARA MS, HASSAN L, ANTUNES A. Characterization of biomodified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. **Acta Biomater**, Kidlington, v. 7, n. 4, p. 1735–1741, abr. 2011.
- BEDRAN-RUSSO AK, PAULI GF, CHEN SN, MCALPINE J, CASTELLAN CS, PHANSALKAR RS, AGUIAR TR, VIDAL CMP, NAPOTILANO JG, NAM JW, LEME

AA. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dent Mater**, Copenhagen, v. 30, n. 1, p. 62-76, 2014.

BROYLES AC, PAVAN S, BEDRAN-RUSSO AK. Effect of dentin surface modification on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cements. **J Prosthodont**, Philadelphia, v. 22, n. 1, p. 59-62, 2013.

CASTELLAN CS, PEREIRA PNR, GRANDE RHM, BEDRAN-RUSSO AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. **Dent Mater**, Copenhagen, v. 26, n. 10, p. 968-973, 2010.

ÇERİBAŞI AO, TÜRK G, SÖNMEZ M, SAKIN F, ATEAHIN A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant—antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, vol. 107, n. 3, p. 730–736, 2010.

CASTELLAN CS, PEREIRA PN, GRANDE RHM, BEDRAN-RUSSO AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin–dentin matrix interaction. **Dental Materials**, v. 26, n. 10, p. 968–973, out. 2010.

DENG M, DONG X, ZHOU X, WANG L, LI H, XU X. Characterization of dentin matrix biomodified by *Galla chinensis* extract. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 4, p. 542–547, 2013.

DOS SANTOS PH, KAROL S, BEDRAN-RUSSO AK. Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin-resin interface components. **J Biomech**, New York, v. 44, n. 9, p. 1691-1694, 2011.

EKAMBARAM M, YIU C K Y, MATINLINNA J P. Effect of Solvents on Dentin Collagen Cross-linking Potential of Carbodiimide. **The journal of adhesive dentistry**, v. 17, n. 3, p. 219–226, 2015.

GARBISA S, SARTOR L, BIGGIN S, SALVATO B, BENELLI, R.; ALBINI, A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. **Cancer**; New York, v. 91, n. 4, p. 822-832, fev. 2001.

HIRAISHI N, SONO R, ISLAM MS, OTSUKI M, TAGAMI J, TAKATSUKA T. Effect of hesperidin in vitro on root dentine collagen and demineralization. **Journal of Dentistry**, v. 39, n. 5, p. 391–396, 2011.

HIRAISHI N, MARUNO T, TOCHIO N, SONO R, OTSUKI M, TAKATSUKA T, TAGAMI J, KOBAYASHI Y. Hesperidin interaction to collagen detected by physico-chemical techniques. **Dent Mater.**, v. 33, n.1, p. 33-42, 2017.

IINO T, TASHIMA K, UMEDA M. Effect of ellagic acid on gastric damage induced in ischemic rat stomachs following ammonia or reperfusion. **Life Sciences**, vol. 70, n. 10, p. 1139–1150, 2002.

ISLAM, MS, HIRAISHI N, NASSAR M, YIU C, OTSUKI M, TAGAMI J. Effect of hesperidin incorporation into a self-etching primer on durability of dentin bond. **Dental Materials**, v. 30, n. 11, p. 1205–1212, 2014.

JACKSON JK, ZHAO J, WONG W, BURT HM. The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechingallate and epicatechingallate. **J Mater Sci Mater Med**, London, v. 21, n. 5, p. 1435-1443, mai. 2010.

LIU Y, CHEN M, YAO X, XU C, ZHANG Y, WANG Y. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. **Dent Mater**, Copenhagen, v. 29, n. 4, p. 485-492, 2013.

MACEDO GV, YAMAUCHI M, BEDRAN-RUSSO AK. Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. **J Dent Res**, Chicago, v. 88, n. 12, p. 1096-1100, 2009.

MARTINO V, MORALES J, MARTÍNEZ-IRUJO JJ, FONT M, MONGE A, COUSSIO J. Two ellagitannins from the leaves of Terminalia triflora with inhibitory activity on HIV-1 reverse transcriptase. **Phytother Res.**, vol. 18, n. 8, p. 667–669, 2004.

PANDEY KB, RIZVI SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–8, 2009.

- PAVAN S, XIE Q, HARA AT, BEDRAN-RUSSO AK. Biomimetic approach for root caries prevention using a proanthocyanidin-rich agent. **Caries Res**, Basel, v. 45, n. 5, p. 443–447, 2011.
- PARI L, SIVASANKARI R. Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.22, n. 4, p. 395–401, 2008.
- PASHLEY DH, TAY FR, BRESCHI L, TJÄDERHANE L, CARVALHO RM, CARRILHO M, TEZVERGIL-MUTLUAY A. State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dent Mater**. v.27, n.1, p.1-16, 2011.
- PRIYADARSINI KI, KHOPDE SM, KUMAR SS, MOHAN H. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. **J Agric Food Chem.**, v. 50, n. 7, p. 2200–2206, 2002.
- SESEOGULLARI-DIRIHAN R, MUTLUAY MM, VALLITTU P, PASHLEY D, TEZVERGIL-MUTLUAY A. Effect of Pretreatment with Collagen Crosslinkers on Dentin Protease Activity. **Dent Mater.**, v.31 n.8, p.941-947, 2015.
- SESEOGULLARI-DIRIHAN R, TEKBAS A, PASHLEY DH, TEZVERGIL-MUTLUAY A. Inhibitory effect of curcuminoid pretreatments on endogenous dentin proteases. **Dental Materials Journal**, v. 37, n. 3, p. 445–452, 2018.
- SHUKLA S, GUPTA S. Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention. **Pharmac Res.**, v. 27. N.6, p. 962-978, 2010.
- TAY FR, PASHLEY DH. Biomimetic remineralization of resin-bonded acid-etched dentin. **J Dent Res**, Chicago; v. 88, n. 8, p. 719-724, ago. 2009.
- THRESIAMMA KC, KUTTAN R. Inhibition of liver fibrosis by ellagic acid. **Indian J Physiol Pharmacol.**, v. 40, n. 4, p. 363–366, 1996.
- TJÄDERHANE L, NASCIMENTO FD, BRESCHI L, MAZZONI A, TERSARIOL ILS, GERALDELI S, TEZVERGIL-MUTLUAY A, CARRILHO MR, CARVALHO RM, TAY

FR, PASHLEY DH. Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. **Dent Mater**, Copenhagen, v. 29, n. 1, p. 116-135, jan. 2013.

TRZECIAKIEWICZ A, HABAUZIT V, MERCIER S, LEBECQUE P, DAVICCO MJ, COXAM V, DEMIGNE C, HORCAJADA MN. Hesperetin stimulates differentiation of primary rat osteoblasts involving the BMP signalling pathway. **J Nutr Biochem**. v.21 n.5, p. 424-31, 2010.

TÜRK G, TEŞŞAHİN A, SÖNMEZ M, ÇERİBAŞI OA, YÜCE A. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. **Fertility and Sterility**, v. 89, n. 5, p. 1474–1481, 2008.

TURK G, ÇERİBAŞI AO, SAKIN F, SÖNMEZ M, ATEŞŞAHİN A. Antiperoxidative and anti-apoptotic effects of lycopene and ellagic acid on cyclophosphamide-induced testicular lipid peroxidation and apoptosis. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, n. 4, p. 587–596, 2010.

VIDAL CMP, AGUIAR TR, PHANSALKAR R, MCALPINE JB, NAPOLITANO JG, CHEN SN, ARAÚJO LSN, PAULI GF, BEDRAN-RUSSO AK. Galloyl moieties enhance the dentin biomodification potential of plant-derived catechins. **Acta Biomater**, Kidlington, v. 10, n. 7, p. 3288–3294, 2014.

YALLAPU MM, NAGESH PKB, JAGGI M, CHAUHAN SC. Therapeutic Applications of Curcumin Nanoformulations. **The AAPS Journal**. v.17, n. 6, p.1341-1356, 2015.

ZHU B, LI X, XU X, LI J, DING C, ZHAO C, LI J. One-step phosphorylated poly(amide-amine) dendrimer loaded with apigenin for simultaneous remineralization and antibacterial of dentine. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, n. September, p. 760–768, dez. 2018.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**

Eu, _____, portador do RG _____, inscrito no CRO _____, residente à (Rua, Avenida) _____, n° _____, bairro _____ na cidade de _____, Estado _____, CEP _____ telefone _____, concordo em doar de forma voluntária _____ dentes para realização da pesquisa intitulada **AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE BIOMODIFICAÇÃO DO COLÁGENO DE DIFERENTES POLIFENÓIS DE ORIGEM NATURAL**. Declaro que estes dentes foram extraídos por indicação terapêutica. Estou ciente que serão utilizados por alunos e pesquisadores da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará para realização de pesquisas.

_____, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do doador

APÊNDICE B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOMODIFICAÇÃO DENTINÁRIA DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS DE ORIGEM NATURAL.

Pesquisador: Marcelo Victor Sidou Lemos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 06381318.3.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia Restauradora

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.212.734

Apresentação do Projeto:

A durabilidade de restaurações resinosas continua a ser um desafio em Odontologia restauradora. Nesse contexto, o uso de agentes de ligações cruzadas de colágeno dentinário de origem natural tem ganhado cada vez mais espaço na literatura, sendo as proantocianidinas, extraídas da semente da uva, as mais pesquisadas. Entretanto, seu emprego apresenta diversas desvantagens tais como a pigmentação do substrato e o longo tempo de aplicação. Na busca por novos agentes naturais de biomodificação dentinária foi proposto que diferentes polifenóis poderiam apresentar efeito semelhante, tais como o ácido elágico, a hesperidina, a apigenina, a curcumina e a epigallocatequina-3-galato. Também foi sugerido que o uso da quitosana, um biopolímero natural, poderia atuar de forma coadjuvante no reforço do colágeno. O trabalho será dividido em 5 fases, sendo a primeira delas denominada - Fase I: "Avaliação da capacidade de biomodificação do colágeno de diferentes polifenóis de origem natural" utilizando-se as metodologias de teste de flexão de 3 pontos (n=10), alteração de massa (n=10), taxa de biodegradação (n=10) e alteração de cor (n=10). Em seguida será realizada a Fase II: "Avaliação da incorporação de diferentes polifenóis de origem natural em ácido fósfórico" utilizando-se as metodologias de resistência de união (n=10), nanoinfiltração (n=6) e micropermeabilidade (n=3). A terceira Fase será denominada: "Avaliação da capacidade de biomodificação do colágeno após pré-tratamento com quitosana", para tanto serão realizados os testes de resistência de união (n=10), flexão de 3 pontos (n=10) e alteração de massa (n=10). Para a

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 60.430-275

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 3.212.734

realização da Fase IV: "Avaliação da associação entre polifenóis de origem natural e quitosana sobre a união em dentina hígida e afetada por cárie", serão realizados os testes de resistência de união (n=10), nanoinfiltração (n=6) e micropermeabilidade (n=3). Por fim, será realizada a Fase V: "Avaliação das propriedades físicas e químicas de um adesivo simplificado incorporado com agentes de biomodificação associados à quitosana" através dos testes de resistência de união (n=10), grau de conversão (n=3).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a capacidade de biomodificação dentinária do ácido elágico, hesperidina, apigenina, curcumina, epigallocatequina-3-galato e proantocianidinas, associadas ou não a quitosana.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar a capacidade de formação de ligações cruzadas dos polifenóis de origem natural.
2. Determinar a melhor concentração e tempo de aplicação dos polifenóis e da quitosana sobre dentina.
3. Analisar a influência do uso da quitosana sobre o colágeno dentinário.
4. Avaliar a influência da associação dos agentes de ligações cruzadas e quitosana sobre sistemas adesivos simplificados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Para o estudo serão utilizados terceiros molares extraídos por motivos alheios a pesquisa. Logo por se tratar de uma pesquisa laboratorial "in vitro", a mesma não oferece riscos aos doadores.

Benefícios:

Possibilidade de desenvolvimento de novos materiais adesivos que possam influenciar na durabilidade das restaurações odontológicas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa muito relevante para a área da dentística.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos apresentados. Conforme solicitado o pesquisador incluiu a Declaração de Concordância dos envolvidos com o projeto.

Recomendações:

Não se aplica.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepa@ufc.br

Continuação do Parecer: 3.212.734

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1194687.pdf	27/02/2019 12:26:23		Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLAR.pdf	27/02/2019 12:25:51	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Outros	CARTA.pdf	25/01/2019 17:54:54	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Orçamento	ORCANOVO.pdf	25/01/2019 17:37:51	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Cronograma	CRONONOVO__.pdf	25/01/2019 17:34:08	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Brochuraprojeto__.pdf	21/01/2019 11:30:09	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTRO.pdf	21/01/2019 11:27:39	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Outros	termodefidepositario.pdf	09/08/2018 12:05:02	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Cartadeautorizacao.pdf	09/08/2018 12:03:44	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
Declaração do Patrocinador	custeio.pdf	06/08/2018 14:27:39	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termodedispensa.pdf	06/08/2018 14:25:50	Marcelo Victor Sidou Lemos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 9.212.734

FORTALEZA, 21 de Março de 2019

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE **Município:** FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepa@ufc.br

APÊNDICE C – TABELAS

Tabela 1. Agentes de ligações cruzadas utilizados no estudo.

	Grupo	Solvente	Ph	Pureza	Marca	Nº do Lote
Curcumina	20µM (p/v)		12,12	65%	Sigma Aldrich, China	MKCD2451
	200µM (p/v)	NaOH 0,5M	11,93	(Curcuma		
	2mM (p/v)		11,77	longa)		
Hesperidina	20µM (p/v)		11,96	80% (citrus species)	Sigma Aldrich, Spain	SLBP3689V
	200µM (p/v)	NaOH 0,5M	11,92			
	2mM (p/v)		11,80			
Apigenina	20µM (p/v)		11,79	98%	KAN Phytochemica Is, Haryana, India	
	200µM (p/v)	NaOH 0,5M	11,85	(Matricaria		
	2mM (p/v)		11,47	recutita L.)		
Ácido Elágico	20µM (p/v)		11,82	95% (tree bark)	Sigma Aldrich, UK	BCBV1619
	200µM (p/v)	NaOH 0,5M	11,76			
	2mM (p/v)		10,47			

Tabela 2. Média e desvio-padrão da razão em o módulo de elasticidade após biomodificação/ módulo de elasticidade inicial.

	Curcumina	Hesperidina	Apigenina	Ácido Elágico	NaOH
20µM	1,71 (0,59)Abc	2,01 (0,46)Aab	2,85(0,44)Aa	1,69 (0,51)Bbc	0,70 (0,22)Ac
200µM	1,63 (0,67)Ab	1,44 (0,32)Abc	2,05 (0,32)ABb	3,31 (0,59)Aa	0,70 (0,22)Ac
2mM	1,39 (0,56)Aab	1,44 (0,37)Aab	1,83 (0,62)Ba	2,45 (0,48)Ba	0,70 (0,22)Ab

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas dentro de uma mesma coluna ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em linha ($p < 0,05$). Valores de média > 1 indicam aumento no módulo de elasticidade, valores de média < 1 indicam diminuição do módulo de elasticidade.

Tabela 3. Variação de massa (%) e desvio padrão após biomodificação.

	Curcumina	Hesperidina	Apigenina	Ácido Elágico	NaOH
20µM	2,07 (0,10)Aa	1,71 (0,69)Aa	4,01(0,69)Aa	10,59 (0,52)Aa	0,00 (0,12)Aa
200µM	7,21 (0,76)Aa	5,06 (0,47)Aa	10,01 (0,54)Aa	3,96 (0,58)Aa	0,00 (0,12)Aa
2mM	8,29 (0,19)Aa	5,04 (0,42)Aa	6,53 (0,39)Aa	5,65 (0,40)Aa	0,00 (0,12)Aa

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas dentro de uma mesma coluna ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas em linha ($p < 0,05$).

APÊNDICE D – GRÁFICOS FT-IR

