



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MADIANA MAGALHÃES MOREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS RESINOSOS A PARTIR DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU**

FORTALEZA

2022

MADIANA MAGALHÃES MOREIRA

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS RESINOSOS A PARTIR DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira.

Coorientador: Prof. Dr. Victor Pinheiro Feitosa.

FORTALEZA

2022

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)

M838d Moreira, Madiana Magalhães.
Desenvolvimento de materiais dentários resinosos a partir do líquido da casca da castanha de caju /
Madiana Magalhães Moreira. – 2022.
123 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira.
Coorientação: Prof. Dr. Victor Pinheiro Feitosa.

1. Metacrilatos. 2. Anacardium. 3. Adesivos dentinários. 4. Resinas compostas. 5. Longevidade. I.
Título.

CDD 617.6

DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS RESINOSOS A PARTIR DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em 5 de maio de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Lidiane Costa de Souza
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pierre Basílio de Almeida Fechine
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcelo Victor Sidou Lemos
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dr. Luiz Filipe Barbosa Martins
Faculdade Paulo Picanço (FACPP)

Ao meu filho Gael, espero que compreenda os momentos de ausência e se orgulhe dessa trajetória de sua mãe.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira, pela orientação atenciosa, por todo ensinamento, paciência, disposição, incentivo e confiança. Por acreditar em mim e topiar entrar em um novo programa de pós-graduação. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim. Obrigada de coração!

Ao Prof. Dr. Victor Pinheiro Feitosa, pelo amigo e professor que tive o prazer de conviver e aprender por mais 4 anos. Seus ensinamentos extrapolam a esfera acadêmica e ensinam a ver o mundo e as pessoas com outros olhos... de confiança, de curiosidade, de paciência, de entusiasmo. Como você diz, sempre dá tudo certo e com você dá mesmo. Agradeço e agradecerei sempre por esses anos de aprendizado e amizade ao seu lado.

Aos professores participantes da banca examinadora: Prof^ª. Dr^ª. Lidianie Souza pelas, sem dúvidas, valiosas colaborações e sugestões ao trabalho, você é uma referência de profissional para mim; Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida Fechine pelo tempo, pela atenção e pelas contribuições desde a qualificação do trabalho que certamente contribuirão para o aperfeiçoamento da tese; Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça pela leitura atenciosa visando aprimorar este trabalho, fico muito feliz de ter meu professor da graduação nesse momento tão importante; Prof. Dr. Marcelo Victor Sidou Lemos por prontamente aceitar o convite e dedicar tempo, atenção e cuidado destinados à tese, tenho muito orgulho e admiração pela trajetória do meu amigo de graduação.

À CAPES e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) da UFC, em nome da coordenadora Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Sá Roriz Fonteles, da secretária Joana Karla de Assis Pinheiro e do secretário Rafael Maia Reis, por todo apoio, prontidão em sanar dúvidas, disponibilidade de tempo, de recursos e de atenção aos pós-graduandos.

Aos professores Garrit Koller e Timothy Watson do King's College de Londres por toda receptividade e acolhimento ao me receber no seu laboratório para realizar a zimografia. Aprendi bastante com vocês e levarei essa experiência para minha vida.

Aos (às) professores (as) do PPGO-UFC, por todos os ensinamentos, aulas, desafios que contribuíram para minha formação acadêmica e profissional.

À Central Analítica - UFC/CT - INFRA/MCTI - SISNANO/Pró-Equipamentos CAPES pela realização das análises em microscópio eletrônico de varredura.

À Faculdade Paulo Picanço pela disponibilização do laboratório e equipamentos a qualquer momento, por toda assistência, entusiasmo e suporte para o desenvolvimento do terceiro capítulo da pesquisa.

Aos colegas do LPT, do Curso de Química da Universidade Federal do Ceará, por todo ensinamento, ajuda e amizade: muito obrigada, Joyce e Avelino! Rita e Lucas, vocês foram essenciais para que esse trabalho fosse concretizado, não tenho nem palavras para agradecer o suporte dado para a síntese e a caracterização dos monômeros, além de tantas revisões de tantas versões da tese. Agradeço a parceria, o compromisso e o empenho de vocês destinados à pesquisa e guardo uma imensa admiração por vocês.

Aos colegas da turma de doutorado, pelo aprendizado conjunto, amizade e apoio mesmo diante das dificuldades encontradas nesses anos de pandemia.

A todas (os) alunas (os) com quem tive a oportunidade de aprender nesses 4 anos. Todo estudo, dedicação e aprendizado adquirido é, principalmente, para vocês.

Ao Team Feitosa e Madi, por toda parceria, dedicação à pesquisa e união que foram essenciais para o desenvolvimento desse trabalho: muito obrigada, Karen Evellin, Matheus Levi, Vitaliano Neto, Rhayne Falcão, Nathália Barbosa, Diego Martins e Ana Letícia. Manuela Timbó e Ana Larissa, sou muito grata por ter tido alunas como vocês, que aprendem e ensinam, por se dedicaram com tanto afinho à pesquisa e que são parte dessa tese também.

À minha família, no nome da minha mãe Lorena e meu pai Benito, sem vocês essa caminhada não teria sido possível. Ao meu filho Gael, às minhas irmãs Mariana e Fernanda, ao meu irmão Victor e à minha avó Maria da Penha, pelo estímulo e por todo suporte necessário para a realização deste doutorado. Ao meu companheiro Roger, por todo apoio, dedicação, companhia, compreensão... a vida ao seu lado é leve e feliz. Com vocês tive todo o suporte necessário nos inúmeros dias e noites em que vocês ficaram com o Gael para eu estudar ou trabalhar. Posso dizer, com certeza, que sozinhos não fazemos nada e essa tese só se concretizou por eu caminhar ao lado de vocês.

“Quem quiser andar ligeiro nessa vida ande só.
Mas se tu quer chegar longe, acompanhado é
bem melhor.” (Mestre Pernalonga).

RESUMO

Monômeros vêm sendo sintetizados para reduzir o uso de derivados do bisfenol A e aumentar as propriedades mecânicas do colágeno e do polímero, com o intuito de aperfeiçoar a biocompatibilidade e o desempenho em longo prazo dos materiais dentários. Uma fonte natural e renovável de lipídios fenólicos é o líquido da casca da castanha de caju (LCC), o qual em sua forma técnica é composto principalmente por cardanol, o qual apresenta variados sítios reacionais, estrutura molecular flexível e hidrofóbica, favoráveis ao desenvolvimento de monômeros metacrílicos. Dessa forma, a presente tese é constituída por três capítulos, que têm como objetivo, respectivamente: 1) sintetizar monômeros metacrílicos obtidos a partir da incorporação de grupos metacrilatos na cadeia carbônica do cardanol, podendo adicionar concomitantemente na hidroxila fenólica, para aplicação em materiais odontológicos; 2) avaliar os efeitos na inibição de metaloproteinases de matriz (MMPs), nas propriedades físico-químicas e na adesão dentinária de adesivo universal incorporado com cardanol metacrilato; 3) analisar a influência nas propriedades físico-químicas e mecânicas de resinas compostas da substituição do Bis-GMA por trimetacrilato derivado do cardanol. Os monômeros cardanol metacrilato (CNMA) e cardanol trimetacrilato (CTMA) foram sintetizados e caracterizados por ressonância magnética nuclear e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). No capítulo 2, *crosslinkers* foram adicionados em 2% ao adesivo Ybond Universal[®] (controle): proantocianidina, cardanol ou CNMA. Avaliou-se a inibição de MMPs por zimografia, grau de conversão por FT-IR, sorção de água e solubilidade, resistência de união à microtração e nanoinfiltração por microscopia eletrônica de varredura após 24 horas e 6 meses de envelhecimento. Dados foram analisados por ANOVA e pós-teste de Tukey ($\alpha=0,05$). CNMA foi eficaz em inibir MMPs, reduzir a solubilidade e não interferir na polimerização do adesivo; contudo, não minimizou a degradação da interface adesiva em longo prazo. No capítulo 3, formularam-se resinas compostas (50% Bis-GMA + 50% TEGDMA) e foi analisado o efeito da incorporação de CTMA no grau de conversão por FT-IR, sorção e solubilidade, viscosidade, degradação térmica e propriedades mecânicas. Dados foram analisados por ANOVA e pós-teste de Tukey ($\alpha=0,05$). As resinas com CTMA e a controle não apresentaram diferenças significativas em relação ao grau de conversão e às propriedades mecânicas ($p>0,05$); no entanto, a incorporação do trimetacrilato foi eficaz na redução da viscosidade, sorção de água e solubilidade quando comparada com as resinas a base de Bis-GMA ($p<0,05$). CTMA revelou-se como um trimetacrilato promissor, substituto do Bis-GMA, para incorporação em materiais

dentários resinosos, visto que não interferiu significativamente nas propriedades químicas e mecânicas, além de ter melhorado as propriedades físicas das resinas.

Palavras-chave: metacrilatos; anacardium; adesivos dentinários; resinas compostas; longevidade.

ABSTRACT

Monomers have been synthesized to reduce the use of bisphenol A derivatives and to increase the mechanical properties of collagen and polymers in order to improve the biocompatibility and long-term performance of dental materials. A natural and renewable source of phenolic lipids is the cashew nut shell liquid (CNSL), which in its technical form is composed mainly of cardanol. Cardanol presents a variety of reactional sites, besides its flexible and hydrophobic molecular structure, favorable for the development of methacrylic monomers. Thus, this thesis consists of three chapters, which aim, respectively, to: 1) synthesize methacrylic monomers obtained from the incorporation of methacrylate groups in the carbon chain of cardanol, which may also be added to the phenolic hydroxyl, for application in dental materials; 2) evaluate the effects on matrix metalloproteinases (MMPs) inhibition, physicochemical properties and dentin adhesion of the incorporation in universal adhesive of cardanol methacrylate; 3) analyze the influence on physicochemical and mechanical properties of composite resins of the replacement of Bis-GMA by a cardanol-derived trimethacrylate. Monomers cardanol methacrylate (CNMA) and cardanol trimethacrylate (CTMA) were synthesized and characterized using nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). In chapter 2, the following collagen crosslinkers were added in 2 wt % to the Ybond Universal[®] adhesive (control): proanthocyanidin, cardanol and CNMA. Inhibition MMPs was evaluated by zymography, the degree of conversion was assessed by FT-IR, water sorption and solubility, and dentin adhesion by microtensile bond strength and nanoleakage tests by scanning electron microscopy after 24 hours and 6-month aging. Data were analyzed by ANOVA and Tukey's post-test ($\alpha=0.05$). CNMA was effective in inhibiting MMPs and reducing solubility without interfering with adhesive polymerization; however, it could not promote less degradation of the adhesive interface in long-term. In chapter 3, composite resins were formulated (50 wt % Bis-GMA + 50 wt % TEGDMA), and the effect of CTMA incorporation was investigated by means of degree of conversion by FT-IR, water sorption and solubility, viscosity, thermal degradation, and mechanical properties were evaluated. Data were analyzed by ANOVA and Tukey's post-test ($\alpha=0.05$). CTMA and control resins did not show significant differences regarding degree of conversion and mechanical properties ($p>0.05$); however, the incorporation of the trimethacrylate was effective in reducing viscosity, water sorption and solubility when compared to Bis-GMA resins ($p<0.05$). CTMA is a feasible co-monomer for dental restorative materials, as a Bis-GMA substitute, since it did not interfere in the chemical and mechanical properties and further improved the physical properties of the resins.

Keywords: methacrylates; anacardium; dentin-bonding agents; composite resins; longevity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bis-GMA	Bisfenol A glicidil metacrilato
CN	Cardanol
CNE	Cardanol Epoxidado
CNMA	Cardanol Metacrilato
CTMA	Cardanol Trimetacrilato
CNSL	<i>Cashew Nut Shell Liquid</i>
FT-IR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
LCC	Líquido da Casca da Castanha de Caju
LCCt	Líquido da Casca da Castanha de Caju Técnico
MMP	Metaloproteinases de matriz
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PAC	Proantocianidina
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>
TEGDMA	Trietileno glicol dimetacrilato
UNAD	<i>Universal Adhesive</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	15
2	PROPOSIÇÃO	20
	2.1 Objetivo geral.....	20
	2.2 Objetivos específicos.....	20
3	CAPÍTULOS	21
	3.1 Capítulo 1: Patente - Síntese e aplicação odontológica de monômeros funcionais metacrílicos derivados do líquido da casca da castanha de caju.....	21
	3.2 Capítulo 2: Artigo científico - <i>Metacrylic monomer derived from cardanol incorporated in dental adhesive as a polymerizable collagen crosslinker</i>	43
	3.3 Capítulo 3: Artigo científico - <i>Evaluation of the physicochemical and mechanical properties of composite resins formulated with biobased trimethacrylate monomer as a Bis-GMA substitute</i>	82
4	CONCLUSÃO GERAL	114
	REFERÊNCIAS	115
	APÊNDICE A – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS	118
	ANEXO A – SEGUIMENTO DO REGIMENTO INTERNO	119
	ANEXO B – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA	120

1 INTRODUÇÃO GERAL

A dentina ainda é um substrato bastante desafiador em termos de adesão, por conta de seu conteúdo orgânico e característica hidrofílica, que propiciam a degradação da camada híbrida pela hidrólise polimérica ocasionada pela presença de água na interface adesiva (CARDOSO et al., 2011). Além disso, a porção de dentina desmineralizada que permanece exposta e não infiltrada pelo adesivo dentinário torna-se sujeita à perda progressiva de suas fibrilas de colágeno desprotegidas, as quais são vulneráveis à atividade de enzimas endógenas, como as metaloproteinases de matriz (MMPs) e as catepsinas (SCAFFA et al., 2017). Essa biodegradação influencia diretamente na redução da longevidade dos procedimentos restauradores odontológicos (HUANG et al., 2018).

Uma alternativa para melhorar a qualidade e a longevidade da adesão à dentina é o aumento das propriedades mecânicas do colágeno dentinário através de sua reticulação (MOREIRA et al., 2017). Nesse contexto, diversos agentes biomodificadores vêm sendo empregados em materiais odontológicos para proteger as fibrilas de colágeno da biodegradação através da formação de ligações cruzadas (*crosslink*), já que estas aumentam as propriedades mecânicas do colágeno e minimizam a degradação enzimática, contribuindo para a estabilidade da camada híbrida e a consequente maior durabilidade das restaurações (HASS et al., 2016; MOREIRA et al., 2017; TREVELIN et al., 2020). Agentes biomodificadores sintéticos, como o glutaraldeído, já foram testados e, apesar de interagirem bem com o colágeno, apresentam uma aplicação clínica reduzida em razão de sua baixa biocompatibilidade (EYÜBOĞLU, YEŞILYURT e ERTÜRK, 2015).

Um agente biocompatível e bastante pesquisado como *crosslinker* de colágeno é a proantocianidina (PAC), um flavonoide natural comumente disponível em vegetais e frutas, como na semente da uva (*Vitis vinifera*). O uso da PAC em diversos estudos *in vitro* revelou uma significativa melhora da resistência de união (ASTHANA et al., 2021; MARYA e HANDA, 2021; TREVELIN et al., 2020), da estabilidade do colágeno dentinário (AYDIN et al., 2019), da nanodureza e do módulo de elasticidade das interfaces resina-dentina (LEME-KRAUS et al., 2017). Entretanto, esses resultados não se mostram estáveis clinicamente após 24 meses e sua coloração escura limita o uso clínico, por conta do manchamento de substratos dentais (DE SOUZA et al., 2020; MOREIRA et al., 2017).

Dentre os produtos de origem natural e renovável que tem os compostos sendo pesquisados como *crosslinkers* de colágeno, destaca-se o líquido da casca da castanha de caju (LCC) (MOREIRA et al., 2017), uma biomassa rica em lipídios fenólicos, que compõe

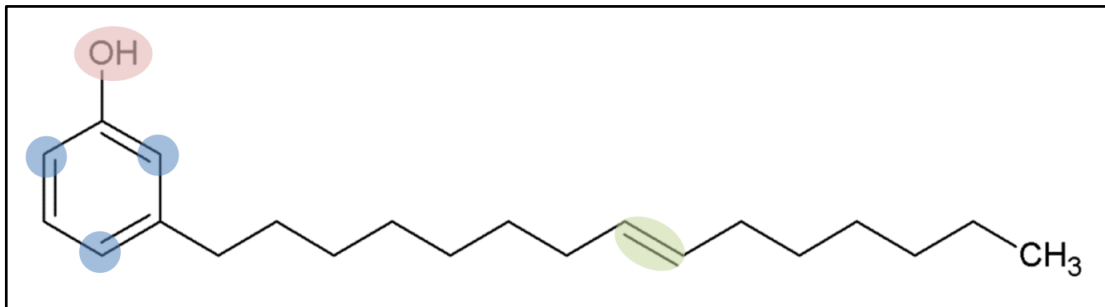
aproximadamente 25% do peso da castanha de caju (LOMONACO, MELE e MAZZETTO, 2017). O LCC pode ser classificado em dois tipos, a depender do método de extração: o LCC natural é extraído por solvente e é rico em ácido anacárdico, o qual sofre descarboxilação sob elevadas temperaturas e converte-se em cardanol, passando então a se chamar LCC técnico (LCCt) (LOMONACO, MELE e MAZZETTO, 2017). O LCCt é um subproduto da indústria de processamento da castanha de caju e não é citotóxico ou mutagênico (LEITE et al., 2019). Apesar desse subproduto apresentar amplas possibilidades de exploração em aplicações industriais ou biológicas, por exemplo como revestimento anticorrosivo (DA SILVA et al., 2022), larvicida (KALA et al., 2019) e antimicrobiano (DE OLIVEIRA SOUZA et al., 2022), estão concentradas em segmentos de baixo valor agregado.

A agroindústria do caju tem relevância expressiva para a geração de empregos e para a economia brasileira, visto que o Brasil produziu cerca de 140 mil toneladas de castanha de caju apenas em 2020, destacando-se o estado do Ceará, que respondeu por mais de 60% da produção de castanha de caju nacional, seguido pelo Piauí e Rio Grande do Norte (IBGE, 2021). O processamento dessa amêndoa produz em torno de 45 mil toneladas por ano de LCCt como subproduto no Brasil, tornando seu descarte complexo (LOMONACO, MELE e MAZZETTO, 2017). Diante da importância econômica da agroindústria do caju para o Ceará e para o Brasil, associada à decorrente produção de volumosas quantidades de LCCt de baixo valor agregado, essa biomassa sustentável torna-se uma matéria-prima atrativa para o desenvolvimento de novos produtos, buscando aumentar a rentabilidade alcançada com os derivados do LCCt.

O principal componente do LCCt é o cardanol (67,8 a 94,6%), o qual possui características estruturais interessantes para o emprego em materiais dentários, como longa cadeia carbônica (LOMONACO, MELE e MAZZETTO, 2017). O uso de monômeros de longa cadeia espaçadora em sistemas resinosos é favorável, como explicado no estudo de Feitosa et al. (2014), que concluiu que quanto maior a cadeia espaçadora do monômero, maior sua hidrofobicidade, resultando em menor sorção de água e degradação polimérica e maior estabilidade hidrolítica ao polímero. Além disso, o anel aromático do cardanol concede relativa rigidez e resistência polimérica, as hidroxilas podem realizar ligações de hidrogênio com o colágeno, enquanto a cadeia alquílica propicia flexibilidade ao monômero, reduzindo sua viscosidade e a consequente necessidade de incorporação de monômeros diluentes de baixo peso molecular. Ainda dispõe de variados sítios reacionais, distribuídos pelo anel aromático, hidroxila fenólica e insaturações ao longo da cadeia carbônica (Figura 1), aptos para a incorporação de grupos funcionais, como metacrilatos, que podem aprimorar as propriedades

físico-químicas e mecânicas dos materiais dentários, como a redução da lixiviação de monômeros residuais presentes nos polímeros.

Figura 1 – Estrutura molecular do cardanol e seus principais sítios reacionais em destaque



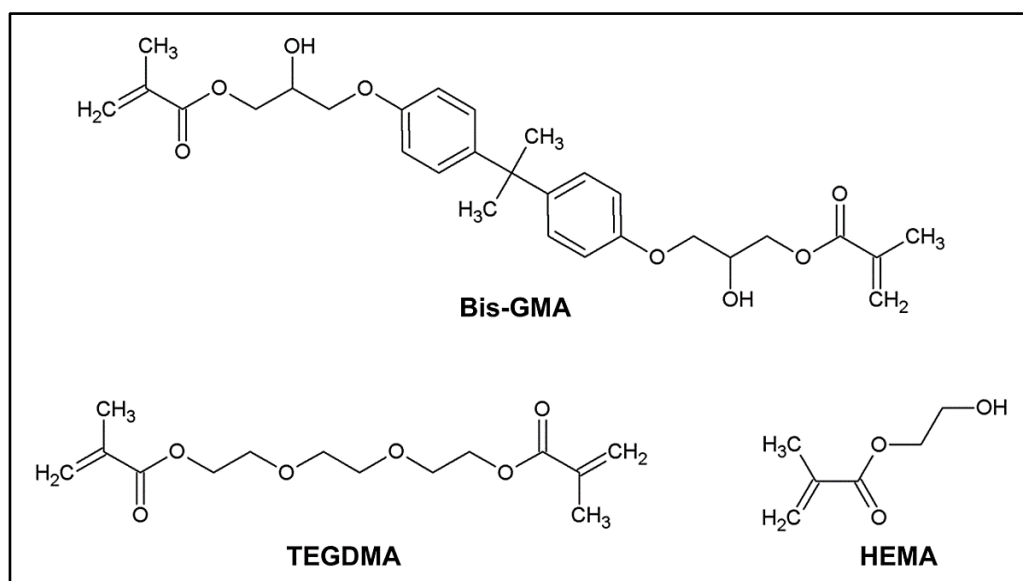
Fonte: Elaborada pela autora.

Baseado nessas promissoras características estruturais da molécula, o cardanol foi avaliado como agente de biomodificação dentinária e revelou a maior resistência à biodegradação dentre os produtos testados, formação de ligações cruzadas com o colágeno, ausência de pigmentação dos substratos dentários, além de elevar o módulo de elasticidade da dentina em 109,9% (MOREIRA et al., 2017). O estudo de Moreira et al. (2018) sintetizou o monômero cardanol metacrilato epoxidado, o qual foi empregado em dessensibilizante resinoso e resultou na superfície mais homogênea e ocluída dentre os dessensibilizantes dentinários investigados, como também na maior redução da permeabilidade dentinária, mesmo após desafio ácido. Portanto, o cardanol destaca-se como uma molécula com características estruturais bastante atrativas para aplicação na Odontologia, estimulando a síntese de novos monômeros metacrílicos para incorporação em materiais resinosos, como sistemas adesivos e resinas compostas.

O monômero metacrílico mais comumente utilizado nas matrizes orgânicas é o bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), em razão de seu alto peso molecular, baixa contração de polimerização e propriedades mecânicas elevadas. Todavia, sua alta viscosidade (aproximadamente 1200 Pa.s), atribuída à formação de ligações de hidrogênio intermoleculares, demanda a adição de monômeros de baixo peso molecular, chamados de diluentes, como o hidroxi-etil-metacrilato (HEMA) e o trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA) (Figura 2) (SZCZESIO-WLODARCZYK et al., 2022). O monômero TEGDMA é amplamente empregado em resinas compostas para redução da viscosidade e aumento da quantidade de carga incorporada, todavia ocasiona maior contração de polimerização, sorção de água e redução das propriedades mecânicas dos compósitos (GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2020).

Além disso, o Bis-GMA é um derivado do bisfenol A (BPA), um composto químico sintético usado extensivamente na indústria plástica, uma vez que confere maior resistência, flexibilidade e estabilidade aos materiais. Entretanto, o BPA é um desregulador endócrino que, mesmo em baixas doses, aumenta o risco de diversas doenças, como endócrinas e oncológicas (CIMMINO et al., 2020). Por conseguinte, em 2006 a EFSA (*European Organization for Food Safety*) reduziu o limite de ingestão diária de BPA, oriundo principalmente das embalagens de alimentos, para 0,05 mg/kg de peso corporal (EFSA, 2015). A exposição ao BPA na cavidade oral tem sido explorada, já que esse composto pode ser liberado pela degradação de derivados usados na formulação de materiais resinosos, como o Bis-GMA, quando estes entram em contato com a saliva humana (DE NYS et al., 2021). Preocupantemente, o potencial impacto dessa liberação na saúde humana permanece incerto.

Figura 2 – Estrutura molecular do bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), hidroxietil metacrilato (HEMA) e trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA)



Fonte: Elaborada pela autora.

Monômeros vêm sendo sintetizados para reduzir o uso de derivados do BPA com o intuito de aperfeiçoar cada vez mais a biocompatibilidade dos materiais dentários, como dimetacrilato fluoretado (LUO et al., 2016) e uretano-dimetacrilato (XU; WANG; XIE, 2018); assim como novos sistemas resinosos, como tiol-enos (CHILDRESS et al., 2020) e vinilciclopropanos (CATEL et al., 2018). Entretanto, alguns desses monômeros apresentaram prejuízos às propriedades dos materiais resinosos, como redução do grau de conversão (XU; WANG; XIE, 2018) ou aumento da viscosidade (CATEL et al., 2018; LUO et al., 2016).

Na busca por melhorias nas propriedades físico-químicas e mecânicas dos materiais dentários, monômeros multimetacrílicos vêm sendo amplamente pesquisados. Um trimetacrilato derivado de ácidos biliares apresentou propriedades mecânicas comparáveis ao Bis-GMA; no entanto, ocasionou um aumento na sorção de água e na viscosidade de resinas compostas experimentais (GAUTHIER; ZHANG; ZHU, 2009). O trimetacrilato sintetizado por Pérez-Mondragón et al. (2020) revelou propriedades mecânicas similares ao Bis-GMA, contudo resultou em uma taxa de polimerização mais baixa e em uma maior sorção e solubilidade em água, devido à presença de três hidroxilas. Park et al. (2012) investigaram a influência da estrutura química dos monômeros metacrílicos em adesivos dentinários e concluíram que a mistura copolimérica com um trimetacrilato elevou a densidade de ligações cruzadas e reduziu a sorção de água.

Nesse contexto, torna-se relevante a investigação das potencialidades do cardanol, não só diante da importância econômica e ambiental, como também por conta de estudos promissores já realizados utilizando-o no setor odontológico. A síntese de novos monômeros proporciona alternativas para aperfeiçoar as propriedades de materiais dentários, principalmente diante da possibilidade de incorporação de grupamentos polimerizáveis, como metacrilatos, trazendo consigo uma vasta gama de aplicações odontológicas. Portanto, a síntese de um trimetacrilato a partir do cardanol, como componente majoritário do LCCt e com propriedades físico-químicas e estruturais bastante promissoras, poderia gerar materiais dentários hidrofóbicos, com elevada resistência mecânica e estabilidade hidrolítica. Outra característica favorável é a associação da rigidez e resistência do anel aromático com a flexibilidade da cadeia carbônica, culminando em um monômero com provável boa resistência mecânica somada a uma baixa viscosidade, reduzindo assim o uso de monômeros derivados do BPA. Ainda, a síntese de um monometacrilato hidrofóbico derivado do cardanol que apresente simultaneamente um grupamento polimerizável e hidroxilas livres para realizar ligações de hidrogênio poderá originar um sistema adesivo contendo *crosslinkers* de colágeno, reduzindo assim um passo clínico vinculado à aplicação separada de *primer* contendo agentes de biomodificação dentinária. Esse adesivo dentinário bioativo poderia promover *crosslink* das fibrilas de colágeno e inibição de enzimas proteolíticas concomitantemente à sua polimerização na matriz orgânica do polímero, gerando um material resinoso estável a longo prazo, com baixa sorção e solubilidade em água.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

Desenvolver materiais resinosos odontológicos utilizando monômeros metacrílicos derivados do cardanol e avaliar suas propriedades físico-químicas e mecânicas.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar monômeros metacrílicos a partir do cardanol e caracterizar suas estruturas químicas através de diferentes técnicas espectroscópicas para aplicação desses produtos em materiais dentários resinosos.
- Avaliar os efeitos na inibição de enzimas proteolíticas, nas propriedades físico-químicas e na adesão dentinária da incorporação em adesivo universal do cardanol metacrilato, um monômero polimerizável *crosslinker* de colágeno.
- Formular resinas compostas com base na matriz resinosa Bis-GMA/TEGDMA (50:50% em peso) e analisar o efeito da substituição do Bis-GMA pelo monômero cardanol trimetacrilato nas propriedades físico-químicas e mecânicas dos compósitos experimentais.

3 CAPÍTULOS

3.1 Capítulo 1

Esta tese está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de relatórios de patentes de autoria ou coautoria do(a) candidato(a) (ANEXO A). Assim sendo, esta tese é composta por um primeiro capítulo contendo uma patente de invenção, sob número de processo BR 10 2022 010193 0, peticionada junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), conforme descrito abaixo:

Síntese e aplicação odontológica de monômeros funcionais metacrílicos derivados do líquido da casca da castanha de caju

Moreira MM, Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Feitosa VP, Lomonaco D

RESUMO

SÍNTESE E APLICAÇÃO ODONTOLÓGICA DE MONÔMEROS FUNCIONAIS METACRÍLICOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

A presente invenção refere-se aos procedimentos de síntese de monômeros funcionais metacrílicos obtidos a partir de modificações químicas da longa cadeia carbônica e hidroxila fenólica do cardanol, o principal componente do líquido da casca da castanha de caju técnico, um subproduto da indústria de processamento dessa amêndoa. Essa invenção pode ser aplicada no setor odontológico e engloba diversas aplicações odontológicas de diferentes materiais contendo monômeros funcionais metacrílicos, como: *primers* para cerâmicas, resinas, pinos, metais, implantes ou outros materiais dentários; sistemas adesivos; resinas compostas, inclusive autoadesivas; cimentos resinosos, ionoméricos ou autoadesivos; dessensibilizantes dentinários, entre outros. Tais produtos possuem a capacidade de realizar *crosslink* de colágeno, inibir as metaloproteinases de matriz, aumentar a reticulação do polímero e a hidrofobicidade dos materiais, reduzindo assim a sorção de água e a degradação hidrolítica, e, por consequência, aumentando a durabilidade dos procedimentos restauradores. Além do potencial de melhora da longevidade dos materiais odontológicos, esses monômeros são derivados de uma biomassa e podem vir a substituir monômeros sintéticos amplamente utilizados com baixa biocompatibilidade e potencial alergênico, como o bisfenol A glicidil metacrilato e o hidroxietil metacrilato.

Inventores(as): Madiana Magalhães Moreira, Rita de Cassia Sousa Pereira, Lucas Renan Rocha da Silva, Victor Pinheiro Feitosa, Diego Lomonaco.

SÍNTESE E APLICAÇÃO ODONTOLÓGICA DE MONÔMEROS FUNCIONAIS METACRÍLICOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se aos procedimentos de síntese de monômeros funcionais metacrílicos obtidos a partir de modificações químicas da cadeia carbônica alifática, podendo incluir também na hidroxila fenólica, do cardanol, principal componente do líquido da casca da castanha de caju, para aplicação em materiais resinosos, principalmente no setor odontológico.

[002] Dentre os produtos de origem natural e renovável que têm demonstrado elevado potencial em aplicações odontológicas, destaca-se o líquido da casca da castanha de caju, uma biomassa rica em lipídios fenólicos que representa aproximadamente 25% do peso da castanha de caju. O cardanol, componente majoritário do líquido da casca da castanha de caju técnico e com propriedades físico-químicas e estruturais peculiares, vem se revelando um reagente base ideal na síntese de monômeros metacrílicos para uso na Odontologia. Esses monômeros funcionais metacrílicos podem ser utilizados puros ou incorporados em diversas composições odontológicas, como: *primers* para cerâmicas, resinas compostas, pinos, metais, implantes ou outros materiais dentários; sistemas adesivos (convencionais, autocondicionantes ou universais); resinas compostas, inclusive autoadesivas; cimentos resinosos, ionoméricos ou autoadesivos; dessensibilizantes dentinários; selantes, entre outros. Tais monômeros possuem a capacidade de realizar ligações cruzadas (*crosslink*) de colágeno, inibir metaloproteinases de matriz, aumentar a reticulação, as propriedades mecânicas dentina e a hidrofobicidade dos materiais, reduzindo assim a sorção de água e a degradação hidrolítica, e, por consequência, aumentando a durabilidade dos procedimentos restauradores ou outros comuns da prática odontológica.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[003] O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma planta explorada na Ásia, África e América do Sul, produzindo como fruto a castanha de caju. O Nordeste brasileiro se destaca por ser responsável por mais de 99% da produção e do processamento da castanha de caju do Brasil. Dentre os produtos de origem natural e renovável que têm demonstrado elevado potencial em aplicações odontológicas, destaca-se o líquido da casca da castanha de caju, uma biomassa rica em lipídios fenólicos, a qual representa aproximadamente 25% do peso da

castanha de caju. Esse líquido pode ser classificado em dois tipos, a depender do método de extração: o natural é extraído por solvente e é rico em ácido anacárdico, o qual sofre descarboxilação sob as elevadas temperaturas a que é submetido nas indústrias, convertendo-se em cardanol e passando, então, a ser classificado como técnico.

[004] O líquido da casca da castanha de caju técnico, um subproduto biodegradável e abundante proveniente da indústria de processamento da castanha de caju, pode ser empregado tanto em aplicações industriais, quanto em variadas aplicações biológicas, como larvicida e antimicrobiano, destacando-se também por não ser um material tóxico, citotóxico ou mutagênico (Leite, A.S., et al., *Biomed Res Int*, 2015. DOI: 10.1155/2015/626835). Uma de suas aplicações principais é na indústria de polímeros, sendo utilizado para a fabricação de produtos industriais como cimentos, pinturas e vernizes. Também é empregado em outras áreas, como na fabricação de resinas, as quais apresentam excelente resistência à ação de sulfatos de óleos minerais e alta resistência aos álcalis e aos ácidos. Todavia, seu emprego é concentrado em áreas de baixo valor agregado, tornando-o uma matéria-prima atrativa do ponto de vista de aumento da rentabilidade de seus derivados. O processamento agroindustrial da castanha de caju no Brasil gera aproximadamente 45 mil toneladas por ano de líquido da casca da castanha de caju como subproduto, tornando complexo seu descarte. Em razão da grande quantidade desse líquido produzida, pesquisadores do mundo inteiro vêm desenvolvendo uma importante linha de pesquisa dedicada ao desenvolvimento de produtos oriundos de fontes renováveis, constituindo matérias-primas sustentáveis que podem substituir outras sintéticas já empregadas para a formulação de produtos comerciais.

[005] Do ponto de vista químico, o líquido da casca da castanha de caju técnico configura-se como uma matéria-prima versátil e interessante para uma série de modificações químicas, em virtude da natureza dualística dos seus lipídios fenólicos constituintes: caráter aromático e alifático (com insaturações), associado à existência de grupos funcionais polares no anel aromático. Com o intuito de aperfeiçoar suas características e propriedades para aplicação em materiais dentários, tornam-se necessárias determinadas alterações na estrutura química de componentes do líquido da casca da castanha de caju, o qual tem como principal componente o cardanol (67,8 a 94,6%), uma das razões pela qual foi o reagente base escolhido para a presente patente. O cardanol possui características estruturais favoráveis ao emprego em materiais dentários, como longa cadeia carbônica e variados sítios reacionais para a incorporação de grupos funcionais. O uso de monômeros de longa cadeia carbônica espaçadora é promissor, pois quanto maior for essa cadeia do monômero, maior sua hidrofobicidade, o que resulta em menor sorção de água e degradação polimérica/enzimática, conferindo maior

estabilidade hidrolítica ao polímero (Feitosa, V.P., et al., J Dent, 2014. DOI: 10.1016/j.dental.2014.06.006). Além disso, seu anel aromático confere relativa rigidez e resistência polimérica, enquanto a cadeia alquílica propicia flexibilidade ao monômero e reduzir a viscosidade deste.

[006] Baseado nessas atrativas características estruturais, o cardanol foi testado como agente de biomodificação dentinária, demonstrando ótima interação química, formação de ligações cruzadas com o colágeno dentinário e elevada resistência à biodegradação (Moreira, M.A., et al., Dent Mater, 2017. DOI: 10.1016/j.dental.2017.07.003). O estudo subsequente sintetizou o monômero cardanol metacrilato epoxidado, o qual foi empregado para formulação de um dessensibilizante dentinário resinoso e apresentou a maior redução da permeabilidade dentinária, mesmo após desafio ácido (Moreira, M.M., et al., Dent Mater, 2018. DOI: 10.1016/j.dental.2018.04.011).

[007] Vários monômeros resinosos funcionais têm sido incorporados em diversas formulações na área odontológica. A maioria desses monômeros utilizados apresenta um, dois ou três grupamentos funcionais terminais, os quais são separados por uma cadeia espaçadora. Os monômeros funcionais polimerizáveis são compostos por um ou mais grupamentos como: grupamentos vinílico, metacrilatos, metacrilamidas e acrilamidas. Esses grupos funcionais são responsáveis pela polimerização dos materiais dentários resinosos por meio de suas ligações duplas, o que contribui para a reticulação do polímero, o grau de conversão, a resistência mecânica e a longevidade dos compósitos. A incorporação desses grupamentos polimerizáveis a monômeros permite a formulação dos mais diversos materiais resinosos, como sistemas adesivos e resinas compostas.

[008] O monômero mais comumente utilizado nas matrizes orgânicas é o clássico bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), em razão de sua elevada massa molecular, baixa contração de polimerização e excelentes propriedades mecânicas. Todavia, sua elevada viscosidade (500 a 1200 Pa.s), atribuída principalmente à formação de ligações de hidrogênio intermoleculares, implica na adição de monômeros de sua baixa massa molecular, chamados de diluentes, como hidroxietil metacrilato (HEMA) e trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA). Além disso, o bisfenol A glicidil metacrilato é um derivado do bisfenol A (BPA), um composto químico sintético usado extensivamente na indústria plástica, uma vez que confere maior resistência, flexibilidade e estabilidade aos materiais. Entretanto, o bisfenol A é um desregulador endócrino que, mesmo em baixas doses, aumenta o risco de câncer de mama, obesidade, diabetes, doença cardiovascular, desordens reprodutivas, neuroendócrinas, dentre outras doenças. Por conseguinte, em 2006 a EFSA (*European Organization for Food Safety*)

reduziu o limite de ingestão diária desse composto, oriundo principalmente das embalagens de alimentos, para 0,05 mg/kg de peso corporal. Apenas recentemente a exposição ao bisfenol A na cavidade oral começou a ser explorada, já que pode haver sua liberação oriunda de materiais resinosos, por conta de polimerização incompleta, de biodegradação biológica e físico-mecânica ao longo do tempo ou por meio de alguns procedimentos, como acabamento e polimento de restaurações de resina composta. Após a realização de restaurações de resina composta ocorre essa liberação na cavidade oral dos pacientes, sendo possível detectar aumentos transitórios de bisfenol A na urina e na saliva. Preocupantemente, o potencial impacto desse aumento na saúde humana permanece incerto. A utilização de monômeros metacrilatos derivados do líquido da casca da castanha de caju como monômeros substitutos do bisfenol A glicidil metacrilato apresenta como vantagem ser oriundo de uma biomassa sustentável e biocompatível, além de apresentar uma estrutura química mais flexível, podendo incorporar uma menor proporção de monômeros diluentes, os quais contribuem para uma maior contração de polimerização e redução das propriedades mecânicas dos materiais.

[009] O hidróxi-etil metacrilato é um dos monômeros diluentes mais frequentemente incorporado em composições resinosas odontológicas, como os sistemas adesivos, sendo capaz de reduzir a viscosidade dos materiais e minimizar a separação de fases entre componentes hidrofóbicos e hidrofílicos. Todavia, ocasiona maior sorção de água e solubilidade, degradação do polímero por lixiviação monomérica, difusão intratubular e consequente potencial alergênico. Apesar disso, observou-se que sua presença em concentração de 10% melhorou a resistência de união de um adesivo autocondicionante simplificado (Van Landuyt, K.L., et al., *Dent Mater*, 2008. DOI: 10.1016/j.dental.2008.02.018). O monômero diluente trietileno glicol dimetacrilato, amplamente empregado em resinas compostas para redução da viscosidade e aumento da quantidade de carga incorporada, ocasiona maior contração de polimerização em virtude de reduzida massa molecular, além de provocar maior sorção de água e prejuízo das propriedades mecânicas. A utilização de monômeros metacrilatos derivados do líquido da casca da castanha de caju como monômeros diluentes substitutos do hidróxi-etil-metacrilato ou do trietileno glicol dimetacrilato apresenta como vantagem a maior massa molecular, o que diminui a penetração monomérica em direção ao tecido pulpar, o potencial alergênico, a contração de polimerização e a lixiviação monomérica; além do que a hidrofobicidade proporcionada pela longa cadeia carbônica do cardanol culmina em uma menor sorção de água e degradação hidrolítica polimérica, gerando interfaces adesivas mais duradouras.

[010] Os monômeros metacrílicos vêm sendo amplamente pesquisados, pois contribuem significativamente com as propriedades físico-químicas e mecânicas dos produtos

odontológicos, como sistemas adesivos e resinas compostas. Park et al., Dent Mater, 2012 (DOI: 10.1002/jbm.b.31987) investigaram a influência da estrutura química desses monômeros nas propriedades de adesivos dentinários e concluíram que a mistura copolimérica com multimetacrilatos elevou a densidade de ligações cruzadas e reduziu a sorção de água. No intuito de aperfeiçoar cada vez mais a biocompatibilidade e o desempenho em longo prazo dos materiais dentários diante dos desafios mecânicos, físicos e químicos da cavidade oral, monômeros vêm sendo sintetizados visando à redução do uso de diluentes reativos de baixa massa molecular e de derivados do bisfenol A. Alguns exemplos são: uretano dimetacrilato, poliéster dimetacrilato cicloalifático e dimetacrilato fluoretado; assim como novos sistemas resinosos: tiol-enos e vinilciclopropanos. Entretanto, vários desses materiais apresentaram maior sorção de água e redução das propriedades mecânicas quando comparados principalmente ao monômero odontológico mais comumente utilizado, o bisfenol A glicidil metacrilato. Por ser derivado do bisfenol A, que é uma molécula tóxica e que apresenta atividade estrogênica, existe um apelo comercial e sanitário para sintetizar monômeros odontológicos livres desse composto e seus derivados, como o monômero uretano-trimetacrilato da patente **BR-10 2014 031743 0 A2**, que, entretanto, apresentou resistência mecânica inferior ao bisfenol A glicidil metacrilato. Ainda, a patente **BR-10 2014 031743 0 A2** abrange um monômero multimetacrilato livre de bisfenol A e de baixo conteúdo lixiviável para aplicação em produtos odontológicos. Neste sentido, o cardanol, como componente majoritário de uma biomassa e com propriedades físico-químicas e estruturais que podem propiciar estabilidade aos materiais resinosos, vem se revelando um reagente base ideal na síntese de monômeros metacrílicos para uso na Odontologia, apresentando ainda a vantagem econômica e ambiental por ser oriundo de fonte renovável e subproduto industrial.

[011] Em relação a grupamentos polimerizáveis associados aos constituintes do líquido da casca da castanha de caju é conhecida apenas a patente do nosso grupo **BR 10 2016 015403 0**, a qual se refere à síntese de monômeros funcionais ácidos para aperfeiçoar a adesão dos materiais dentários. Esses monômeros foram sintetizados a partir dos monômeros do líquido da casca da castanha de caju, apresentando grupamentos fosfato e metacrilato. Essa patente também inclui monômeros metacrilatos derivados do cardanol, entretanto, localiza-se apenas na hidroxila fenólica, mantendo a cadeia carbônica livre de grupamentos funcionais polimerizáveis. Já a proposta desta patente é justamente adicionar grupos polimerizáveis à longa cadeia carbônica (incluindo ou não esses grupamentos à hidroxila fenólica simultaneamente) do cardanol, resultando em monômeros com diferentes características, propósitos e aplicações odontológicas das já apresentadas anteriormente.

[012] Ainda que a Odontologia Restauradora tenha avançado significativamente nos últimos anos, o plano estratégico NIDCR (*National Institute of Dental and Craniofacial Research*) 2009-2013 sobre restaurações dentais de resina relatou que o tempo médio para substituição dessas restaurações é de apenas 5,7 anos, gerando um custo econômico de aproximadamente cinco bilhões de dólares por ano apenas nos Estados Unidos. Os atuais procedimentos restauradores dependem da formação de uma camada adesiva entre os materiais dentários poliméricos e o substrato dentário. A adesão à dentina tem menor durabilidade que ao esmalte, visto que a dentina contém 18-20% de matéria orgânica, dos quais 90% é colágeno tipo I, que pode ser degradado quimicamente e reduzir a longevidade da interface adesiva. Após a desmineralização da dentina (seja pelas bactérias envolvidas na formação da lesão cáriosa, pelo condicionamento ácido ou pela erosão dentária) permanece uma camada de colágeno dentinário exposto e não infiltrado pelo sistema resinoso, a qual pode ser degradada por enzimas do hospedeiro.

[013] As principais enzimas proteolíticas envolvidas nesse processo são as metaloproteinases de matriz localizadas na dentina ou na saliva, como as catepsinas e as metaloproteinases 1, 2, 3, 8, 9 e 20. Essas enzimas proteolíticas se encontram no tecido em sua forma latente de zimogênios inativos, que se tornam livres com a redução do pH (desafio ácido) e ativas após a diminuição da concentração de metais, como o cálcio e o zinco. Com a subsequente neutralização do pH, tornam-se capazes de degradar quase todas as proteínas de matriz extracelular, incluindo o colágeno desnaturado. Por isso o estudo de agentes inibidores das metaloproteinases de matriz vem sendo tão difundido, pois poderiam auxiliar na redução ou até mesmo na paralisação da degradação da matriz orgânica dentinária. A atividade dessas enzimas está vinculada à degradação das fibrilas de colágeno expostas e não protegidas pela completa infiltração de monômeros resinosos na dentina condicionada por ácido. Essa ação poderia explicar a deterioração progressiva da camada híbrida observada em inúmeros estudos e evidenciar o papel das metaloproteinases de matriz nas falhas adesivas das restaurações em uma relação tempo-dependente. A ativação dessas enzimas também pode exercer um papel na progressão da erosão dentinária através do processo de degradação das fibrilas de colágeno após exposição do ambiente oral ao meio ácido. Finalmente, a prévia inibição das metaloproteinases endógenas tem revelado ser efetiva na prevenção da degradação da matriz orgânica em cárie dentinária, já que a ativação das metaloproteinases de matriz 2, 8 e 9 desempenha um papel crucial na degradação do colágeno da dentina cariada. Tudo indica que essas enzimas têm um papel tão importante na degradação da matriz orgânica durante o processo cárioso quanto o metabolismo bacteriano, uma vez que, com a queda do pH para abaixo de 5,5, há dissolução

dos cristais de apatita e exposição da rede de colágeno dentinário, todavia a collagenase bacteriana não resiste a um pH abaixo de 4,3, restando a ação das enzimas endógenas.

[014] Dentre as substâncias inibidoras das metaloproteinases de matriz, destaca-se a proantocianidina, um composto polifenólico bastante estudado na Odontologia, pois, através de ligações cruzadas e inibição de enzimas proteolíticas, é capaz de estabilizar as fibrilas de colágeno e melhorar as propriedades mecânicas do substrato, como módulo de elasticidade e resistência de união à dentina. Entretanto, exibe algumas complicações, como sua coloração escura, que pode pigmentar o tecido dentário, e seu longo tempo de aplicação relatado por diversas pesquisas como clinicamente inviável. Sua aplicação mais comum é como *primer* ou incorporada ao adesivo, mas é alegado que o último pode reduzir o grau de conversão do polímero. A hidrofiliabilidade da proantocianidina também pode prejudicar a sua incorporação em adesivos, visto que pode aumentar a sorção de água e a degradação hidrolítica ao longo do tempo, além de interferir na estabilidade da interface dente-adesivo.

[015] Os monômeros metacrilatos alifáticos derivados do líquido da casca da castanha de caju podem atuar como inibidores de metaloproteinases de matriz e *crosslinkers* de colágeno por meio da formação de ligações de hidrogênio entre suas hidroxilas (presente no anel aromático e na cadeia carbônica) e a carbonila da amida proteica das fibrilas de colágeno desprotegida. Ainda tem a vantagem de não pigmentarem a dentina, serem mais hidrofóbicos e poderem ser incorporadas em sistemas resinosos, já que possuem grupos polimerizáveis, de forma a elevar a substantividade e reduzir a lixiviação monomérica, o que aumentaria a durabilidade e a estabilidade da adesão.

[016] A presente patente refere-se aos procedimentos de síntese e aplicação odontológica de monômeros funcionais metacrílicos obtidos a partir de modificações químicas da cadeia carbônica alifática, podendo incluir também na hidroxila fenólica, do cardanol, principal componente do líquido da casca da castanha de caju, o cardanol.

[017] Os materiais dentários ainda enfrentam alguns problemas técnicos, uma vez que grande parte deles são formulados com um derivado do tóxico monômero bisfenol A, além de requererem a adição de monômeros diluentes, os quais reduzem as propriedades mecânicas do polímero, enquanto aumentam a degradação e contração polimérica. Ainda, a atividade de proteases nas fibrilas de colágeno expostas e não infiltradas com resina reduz a longevidade dos procedimentos restauradores, em razão da degradação hidrolítica da interface adesiva.

[018] A presente invenção apresenta vantagens em vários aspectos. Esta propõe a síntese de monômeros metacrílicos para aplicação odontológica a partir de uma matéria-prima abundante, renovável e reconhecida como um subproduto de descarte das indústrias de

processamento da castanha de caju. Possui, portanto, o potencial de aumentar o valor agregado dos compostos derivados do líquido da casca da castanha de caju, uma amêndoa bastante explorada no Nordeste brasileiro. Além disso, o monômero adicionado com metacrilato na cadeia carbônica alifática, intitulado cardanol metacrilato (**Figura 2**), possui eficácia como *crosslinker* polimerizável de colágeno, pela formação de ligações de hidrogênio entre as hidroxilas no anel aromático e na cadeia com a carbonila da amida proteica, especialmente da prolina que compõe o colágeno tipo I. A presença simultânea dos grupamentos metacrilato e hidroxila no cardanol metacrilato, associada à sua hidrofobicidade, promove *crosslink* de colágeno simultaneamente à sua incorporação na rede polimérica de adesivos dentinários, gerando um material resinoso bioativo, capaz de reforçar as fibrilas de colágeno e produzir interfaces adesivas estáveis em longo prazo. Ainda, os monômeros multimetacrilatos, com grupamentos polimerizáveis tanto na cadeia alifática como substituindo a hidroxila fenólica, intitulados cardanol di e trimetacrilatos (**Figura 2**) são livres de bisfenol A, ou seus derivados, e capazes de aumentar a reticulação do polímero, uma vez que os multimetacrilatos revelam um excelente potencial como agente de reticulação e reforço da estrutura polimérica (Park, J., et al., Dent Mater, 2012. DOI: 10.1002/jbm.b.31987). Outra característica favorável é a associação da rigidez e resistência do anel aromático com a flexibilidade da cadeia carbônica, proporcionando ao monômero uma boa resistência mecânica somada a uma baixa viscosidade. Portanto, deve ser necessário uma menor incorporação de monômeros diluentes como trietileno glicol dimetacrilato e hidroxietil metacrilato, que ocasionam maior contração de polimerização, sorção de água e redução das propriedades mecânicas.

[019] Recentemente, proantocianidinas funcionalizadas com metacrilato foram sintetizadas por Hass et al., Dent Mater, 2021 (DOI: 10.1016/j.dental.2021.04.006), e testadas como *primer*, o qual demonstrou eficácia em reticular o colágeno dentinário. Ademais, este agente de biomodificação polimerizável derivado das proantocianidinas foi adicionado a um adesivo experimental e, não só estabilizou as fibrilas de colágeno, como também melhorou a polimerização, as propriedades mecânicas e a estabilidade dos adesivos com uma redução significativa da lixiviação em comparação com o adesivo que continha a proantocianidina não funcionalizada (Wang, R. et al., Dent Mater, 2021. DOI: 10.1016/j.dental.2021.04.010). No entanto, a proantocianidina é um conhecido antioxidante capaz de pigmentar a estrutura dental, além do que não foram realizados testes para avaliar o efeito desse monômero na adesão dentinária e na nanoinfiltração da interface resina-dentina. O cardanol ainda não foi funcionalizado com metacrilato para ser testado como um *crosslinker* polimerizável, o qual apresenta a vantagem de eliminar o passo clínico da aplicação de um *primer* contendo

crosslinker de colágeno ao incorporá-lo no adesivo dentinário. A síntese de um di/trimetacrilato a partir do cardanol para reforço da estrutura polimérica e substituição de monômeros insatisfatórios já empregados em sistemas resinosos também é inovadora.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[020] Os desenhos anexos apresentam as estruturas moleculares do cardanol e dos seus derivados metacrílicos, em que: A **Figura 1**, nos desenhos técnicos em anexo, apresenta todas as possíveis estruturas químicas, saturada e insaturadas, do cardanol: 3-n-pentadecilfenol, 3-(n-pentadeca-8-enil)fenol, 3-(n-penta-8,11-dienil)fenol e 3-(n-pentadeca-8,11,14-trienil)fenol. Todos esses compostos possuem em comum uma cadeia alifática com 15 átomos de carbono com diferentes graus de insaturação, que podem variar de zero a três. Essa longa cadeia carbônica é responsável por características peculiares do líquido da casca da castanha de caju, como a sua hidrofobicidade, que pode realçar seu desempenho em um vasto número de aplicações. Destaca-se também os principais sítios reacionais do cardanol: anel aromático, hidroxila fenólica e insaturações ao longo da cadeia carbônica. A **Figura 2**, nos desenhos técnicos em anexo, representa as estruturas moleculares dos compostos metacrílicos derivados do cardanol, cujos procedimentos de síntese estão apresentados nessa patente. Pode-se observar as estruturas moleculares dos seguintes monômeros: cardanol metacrilato, cardanol dimetacrilato e cardanol trimetacrilato, respectivamente da região superior à inferior da imagem.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[021] A presente patente descreve a síntese e a aplicação em *primers*, adesivos, resinas, cimentos, dessensibilizantes, dentre outros materiais dentários resinosos, de monômeros polimerizáveis produzidos por meio de modificações químicas da cadeia alifática, podendo também substituir a hidroxila fenólica por grupo metacrilato, do cardanol, o principal componente do líquido da casca da castanha de caju.

[022] Esta invenção apresenta vantagens em vários aspectos, pois propõe monômeros polimerizáveis que empregam uma matéria-prima renovável tida como produto de descarte nas indústrias de castanha de caju, um fruto bastante explorado no Nordeste brasileiro. O monômero cardanol metacrilato possui hidroxilas e grupamento metacrilato que promovem *crosslink* de colágeno simultaneamente à sua reticulação no polímero de adesivos dentinários, gerando um material resinoso bioativo com substantividade e capaz de reforçar as fibrilas de colágeno, reduzir um passo clínico de aplicação do sistema adesivo e produzir interfaces adesivas estáveis

em longo prazo. Os monômeros cardanol di/trimetacrilato, por conta dos múltiplos metacrilatos, são capazes de aumentar a reticulação do polímero, melhorando a resistência mecânica e as propriedades químicas dos materiais resinosos. Por último, a longa cadeia carbônica desses monômeros metacrílicos resulta em características hidrofóbicas, que resultam em menor sorção de água e degradação hidrolítica, melhorando a durabilidade da união.

[023] As concentrações utilizadas dos diferentes monômeros aqui descritos para a fabricação de *primers* para resina, metal e cerâmica é de 0,0001 até 90% em peso, enquanto nos adesivos dentinários varia de 0,1 a 75% em peso. Já nas resinas compostas, dessensibilizantes dentinários, cimentos resinosos, ionoméricos e autoadesivos a concentração varia de 0,5 a 90% em peso. Para outras aplicações odontológicas utilizando os monômeros metacrílicos que se encaixem nas descrições da patente as concentrações utilizadas seriam as mesmas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[024] A síntese orgânica dos diferentes monômeros metacrilatos a partir do cardanol pode ser realizada em duas etapas: (i) reação de epoxidação das ligações duplas da cadeia carbônica alifática; (ii) adição de grupamento metacrilato à cadeia carbônica através da abertura do anel oxirano (cardanol metacrilato) formado na etapa anterior, podendo ocorrer a substituição simultânea da hidroxila fenólica por outro grupo metacrilato (cardanol di/trimetacrilato).

[025] O cardanol é reagido com peróxido de hidrogênio e ácido fórmico para obter o composto intermediário cardanol epoxidado, de acordo com a metodologia aplicada por Pereira et al., *Agroindustrial Waste J Polym Environ*, 2021 (DOI: 10.1007/s10924-021-02331-y), com modificações. A síntese desse monômero intermediário consiste na epoxidação da insaturação de cardanol, adicionando um anel oxirano na cadeia carbônica, com ácido perfórmico formado *in situ* a partir da reação entre ácido fórmico e peróxido de hidrogênio, catalisada por Amberlite IR 120H, utilizando a razão molar de 1,0: 0,5: 3,0 (insaturação: ácido fórmico: peróxido de hidrogênio). O procedimento tem início adicionando 10 g de cardanol (56,8 mmol de insaturação) em um balão de fundo redondo, seguido pela adição de 1,26 mL de ácido fórmico (28,4 mmol) e 2 g de Amberlite IR 120H (20% em peso em relação ao cardanol). A mistura deve ser mantida sob agitação magnética durante 10 minutos. Em seguida, utilizando uma bureta, adiciona-se 16,3 mL de peróxido de hidrogênio (170,5 mmol), gota a gota, sob agitação constante e sob temperatura ambiente. A solução reacional obtida deve ser aquecida em banho de silicone a 65°C e agitada continuamente durante 4 horas. O progresso da reação é monitorado por meio da cromatografia em camada delgada. Ao final, a mistura deve ser resfriada à

temperatura ambiente e filtrada a vácuo para remover o catalisador heterogêneo. O filtrado é transferido para um funil de separação (250 mL), neutralizado com solução saturada de bicarbonato de sódio e extraído com o solvente acetato de etila (100 mL). Finalmente, o produto deve ser secado com sulfato de sódio anidro, concentrado sob pressão reduzida e purificado através de uma coluna cromatográfica de sílica. O cardanol epoxidado obtido se apresenta como um óleo castanho-avermelhado (90% de rendimento) e foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

[026] O monômero cardanol metacrilato é sintetizado por meio de uma reação de abertura do anel oxirano do cardanol epoxidado com ácido metacrílico, sob irradiação de micro-ondas, operando a uma frequência de 2,45 GHz. O procedimento tem início adicionando 4 g de cardanol epoxidado (12,6 mmol) e 2,6 mL de ácido metacrílico (30,8 mmol) em um balão de fundo redondo (25 mL). Acopla-se o balão a um condensador de Vigreux de 50 cm, que são posicionados a um micro-ondas Milestone (StartSYNTH, Shelton, USA) ajustado a uma potência máxima de 800 W e programado para aumentar da temperatura ambiente para 130°C durante um período de 3 minutos e manter a temperatura estabelecida durante 20 minutos, sob agitação magnética constante. O progresso da reação é monitorado por meio da cromatografia em camada delgada. Ao final desse processo, o produto da reação é resfriado à temperatura ambiente e depois transferido para um funil de separação (250 mL), neutralizado com solução saturada de bicarbonato de sódio e extraído com acetato de etila (50 mL). A fase orgânica deve ser recolhida, secada com sulfato de sódio anidro, concentrada sob pressão reduzida e purificada através de uma coluna cromatográfica de sílica. Devido à presença do grupo metacrilato, o produto deve ser mantido sob refrigeração (4 °C) e protegido por papel alumínio após a adição de 0,01% de butil-hidroxitolueno para evitar a polimerização espontânea. O cardanol metacrilato (**Figura 2**) se apresenta como um óleo amarelo-claro (70 a 85 % de rendimento) e foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

[027] O produto intermediário cardanol epoxidado obtido também pode ser empregado para a síntese do cardanol di/trimetacrilato (**Figura 2**). Para a inserção dos metacrilatos na hidroxila fenólica e no anel oxirano se utiliza cardanol epoxidado e anidrido metacrílico na razão molar de 1:1. O procedimento inicia-se pesando-se 4 g de cardanol epoxidado (12,6 mmol) em um balão de fundo redondo, seguido da adição de 2,0 mL de anidrido metacrílico (12,6 mmol) e 0,1 g de trifetilfosfina (0,381 mmol). O balão é acoplado a um condensador de Vigreux e colocado na cavidade do micro-ondas, ajustado para uma potência máxima de 800

W e programado para aumentar: da temperatura ambiente até 80 °C em um período de 2 min e mantendo-se essa temperatura constante por 20 minutos; de 80 °C para 120 °C em um período de 2 min e mantendo-se por mais 10 min. Ao final desse processo, o produto é transferido para um funil de separação, neutralizado com solução saturada de bicarbonato de sódio e extraído com acetato de etila (50 mL). Por fim, a fase orgânica é coletada, secada com sulfato de sódio anidro, concentrada em rotaevaporador e purificada em coluna cromatográfica de sílica gel para se obter o respectivo produto metacrilato (80 a 90 % de rendimento).

[028] Os principais grupamentos polimerizáveis usados na Odontologia são metacrilato, acrilato, metacrilamida, acrilamida e epóxido (ou anel oxirano), os quais podem ser incorporados por síntese orgânica através de esterificação ou outra rota orgânica. A reação de esterificação poderá ser realizada por diversos métodos, a depender do grupamento polimerizável a ser adicionado à estrutura molecular do cardanol, contudo, preferencialmente, utiliza-se o metacrilato por conta dos resultados consolidados em diversos monômeros odontológicos sintéticos de estrutura química similar. Os reagentes de primeira escolha para as esterificações da presente patente são o ácido metacrílico, que atacará o anel oxirano formado após a epoxidação das duplas ligações da cadeia carbônica alifática do cardanol, como no método descrito por Ladmiral, V., et al., Euro Pol, 2017 (DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2017.04.003); e o anidrido metacrílico, que além de atacar o anel oxirano, também substitui a hidroxila fenólica por um grupamento metacrilato.

[029] Os monômeros metacrílicos derivados do cardanol são capazes de promover um efeito estérico, causando relaxamento entre as cadeias poliméricas e diminuindo os efeitos da contração de polimerização também pela maior massa molecular quando comparado a monômeros diluentes frequentemente empregados em composições odontológicas. A adição de grupamentos polimerizáveis apenas na cadeia alifática preserva a hidroxila fenólica (cardanol metacrilato, **Figura 2**), o que contribui para uma maior formação de ligações de hidrogênio e reticulação do colágeno dentinário. Já a adição de metacrilatos concomitantemente à cadeia alifática e à hidroxila fenólica contribui para o aumento da reticulação e do reforço da estrutura polimérica, já que esses grupamentos polimerizam através de suas ligações duplas à matriz orgânica de materiais dentários, melhorando as propriedades das formulações. Além disso, em razão da característica hidrofóbica conferida pela longa cadeia carbônica alifática, podem ser usados em sistemas resinosos para minimizar a sorção de água e diminuir os efeitos de degradação por hidrólise do polímero e/ou do colágeno.

[030] A incorporação de metacrilatos ao cardanol traz consigo uma vasta gama de aplicações odontológicas. Dentre essas diversas aplicações, destaca-se seu emprego como

monômero funcional polimerizável que pode ser utilizado para produzir *primers* para cerâmicas, resinas, pinos, metais, implantes ou outros materiais dentários; sistemas adesivos; resinas compostas, inclusive autoadesivas; cimentos resinosos, ionoméricos ou autoadesivos; dessensibilizantes dentinários; selantes, entre outros.

[031] Os monômeros com grupamentos metacrilatos sintetizados a partir do principal componente do líquido da casca da castanha de caju técnico, o cardanol, podem ser aplicados na Odontologia em *primers* para resina, metal, implantes, pinos, cerâmicas, dentina, esmalte etc. Esses *primers* podem ser aplicados isoladamente ou em conjunto com um ou mais monômeros (como o hidroxietil metacrilato), iniciadores, partículas de carga, além de outros componentes dos materiais dentários. Para a aplicação em dentina desmineralizada (condicionada por ácido, por cárie, erosão ou outros processos), os monômeros podem ser dissolvidos em água, etanol, acetona ou outro solvente (soluções aquosas, acetônicas, etanólicas ou hidroetanólicas).

[032] Esses monômeros polimerizáveis também podem ser incorporados em sistemas adesivos (convencionais, autocondicionantes, universais); resinas compostas; cimentos resinosos ou ionoméricos; dessensibilizantes dentinários; selantes resinosos; ou qualquer outro material resinoso. Eles podem conter um ou mais grupos polimerizáveis na cadeia alifática, incluindo ou não na hidroxila fenólica, e também a associação entre diferentes grupamentos polimerizáveis, como por exemplo, metacrilato, metacrilamida e epóxido.

[033] Para a fabricação de *primers*, os monômeros polimerizáveis provenientes do cardanol podem ser incorporados de 0,0001% até 90% em peso de concentração. Nos adesivos dentinários, eles podem ser incorporados de 0,1% até uma concentração de 75%, enquanto em cimentos resinosos, ionoméricos e autoadesivos pode-se incorporar de 0,5 a 90%. Para formular resinas compostas, dessensibilizante dentinários e selantes a concentração incorporada será de 0,5% até 90%.

[034] Os monômeros metacrílicos descritos podem ser empregados em composições odontológicas resinosas que podem incluir componentes opcionais para proporcionar determinadas características desejáveis não alcançadas apenas com os monômeros puros. Alguns destes compostos que podem ser adicionados à composição são os seguintes:

- Fotoiniciadores, preferencialmente a canforoquinona, ou outras cetonas, como fenil-propadiona, ou ainda óxidos fosfínicos, como óxido bis-alquil-fosfínico e óxido trifosfínico.

- Coiniciadores, como aminas terciárias aromáticas ou não aromáticas, preferencialmente etil-dimetil-amino-benzoato.
- Aceleradores da reação de polimerização, como sais de iodônio, preferencialmente o hexafluorofosfato de difenil-iodônio.
- Inibidores de polimerização espontânea, preferencialmente adicionando-se butil-hidroxitolueno (BHT) ou di-terc-butil metil fenol.
- Partículas inorgânicas de carga, como micropartículas de vidro de bário silanizadas ou nanopartículas de sílica coloidal, entre outras.
- Radiopacificadores, como aqueles baseados em óxidos de chumbo, bismuto ou outros metais, preferencialmente o óxido de tri-fenil bismuto.
- Pigmentos para fornecer a cor adequada ao material.
- Espessantes, como sílica.
- Flavorizantes, como óleo de hortelã.
- Agentes antimicrobianos, como timol.
- Solventes, como água, álcool ou acetona.
- Conservantes, como metilparabeno.

[035] Fotoiniciadores, coiniciadores, aceleradores, inibidores de polimerização e conservantes podem ser adicionados entre 0% e 10% na composição odontológica. Os inibidores, preferencialmente, devem estar em concentração abaixo de 0,02%. As partículas de carga podem fazer parte de 0% a 95% do peso da composição, enquanto os radiopacificadores são adicionados entre 0,1% e 5%. Pigmentos, espessantes, flavorizantes e agentes antimicrobianos são incorporados entre 0 e 80% da formulação odontológica, enquanto os solventes são adicionados entre 0,2 e 99%.

EXEMPLOS DE CONCRETIZAÇÕES DA INVENÇÃO

[036] Aplicação de sistema adesivo universal incorporado com 2% em peso de monômero cardanol metacrilato (**Figura 2**) proveniente do líquido da casca da castanha de caju. Previamente à aplicação da composição é interessante agitar o frasco de armazenamento para homogeneizar a mistura. O protocolo de aplicação do material em dentina ou em esmalte previamente preparados para receber uma restauração segue o passo a passo descrito abaixo:

1) Limpeza com pedra-pomes da superfície dental a ser restaurada e enxágue com água;

- 2) No caso de emprego da técnica autocondicionante, apenas secagem com jato de ar; no caso de emprego da técnica de condicionamento ácido total, aplicação de gel de ácido fosfórico 37% por 30 segundos em esmalte e 15 segundos em dentina, enxágue por 30 segundos e secagem com papel absorvente ou bolinha de algodão para manter o substrato dentinário úmido;
- 3) Aplicação com *microbrush* do adesivo universal incorporado com o monômero cardanol metacrilato por 20 segundos de forma ativa em toda a estrutura a ser restaurada;
- 4) Leve jato de ar à distância por 10 segundos;
- 5) Segunda aplicação do adesivo universal por 20 segundos;
- 6) Fotoativação por 40 segundos com aparelho de fotopolimerização odontológico com 400mW/cm² de irradiância mínima;
- 7) Adaptação dos incrementos de resina composta e fotopolimerização destes de acordo com fabricante.

SÍNTESE E APLICAÇÃO ODONTOLÓGICA DE MONÔMEROS FUNCIONAIS METACRÍLICOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

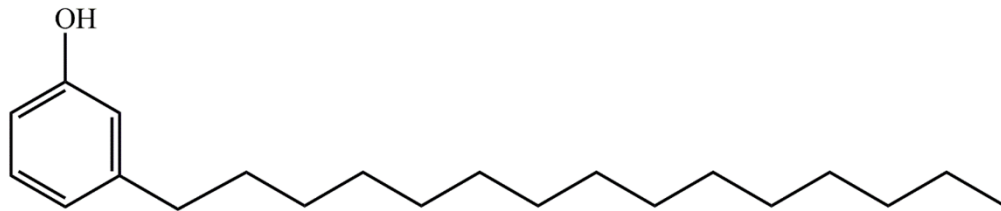
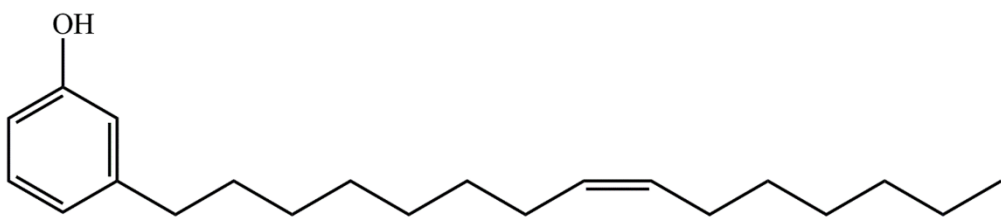
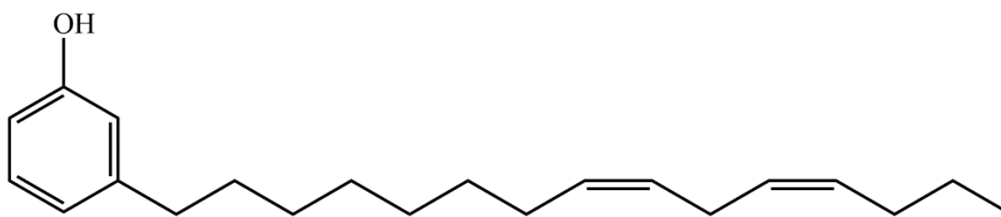
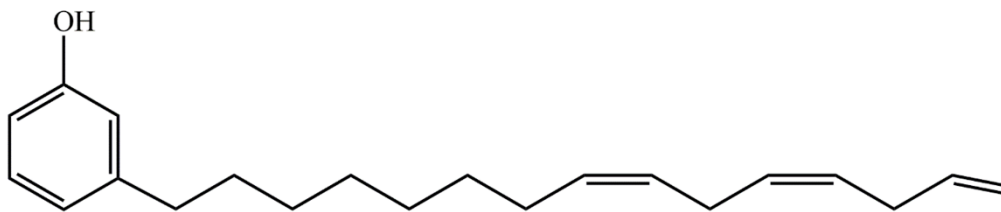
REIVINDICAÇÕES

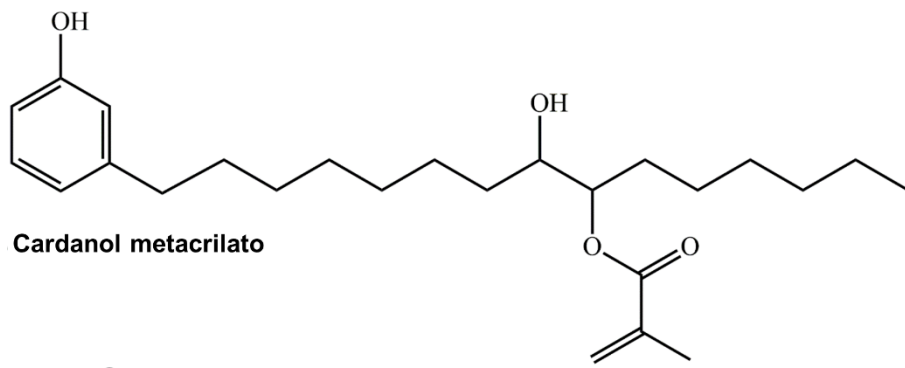
1. Aplicação odontológica de monômero cardanol metacrilato **caracterizado por** incorporar um grupo funcional metacrilato na cadeia alifática do cardanol, principal componente do líquido da casca da castanha de caju, obtido pelo processamento industrial dessa amêndoa.
2. Aplicação odontológica de monômero cardanol dimetacrilato **caracterizado por** incorporar dois grupamentos metacrilatos no cardanol: um na cadeia alifática e um substituindo a hidroxila fenólica.
3. Aplicação odontológica de monômero cardanol trimetacrilato **caracterizado por** incorporar três grupamentos metacrilatos no cardanol: dois na cadeia alifática e um substituindo a hidroxila fenólica.
4. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,0001% e 90% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de *primers* para resina, metal, cerâmica, implantes, pinos, dentina e esmalte.
5. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,1 a 75% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de sistemas adesivos convencionais, autocondicionantes ou universais.
6. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,5% até 90% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de cimentos resinosos, ionoméricos ou autoadesivos.
7. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,5% até 90% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de resinas compostas convencionais, *flow*, *bulk-fill* ou autoadesivas.
8. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,5% até 90% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de dessensibilizantes resinosos.
9. Composição odontológica **caracterizada por** incorporar entre 0,5% até 90% em peso dos monômeros metacrílicos descritos nas reivindicações 1, 2 e 3, para a fabricação de selantes resinosos.

10. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter adicionalmente fotoiniciadores, co iniciadores, aceleradores da reação de polimerização, inibidores de polimerização espontânea, partículas inorgânicas de carga, radiopacificadores, pigmentos, espessantes, flavorizantes, agentes antimicrobianos, solventes e/ou conservantes.
11. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 10% em peso de fotoiniciadores, como canforoquinona, outras cetonas (como a fenil-propadiona), óxidos fosfínicos (como o óxido bis-alkuil-fosfínico e o óxido trifosfínico), dentre outros.
12. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 10% em peso de co iniciadores, como aminas terciárias aromáticas ou não aromáticas, utilizando de preferência etil-dimetil-amino-benzoato.
13. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 10% em peso de aceleradores da reação de polimerização, como sais de iodônio, utilizando de preferência o hexafluorofosfato de difenil-iodônio.
14. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter até 10% em peso de inibidores de polimerização espontânea, preferencialmente até 0,5%, utilizando de preferência butil-hidroxitolueno ou hidroquinona.
15. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 95% em peso de partículas inorgânicas de carga, como partículas de vidro de bário silanizadas ou nanopartículas de sílica coloidal, dentre outras.
16. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 5% em peso de radiopacificadores, como os baseados em óxidos de chumbo, bismuto ou outros metais, empregando de preferência óxido de tri-fenil bismuto.
17. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 80% em peso de pigmentos a serem selecionados dentre corantes orgânicos ou outros.

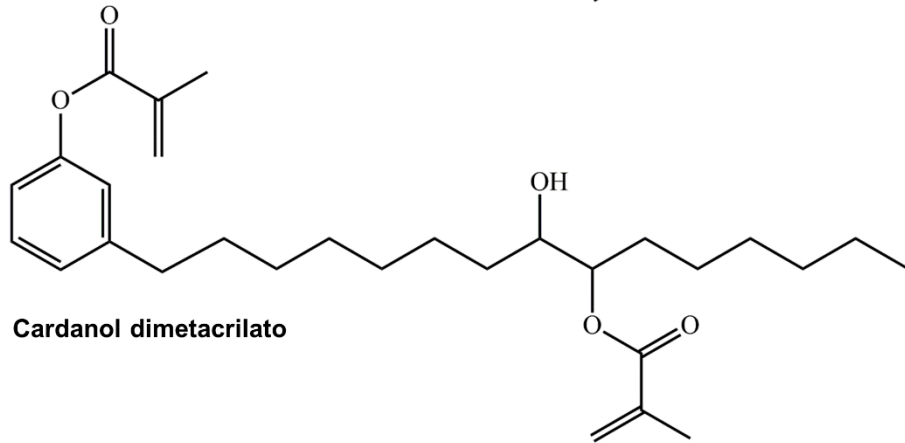
18. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 80% em peso de espessantes a serem selecionados dentre sílica coloidal, dióxido de silício, glicerina, entre outros, utilizando de preferência sílica.
19. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 80% em peso de flavorizantes, como óleos de hortelã, menta, entre outros.
20. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 80% em peso de agentes antimicrobianos como timol, clorexidina, entre outros.
21. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 99% em peso de solventes a serem selecionados dentre água, água deionizada, etanol, acetona, entre outros.
22. Composições odontológicas, de acordo com as reivindicações 4, 5, 6, 7, 8 e 9 **caracterizadas por** poderem conter preferencialmente até 10% em peso de conservantes a serem selecionados dentre metilparabeno, benzoatos, formaldeídos, entre outros.
23. Uso das composições descritas nas reivindicações de 1 a 22 **caracterizadas por** poderem ser empregadas para reduzir a separação de fases das composições, realizar *crosslink* de colágeno, inibir metaloproteinases de matriz, aumentar a reticulação, a hidrofobicidade e as propriedades físico-químicas e mecânicas dos polímeros, reduzindo assim a sorção de água e a degradação hidrolítica, e, por consequência, aumentando a durabilidade dos procedimentos restauradores ou outros comuns da prática odontológica.

DESENHOS TÉCNICOS

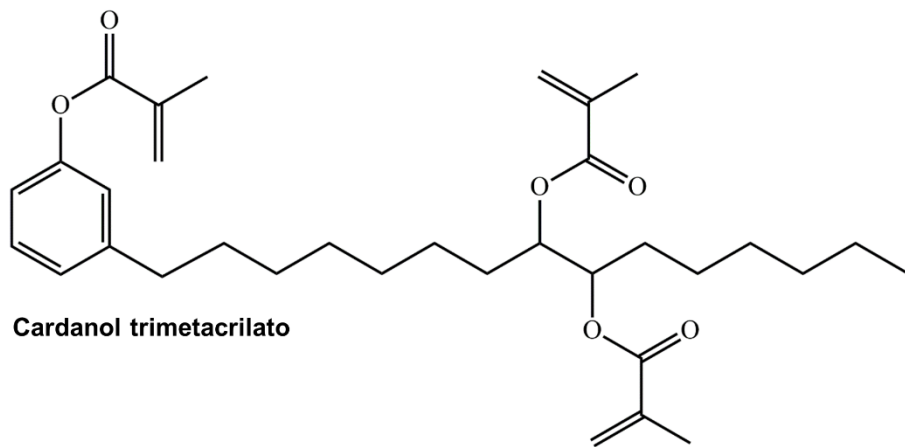
**3-*n*-pentadecilfenol****3-(*n*-pentadeca-8-enil)fenol****3-(*n*-pentadeca-8,11-dienil)fenol****3-(*n*-pentadeca-8,11,14-trienil)fenol****FIGURA 1**



Cardanol metacrilato



Cardanol dimetacrilato



Cardanol trimetacrilato

FIGURA 2

3.2 Capítulo 2

Esta tese está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (ANEXO A). Por se tratar de uma pesquisa envolvendo dentes humanos, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado, conforme o parecer consubstanciado nº 1.482.602 de 7 de abril de 2016 (CAAE: 52463116.0.0000.5054) (ANEXO B). Assim sendo, esta tese é composta por um segundo capítulo contendo um artigo científico que submetido ao periódico *Dental Materials*, conforme descrito abaixo:

Methacrylic monomer derived from cardanol incorporated in dental adhesive as a polymerizable collagen crosslinker

Moreira MM, Farrapo MT, Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Koller G, Watson T, Feitosa VP, Lomonaco D

Methacrylic monomer derived from cardanol incorporated in dental adhesive as a polymerizable collagen crosslinker

Madiana Magalhães Moreira^{a,c}, Manuela Timbó Farrapo^c, Rita de Cassia Sousa Pereira^b, Lucas Renan Rocha da Silva^b, Garrit Koller^d, Timothy Watson^d, Victor Pinheiro Feitosa^c, Diego Lomonaco^{a,b*}.

Moreira MM, Farrapo MT, Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Koller G, Watson T, Feitosa VP, Lomonaco D

^aPostgraduate Program, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil.

^bDepartment of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil.

^cPaulo Picanço School of Dentistry, Fortaleza, Brazil.

^dBiomaterials, Biomimetics & Biophotonics, King's College London Dental Institute at Guy's Hospital, London, UK

Corresponding author*: Diego Lomonaco

Address - Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil. Zip code: 60.440-900.

Phone - +55 (85) 3366-9019

E-mail - lomonaco@ufc.br

Keywords: Cardanol. Organic synthesis. Methacrylates. Dentin-bonding agents. Hydrophobic and hydrophilic interactions. Fibrillar collagens. Collagen crosslinkers. Matrix metalloproteinase inhibitors. Longevity.

Methacrylic monomer derived from cardanol incorporated in dental adhesive as a polymerizable collagen crosslinker

ABSTRACT

Objectives - The aim of this study was to evaluate the influence on MMP inhibition, dentin adhesion and physicochemical properties of an adhesive system incorporated with polymerizable collagen crosslinker monomer derived from cardanol.

Methods – The intermediary cardanol epoxy (CNE) was synthesized through cardanol epoxidation, followed by synthesis of cardanol methacrylate through methacrylic acid solvent-free esterification. Zymographic analysis was performed to evaluate the substances' ability to inhibit gelatinolytic enzymes. Collagen crosslinkers were added into adhesives systems according to the following groups: Ybond Universal[®] (Control), Ybond[®] + 2% proanthocyanidin (PAC), Ybond[®] + 2% unsaturated cardanol (Cardanol) and Ybond[®] + 2% cardanol methacrylate (CNMA). Degree of conversion (DC) of the adhesives was assessed by FT-IR. Disk-shaped specimens were prepared for water sorption (WS) and solubility (SL) tests. Human third molars were sectioned to expose medium dentin and restored according to the different adhesives used (n=5). Then, the specimens were cut into 1mm² sticks to evaluate, after 24 hours and 6-month aging, microtensile bond strength (μ TBS) and nanoleakage by scanning electron microscopy. Data were analysed with ANOVA and Tukey's post-test ($\alpha=0.05$).

Results – CNMA and PAC completely inhibited all forms of gelatinolytic enzymes. Cardanol achieved a significantly lowest DC, while the other groups did not differ from each other ($p>0.05$). PAC achieved significantly higher water sorption, while CNMA solubility was significantly lower when compared to the other adhesives ($p<0.05$). PAC provided a statistically higher 24h and 6-month aging bond strength. Intermediary similar μ TBS were presented by control and CNMA ($p=0.108$). All adhesives applied attained significantly

reduced bond strength after aging ($p < 0.05$). Interfaces created using CNMA were almost devoid of silver deposits initially, however all groups showed large amounts of silver deposits on resin-dentin interface subjected to water aging.

Significance - Although CNMA was effective in inhibiting gelatinolytic enzymes, when incorporated into a universal adhesive it could not promote less degradation of the adhesive interface in long-term. Since it is a hydrophobic monomer, CNMA did not interact well with dentin collagen, however it reduced the solubility of the adhesive system besides not interfering in its polymerization.

Keywords: Cardanol. Organic synthesis. Methacrylates. Dentin-bonding agents.

Hydrophobic and hydrophilic interactions. Fibrillar collagens. Collagen crosslinkers. Matrix metalloproteinase inhibitors. Longevity.

1 INTRODUCTION

Despite the progress of science related to dental adhesion, this topic is still widely explored due to its particularities and challenges, as it directly influences the quality and longevity of dental restorations [1]. In this regard, the bonding between tooth and resin restorative materials occurs by means of dental adhesives, acting majorly through micromechanical retention, in which the infiltration of resin monomers into enamel micropores and into exposed collagen fibrils of partially demineralized dentin is promoted [2].

In the early 2010s, the search for simplified adhesive materials and strategies resulted in the development of universal adhesives (UNAD) [3], which may be employed at both adhesive strategies (etch-and-rinse or self-etch) and bond adequately to enamel, dentin and various direct and indirect restorative materials [3,4]. Although UNADs have a wide range of use and can additionally perform chemical bonding with dental tissues by means of acidic functional monomer, the stability of the bonding is material-dependent and prone to hydrolytic degradation [5].

Adhesion to enamel can be predictably achieved, but dentin is still a challenging substrate due to the presence of significant amount of water and organic compounds in the substrate [6]. The portion of demineralized dentin that remains exposed and not infiltrated presents unprotected collagen fibrils, which are subjected to progressive degradation by endogenous enzymes, such as matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsins, jeopardizing the long-term stability of dentin bonding [7,8,9].

Therefore, a strategy to decrease the enzymatic degradation is to increase the mechanical properties of dentin collagen through its crosslinking by biomodification [10]. Indeed, several biomodification agents have been employed in dental materials to protect

collagen fibrils, which increases the stability of hybrid layer and the durability of restorations [10,11,12].

A widely accredited and biocompatible natural (plant-derived) compound used as biomodification (crosslinker) agent is proanthocyanidin (PAC). It is a natural flavonoid commonly available in vegetables and fruits, such as in grape seed (*Vitis vinifera*). Several in vitro studies revealed that the application of PAC resulted in significant improvement on bond strength [13,14], dentin collagen stability [15], nanohardness and modulus of elasticity of resin-dentin interfaces [16]. However, these results are not stable after aging (i.e., 24 months water storage) and dark coloration limits the clinical use of PAC because of its natural oxidation process which yields staining dental substrates [10,17].

Further natural-origin renewable product that has been gaining interest in dentistry is cashew nut shell liquid (CNSL), a biomass rich in phenolic lipids [18]. Technical CNSL is a by-product of the industrial processing of cashew nuts, which is extracted under high temperatures and rich in cardanol [18]. This compound (cardanol) has chemical features favorable for use in dental materials, such as long spacer carbon chain, which promotes greater hydrophobicity and may result in less water sorption and polymer degradation, providing greater hydrolytic stability of polymers [19]. Cardanol was tested as a dentin biomodification agent, which demonstrated optimal chemical interaction, cross-linking with dentin collagen, increase in dentin modulus of elasticity by 109.9%, high resistance to biodegradation and absence of pigmentation of dental substrates [10].

From a chemical perspective, cardanol has several reaction sites suitable for incorporation of functional groups (Figure 1), such as methacrylate, which could enable its addition to dental resin-based materials, improving their physicochemical properties due to its long spacer carbon chain. Therefore, cardanol stands out as a molecule with very attractive structural characteristics for synthesis of new methacrylic monomers, such as cardanol

methacrylate (CNMA), for potential incorporation in adhesive systems. CNMA also contains phenolic hydroxyls, which are expected to act on exposed collagen, stabilizing fibrils by crosslinking them and inhibiting proteolytic enzymes [20].

Since unprotected collagen fibrils may suffer rapid hydrolysis yielding bond deterioration, it is desirable to investigate whether incorporating collagen crosslinkers into adhesive systems would benefit adhesion durability without increasing the adhesive application time, this might occur by the interaction of such bioactive monomers with the denuded collagen. Unlike further biomodification agents in the literature [17], it is possible that the simultaneous presence of methacrylate and hydroxyl groups in CNMA monomer, associated with its hydrophobicity, promotes collagen crosslinking prior to, during and after the formation of adhesive polymeric network. This may generate long-term stable dentin bonds for resin composite fillings in the clinical scenario.

The aim of this manuscript was to evaluate the influence on MMP inhibition, dentin bonding and physicochemical properties of a simplified adhesive incorporated with light-curable biomodification agent derived from CNSL. The hypotheses of the study are that the addition of CNMA in adhesive (1) inhibits proteolytic enzymes, (2) does not jeopardize polymer physicochemical properties (degree of conversion, water sorption and solubility) and (3) promotes less degradation of adhesive interface in long-term.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Reagents

Cardanol was kindly supplied by Satya Chemicals (Eluru, India). Formic acid (85%), hydrogen peroxide (35%), ethyl acetate, sodium bicarbonate, and anhydrous sodium sulfate

were used as received from LabSynth (São Paulo, Brazil). BHT (3,5-Di-tert-4-butylhydroxytoluene), and methacrylic acid were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) and used as received. Silica gel (63-200 μm ; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) was employed in the chromatographic separations.

2.2 Synthesis of cardanol methacrylate (CNMA)

Cardanol was reacted with hydrogen peroxide to obtain cardanol epoxy (CNE) as performed by Pereira et al. [21] with modifications. The synthesis of the intermediate compound CNE consisted of epoxidation of unsaturations of cardanol with performic acid formed in situ from the reaction between formic acid and hydrogen peroxide, catalyzed by Amberlite IR 120H, using the molar ratio of 1.0: 0.5: 3.0 (unsaturation: formic acid: hydrogen peroxide). In a round bottom flask (100 mL), 10 g of cardanol (56.8 mmol of unsaturation) was weighed followed by the addition of 1.26 mL of formic acid (28.4 mmol) and 2 g of Amberlite IR 120H (20 wt % of cardanol). The mixture was kept under magnetic stirring for 10 minutes. Then, using a burette, 16.3 mL of hydrogen peroxide (170.5 mmol) was added dropwise under constant stirring at room temperature. After that, the mixture was heated in a silicone bath at 65°C and continuously stirred for 4 hours to obtain CNE as a reddish-brown oil (90%).

Cardanol methacrylate (CNMA) monomer was obtained by a ring-opening reaction of CNE with methacrylic acid under microwave irradiation. In a round bottom flask (25 mL), 4 g of CNE (12.6 mmol) was weighed and 2.6 mL of methacrylic acid (30.8 mmol) was added. The flask was attached to a 50 cm Vigreux condenser and placed in the microwave space, which was programmed to increase from room temperature to 130°C over a period of 3 minutes and kept at the established temperature for 20 minutes under constant magnetic stirring to obtain CNMA monomer as a light-yellow oil (76 % yield). CNMA synthesis was carried out using a

Milestone microwave reactor (StartSYNTH, Shelton, USA) operating in an open-vessel configuration with a frequency of 2.45 GHz. The temperature set was controlled by an IR sensor and the power limited to 800 W.

The reactions described previously were monitored by thin layer chromatography. At the end of each reaction, mixture was cooled down to room temperature and vacuum filtered to remove the heterogeneous catalyst. The filtrate was transferred to a separation funnel (250 mL), neutralized with saturated sodium bicarbonate solution and extracted with ethyl acetate. Organic phase was collected, dried with anhydrous sodium sulfate, concentrated under reduced pressure and purified through a silica chromatography column to obtain the respective products. Moreover, to avoid spontaneous polymerization, the monomers were stored in refrigerator (4°C) with 0,01% BHT in amber glasses covered with aluminum foil.

2.3 Monomer characterization

CNE and CNMA were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) techniques.

2.3.1 Fourier transform infrared vibrational spectroscopy (FT-IR)

FT-IR spectra were obtained in a Spectrum Frontier (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, USA) equipped with zinc selenide (ZnSe) crystal to perform attenuated total reflectance (ATR) analysis. Samples of the isolated monomers were individually dispensed onto the crystal. The wavelength range of analyzes was 4000–550 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and 32 scans.

2.3.2 Nuclear magnetic resonance (NMR)

The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a nuclear spectrometer instrument (Avance DPX, Bruker, Rheinstetten, Germany) operating at 75 MHz for ^{13}C and 300 MHz for ^1H . Deuterated chloroform was used to solubilize samples at room temperature.

2.4 Gel Zymography of MMPs

Twenty extracted sound human third molars were selected after approval by the Research Ethics Committee of Federal University of Ceará (protocol 1482602) and stored in 0.1 wt % thymol solution at 4°C refrigeration for no longer than two months.

A highly sensitive zymographic technique was performed as previously described [22] to detect proteolytic enzymes, such as matrix metalloproteinases (MMP), and, consequently, the effect of new monomers as MMP inhibitors. Initially, 2mm-slices of radicular dentin were obtained and frozen by pulverizing liquid nitrogen, to be shredded using a universal testing machine (Instron, Canton, MA, USA). The resulting dentin powder was then demineralized with 1 mol/L citric acid for 24 hours. One-gram aliquots of dentin powder were obtained and assigned to one of the following substances: cashew nut shell liquid (CNSL), cardanol (CN), cardanol methacrylate (CNMA) or proanthocyanidin (PAC). Fifty microliters of each substance were added to the respective dentin powder, which were diluted in Laemmli sample buffer in a 2:1 ratio. After two hours, samples were subjected to electrophoresis under non-reducing conditions on 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Pre-stained low-range molecular-weight SDS-PAGE standards (Bio-Rad) were used as molecular-weight markers. Untreated demineralized and mineralized dentin powder were used as control groups. Afterwards, gels were washed twice with agitation in 2.5% Triton X-100, 50 mM Tris-HCl, 5 mM CaCl_2 and 1 μL ZnCl_2 . Next, they were rinsed

with incubation buffer (1% Triton X-100, 50 mM Tris-HCl, 5 mM CaCl₂ and 1 μL ZnCl₂) and incubated for 24 hours at 37°C. Finally, gels were silver stained (Silver Stain Plus, Bio-Rad) and destained. Wet gels were scanned using a Bio-Rad imaging system (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA).

2.5 Formulation of Adhesives

Ybond[®] universal adhesive (Yllor, Pelotas, Brazil) was employed as a control adhesive (Control). In PAC group, 2 wt % of proanthocyanidin was incorporated into Ybond[®] resin. Cardanol group had 2 wt % of unsaturated cardanol (Cardanol) and CNMA group had 2 wt % of cardanol methacrylate (CNMA) added to the universal adhesive (Table 1).

2.6 Degree of conversion

The polymerization of adhesives was evaluated using FT-IR with similar set-up described in characterization section. One drop of each unpolymerized adhesive was placed onto the crystal and spectra were obtained. Disc-shaped specimens (n=3) were prepared by filling a stainless-steel mold of 6 mm in diameter and 1 mm thickness (Odeme Dental Research, Luzerna, Brazil) with unpolymerized adhesives, which were covered by a polyester strip and light-cured for 40 seconds on each side with LED curing unit (Valo, Ultradent, South Jordan, USA). Polymerized specimens were evaluated 24 hours after dry storage at room temperature. The conversion of the methacrylic double bond was monitored by calculating the ratio between the bands 1637 cm⁻¹ (aliphatic C=C double bond) / 1608 cm⁻¹ (aromatic C=C double bond as internal reference) from cured and uncured adhesives. The analysis was performed in triplicate. The results were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha=0.05$) [23].

2.7 Water sorption and solubility evaluation

Disk-shaped specimens (n=6) were prepared for water sorption (WS) and solubility (SL) tests according to ISO 4049-2009, except for the size of specimens (6 mm diameter instead of 15 mm), by using a stainless-steel mold of 6 mm in diameter and 1 mm thickness (Odeme Dental Research, Luzerna, Brazil). This matrix was filled with unpolymerized adhesives, which were covered by a polyester strip, light-cured for 40 seconds on each side with LED (Valo) and stored in a desiccator with silica gel at 37°C. To obtain m₁, disks were weighed at each 24 hours in precision balance (Marte Científica AUW220D, São Paulo, Brazil) until a constant dry mass was obtained (variation less than 0.2 mg in three weight measures). Next, adhesive disks were stored in eppendorfs with 1.5 mL of distilled water at 37°C. After 7 days of immersion, the specimens were washed, gently wiped with absorbent paper and weighed in the precision balance to measure m₂. Subsequently, the disks were dried in the desiccator and weighed daily until a final constant mass was obtained (m₃). The weighing was performed by a single investigator in order to standardize the procedure. The volume (V) of the specimens (mm³) was calculated by measuring the thickness and diameter with a digital caliper (±0.01 mm). WS and SL were calculated (µg/mm³) according to the formulas below [24]. Data was statistically analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test (α=0.05).

$$WS = \frac{m_2 - m_3}{V} \quad SL = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

2.8 Dentin Bonding Investigation

2.8.1 Specimens Preparation

Twenty extracted third molars had their roots removed 2 mm below cemento-enamel junction and a parallel cut was undertaken on the occlusal surface, 2 mm above this junction, using a slow-speed water-cooled diamond saw (Isomet 4000; Buehler, Lake Bluff, USA) to expose a flat middle coronal dentin, which was wet-polished for 30 seconds with 600-grit silicon carbide paper (SiC) to create a standardized smear layer. These dentin disks were randomly allocated into four groups (n=5), according to the adhesive to be applied in the restorative procedure: control, PAC, cardanol or CNMA. Specimens were restored according to etch-and-rinse technique: dentin was etched for 15s with 37% phosphoric acid (Condac 37, FGM, Joinville, Brazil), rinsed with water for 30s and carefully dried with absorbent paper. Afterwards, first layer of adhesive was actively applied for 20s, gently air-dried for 10s, second layer of adhesive was applied for 20s and light activated for 40s using the Valo LED with 1200mW/cm² irradiance. Resin composite (Opallis, FGM) was used for build-ups. Bonded-teeth were stored in distilled water for 24 hours at 37°C and subsequently sectioned into 1 mm² sticks using a slow-speed water-cooled diamond saw (Isomet-1000, Buehler, Lake Bluff, USA). Sticks from the periphery presenting residual enamel were excluded.

2.8.2 Microtensile Bond Strength (μ TBS)

After 24 hours, half of the sticks from each bonded-tooth was fixed to jigs with cyanoacrylate glue (Super Bonder gel; Loctite Henkel, Rocky Hill, USA) and tested to failure under tension in a universal testing machine (DL 2000, EMIC, São José dos Pinhais, Brazil) with 500-N load cell at 0.5 mm/min crosshead speed. The other half of the samples was stored prior to testing in distilled water for 6 months, which was monthly exchanged. Bond strengths of sticks from the same bonded-tooth were averaged and the mean was used as statistical unit.

Sticks that failed prematurely were included as 0 MPa. The μ TBS data (MPa) were statistically analyzed using two-way ANOVA (adhesive and storage period) and Tukey's test ($\alpha=0.05$).

2.8.3 Nanoleakage evaluation

Three resin-dentin sticks were selected from each group to be evaluated for nanoleakage assessment of the adhesive interface immediately and after aging, as previously described [25]. Briefly, after immersion in 50 wt % ammoniacal silver nitrate aqueous solution [$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$] for 24h protected from light, sticks were rinsed with distilled water and immersed in photodeveloping solution for 8h under fluorescent light. The silver-impregnated specimens were washed with distilled water, dehydrated and embedded in epoxy resin stubs, which were wet-polished using 600-, 1200- 2000- and 4000-grit SiC papers and 1 μm diamond paste (Buehler, Coventry, UK). After each polishing step, stubs were ultrasonically cleaned for 2 minutes. Specimens were then dehydrated in silica gel for 24h at 37°C, gold-sputter coated and examined using a scanning electron microscopy (SEM) (Inspect S50, FEI Company, Amsterdam, Netherlands) operated at 20 kV in backscattered electron mode at 2000x magnification.

3. RESULTS

3.1 Monomer characterization

Figure 2 shows the FT-IR spectra and Figure 3 the ^1H and ^{13}C NMR spectra for of synthesized monomers, and the characteristic bands/peaks are listed as follows:

CNE: FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3374; 2925; 2854; 1588; 1455; 1352; 1272; 1229; 1154; 1072; 998; 943; 872; 826; 779; 749; 724; 694; 637; 596; 562. NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 7.13 (t); 6.72 (d); 6.68 (d); 5.89 (m); 5.16 (m); 3.17 (m); 2.95 (m); 2.55 (t); 1.79 (m); 1.59 (m); 1.30 (m); 0.90 (m). NMR ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 155.98; 144.97; 129.45; 120.83; 117.57; 115.55; 112.76; 57.66; 35.86; 31.16; 29.80; 27.90; 26.94; 26.66; 22.66; 14.08.

CNMA: FTIR (ATR, cm^{-1}): 3388; 2926; 2855; 1716; 1588; 1455; 1295; 1157; 1069; 1011; 943; 873; 813; 754; 695; 598; 556. NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 7.13 (t), 6.72 (d); 6.68 (d); 6.13 (d); 5.59 (d); 5.10 (m); 4.13 (m); 2.53 (t); 1.96 (s); 1.57 (m); 1.45 (m); 0.92 (m). NMR ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 167.80; 156.25; 145.09; 136.24; 129.56; 126.28; 121.0; 116.57; 113.05; 73.11; 35.93; 31.95; 29.90; 25.68; 22.79; 18.81; 14.22.

In the FT-IR spectrum of CNE (Figure 2: green middle spectrum) demonstrated a successful epoxidation: the stretch of the oxirane ring was observed at 826 cm^{-1} (epoxy group), while this absorption peak disappeared in CNMA spectrum (Figure 2: red bottom spectrum). The cardanol epoxidation was also detected by ^1H and ^{13}C NMR spectra: the signal at the range of δ 2.95 - 3.17 (Fig. 3a - dotted rectangle 2) is attributed to the oxirane ring of CNE, also confirmed by the signal at 57.66 ppm in ^{13}C NMR (Fig. 3b – dotted rectangle 2), which has disappeared in CNMA spectra. In the FT-IR spectrum of CNMA (Figure 2: red bottom spectrum), the absorption band was detected at 1717 cm^{-1} , referring to the bond $\text{C}=\text{O}$ (carbonyl from methacrylate). The CNE esterification was confirmed by ^1H and ^{13}C NMR spectra: the signal at the range of 167.8 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 5) is characteristic of the carbonyl ($\text{C}=\text{O}$), in addition to the singlet at δ 1.96 ppm (Fig. 3a – dotted rectangle 3) and at δ 18.81 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 3) related to the methyl protons of methacrylate group of CNMA.

3.2 Presence of host-derived gelatinases

The SDS-PAGE gel, shown in Figure 4, displayed multiple forms of host-derived proteinases in demineralized dentin powder (DEM): pro MMP-2 and its active-form (72- and 66-kDa respectively) and MMP-9 (92–86-kDa), whereas mineralized dentin powder (MIN) showed lower enzymatic presence. Dentin treated for 1 min with cashew nut shell liquid (CNSL) was unable to inhibit MMPs, evidencing intense bands referring to these enzymes. Cardanol (CN), on the other hand, resulted in lighter but detectable bands, compatible with partial inhibition of MMPs. After treatment with CNMA and PAC no bands were exhibited, suggesting a complete inhibition of all forms of MMP-2 and MMP-9.

3.3 Degree of conversion

The outcomes (means and standard deviations) of the degree of conversion analysis are depicted in Figure 5. Cardanol achieved a significantly lowest (78.88%) degree of conversion, while the other groups did not differ from control adhesive ($p>0.05$).

3.4 Water sorption and solubility

Results of water sorption and solubility of the adhesives are summarized in Figure 6. PAC group achieved significantly higher water sorption ($0.28 \mu\text{g}/\text{mm}^3$) than all further groups, which revealed no significant difference between them ($p>0.05$). The highest values of solubility ($p<0.05$) were exhibited by cardanol group ($0.18 \mu\text{g}/\text{mm}^3$), followed by control ($0.14 \mu\text{g}/\text{mm}^3$) and PAC ($0.14 \mu\text{g}/\text{mm}^3$), which do not differ significantly from each other ($p = 0.998$). Conversely, the solubility of CNMA was significantly lower when compared to the other adhesives ($0.09 \mu\text{g}/\text{mm}^3$) ($p<0.05$).

3.5 Microtensile Bond Strength (μ TBS)

The μ TBS results are depicted in Figure 7. PAC provided a statistically higher initial bond strength (mean 43.2 MPa), while cardanol group presented the lowest outcomes (15.3 MPa). Intermediary μ TBS were found with control (31.1 MPa) and CNMA (36.2 MPa) ($p=0.108$). After 6-month aging, the adhesive containing PAC also obtained the highest μ TBS (33.42 MPa), whereas control (26.44 MPa) and CNMA (24.0 MPa) presented intermediary outcomes with no significant difference between them ($p= 0.671$). All adhesives showed significantly reduced bond strength after aging ($p<0.05$).

3.6 Nanoleakage evaluation

Nanoleakage micrographs of dentin-adhesives interfaces are illustrated in Figure 8. Interfaces created using CNMA (Figure 8G) were almost devoid of silver deposits initially, while control, PAC and cardanol (Figure 8A, 8C and 8E respectively) showed noteworthy amount of silver deposits. The nanoleakage was even greater with cardanol-containing adhesive. Nevertheless, after 6-month aging, the nanoleakage of CNMA was remarkably increased, represented by water channels (water-trees) within the adhesive layers (Figure 8H). All groups showed large amounts of silver deposits on specimens subjected to water storage aging (Figure 8B, 8D, 8F and 8H). Furthermore, PAC- and cardanol-containing adhesives also presented gaps between the adhesive layer and the dentin (Figure 8C and 8F) and between the adhesive layer and the resin composite (Figure 8D).

4. DISCUSSION

The present investigation revealed the effectiveness of the novel methacrylic crosslinker monomer in inhibiting MMPs. Therefore, first hypothesis should be accepted. Yet, the second hypothesis must be accepted, once the physicochemical properties tested were not negatively affected by the addition of CNMA. However, it was not observed lower long-term dentin bonding degradation with the addition of CNMA to the universal adhesive. Consequently, third hypothesis should be rejected.

Collagen crosslinking agents are able to increase the resistance to MMP-mediated degradation of the dentin collagen matrix [26,27,28]. The present study compared the effect of proanthocyanidin, the most widely used natural biomodification agent, with cardanol and its derivative methacrylic monomer on the inhibition of host-derived MMPs. The detection of MMPs was accomplished through the use of gelatin zymography, which revealed that the intense bands related to the presence of these gelatinases on demineralized dentin and CNSL-treated dentin. Such presence of enzymes was notably inhibited in PAC and CNMA-biomodified groups (Figure 4). Accordingly, Liu et al. [29] found that PAC-treated groups exhibited a complete inhibition of all forms of MMP-2 and MMP-9.

Recent studies have shown the application of primers containing biomodification agents previously to the adhesive and concluded that there was a reduction in bonding degradation and also an increase in the mechanical properties of demineralized dentin [10,11,12]. Conversely, a two-year clinical trial of a PAC-based primer revealed that its application did not result in clinical advantages [17]. Furthermore, the proposal of incorporating biomodification agents into universal adhesives would enable an increase in PAC substantivity within the hybrid layer, as well as reduce one clinical step by promoting an infiltration of resin monomers through collagen fibrils simultaneously with their crosslinking. Green et al. [30] evaluated the incorporation of 5% PAC in dental adhesive and observed that there was an increase collagen degradation resistance by the presence of PAC in the model adhesive, which could be attributed

to the release of PAC from the experimental adhesive that reduces possible cleavage sites and decreases collagenase activity [29]. The survey of Epasinghe et al. [31] revealed that 2% PAC added to a hydrophilic adhesive improved dentin adhesion immediately, providing the greatest reduction in nanoleakage at the bonded interface without compromising the resin–dentine bond strength.

Our study incorporated 2% PAC into a universal adhesive (UNAD) and found that the degree of conversion was not adversely affected when compared to the control, as well as being the only group able to significantly increase bond strength at both assessment times. Asthana et al. [14] also revealed that acid-etched dentin treated by PAC results in increased μ TBS. This improvement in adhesion is due to the crosslinking of collagen fibers mainly through covalent linkages [32], ionic interaction [33], hydrophobic or hydrogen bonding between the protein amide carbonyl and PAC phenolic hydroxyl [34], which increases the mechanical properties of the hybrid layer [16,35]. Also, catechols available in PACs form chemical bonds with collagen and methacrylate groups that may reduce the pitfalls associated with dentin adhesion [16].

However, hydrogen bonds that are not stabilized by adjacent hydrophobic bonds can be dissociated when exposed to water [35] and presumably act as hydrophilic groups, which culminates in significantly higher water sorption with PAC to a previously hydrophilic simplified UNAD (Figure 6). Hence, interface hydrolysis was detected by a significant decrease in bond strength after aging and nanoleakage evaluation, which showed gaps and silver deposits at the adhesive interface generated by PAC, immediately and after aging. The study of Bacelar-Sá et al. [36] showed that the application of PAC increased the bond strength for all adhesives tested in 24h; however, the results decreased after six months, in agreement with our results. Moreover, a two-year follow-up clinical trial conducted by De Souza et al. [37] concluded that PAC incorporation to a two-step etch-and-rinse adhesive jeopardized the retention of resin composite restorations and increased the marginal staining, confirming the limitations of using

PAC directly in a clinical setting. Several factors may act in limiting the efficacy of PAC in clinical scenario, such as the salivary flux, presence of gingival fluids, its oxidation by food compounds and its interaction with further tissues. The lack of clinical effectiveness as well as the potential to stain the dentin highlights some drawbacks of PAC and reinforces the idea of developing new plant-derived biomodification agents not based in tannins.

Cardanol, the most common compound of the CNSL, demonstrated ability to crosslink dentin collagen without staining the substrate [10]. Therefore, it would be interesting to survey the incorporation of cardanol in simplified adhesives, once it was effective when applied separately as a primer [10]. The absence of light-curable groups in cardanol resulted in a significant reduction on degree of conversion of cardanol-incorporated adhesive (Figure 5), thus reducing dentin bond strength (Figure 7). In addition, the well-known antioxidant activity of phenols of the CNSL has been evidenced [38] and plays a crucial role on such decrease of adhesive resin polymerization. The large amount of residual uncured monomer provoked its leaching from the polymeric network, generating the highest solubility among all adhesives tested (Figure 6). Therefore, immediate nanoleakage revealed extensive deposits of silver at the bottom of the hybrid layer, which led to large gaps at the adhesive-dentin interface after aging (Figure 8).

Derived from cardanol, CNMA monomer was synthesized via two-step procedure (Figure 1) in order to develop a strategy that can avoid degradation at both dentin collagen via crosslinking and adhesive resin by increasing hydrophobicity. In the first step of synthesis, the intermediary CNE was successfully obtained by means of an adaptation of a previously published protocol [21]. The second step was the opening of the oxirane ring of CNE with methacrylic acid, in order to afford the final product CNMA in high yields (>75%). The monomers were isolated and characterized by FTIR, ^1H and ^{13}C NMR. Spectra (Figures 2 and

3) showed the functionalization of the cardanol unsaturation with an oxirane ring (CNE) and subsequently of the CNE oxirane ring with a methacrylate pendant functionality (CNMA).

The incorporation of 2% CNMA monomer into the simplified adhesive did not affect the degree of conversion (Figure 5) and dentin-resin interface bond strength when compared to control, even after aging (Figure 7). The hydrophobicity of CNMA is based on its long aliphatic carbon chain [19] and was probably responsible for the adhesive interface being virtually free of silver deposits in the immediate nanoleakage evaluation. In addition, this hydrophobicity and high degree of conversion reached by the polymer also contributed to CNMA achieving significantly lower solubility when compared to the further groups (Figure 6).

By observing the adhesive interface created with CNMA-containing adhesive after aging, the new methacrylic monomer was not able to keep the interface water-free over time, depicting signs of adhesive layer degradation represented by water trees (Figure 8). This pattern was very similar to the 24h nanoleakage micrographs of the control group. Although CNMA is a small molecule (<1000 g/mol) to freely diffuse around demineralized collagen fibrils [39], the inherent phase separation of universal adhesives [40] probably directed the monomer to the hydrophobic phase of the adhesive, favoring its presence within the adhesive layer. Thus, CNMA was not able to effectively protect the hydrophilic collagen network, thereby diminishing dentin collagen crosslinking and allowing interface degradation after aging. Furthermore, CNMA is a monomethacrylate monomer, yielding only linear polymer chains. Even with initial higher hydrophobicity, this path between polymer chains may allow water seepage during aging, which explains the high increase in nanoleakage.

Recently, methacrylate-functionalized proanthocyanidins were synthesized by Hass et al. (2021) [41] and tested as a primer, which demonstrated collagen crosslinking efficacy. In addition, this light-curable biomodification agent derived from PAC was added to an experimental adhesive and not only stabilized dentin collagen, but also improved

polymerization, mechanical properties and stability of the adhesives with significant reduction in PAC leaching compared to PAC-containing adhesive [20]. However, there have been no tests to evaluate the effect of methacrylate-functionalized PACs on dentin bonding and nanoleakage of the resin–dentin interface.

The incorporation of a biomodification monomer in adhesives was tested in order to increase the durability of the dentin bonds of the selected universal adhesive (Ybond Universal[®]). However, all groups showed decrease on bond strength and significant amount of silver deposits after aging (Figures 7 and 8). The investigation of Zhang et al. [42] also observed a significant reduction on μ TBS for universal adhesives when they were used in etch-and-rinse mode, proposing that there is an inconsistent and uneven infiltration of resin monomers into dentin collagen fibrils. This is basically due to the interaction of 10-methacryloxy-decyldihydrogen-phosphate (MDP) with hydroxyethyl methacrylate (HEMA), which produces an MDP-HEMA aggregate that reduce the hydrophobicity of MDP and generates a weak binding interaction with atelocollagen [43]. Moreover, the water content required by UNADs for dissociation of the acidic functional monomers also contributes to hydrolytic degradation and phase separation of monomers [40,44].

UNADs are essentially more prone to hydrolytic degradation, due to the presence of water in its composition [44]. Moreover, the presence of the hydrophilic monomer HEMA in the Ybond Universal[®] adhesive may enhance this issue. Also, the unbound phenolic hydroxyl may have acted as a hydrophilic site that provided water sorption similar to the already hydrophilic control group, generating hydrolysis of the bonds in aqueous solution. Therefore, the addition of CNMA was not able to promote higher durability and hydrolytic stability of the adhesive interface.

5. CONCLUSION

Although CNMA was effective in inhibiting proteolytic enzymes, when incorporated into a universal adhesive it could not promote less degradation of the adhesive interface in long-term. However, the hydrophobic monomer CNMA reduced the adhesive resin solubility without interfering in polymerization. Further investigations should be conducted tailored to improve the synthesis of newly hydrophobic monomers derived from cardanol towards reducing the hydrolytic degradation of simplified dental adhesives.

REFERENCES

- [1] Borgia E, Baron R, Borgia JL. Quality and Survival of Direct Light-Activated Composite Resin Restorations in Posterior Teeth: A 5- to 20-Year Retrospective Longitudinal Study. *J Prosthodont* 2019; 28(1):195-e203. <https://doi.org/10.1111/jopr.12630>.
- [2] Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 1982; 16:265-73. <https://doi.org/10.1002/jbm.820160307>.
- [3] Giannini M, Vermelho PM, de Araújo Neto VG, Soto-Montero JR. An Update on Universal Adhesives: Indications and Limitations. *Curr Oral Health Rep* 2022; 1-9. <https://doi.org/10.1007/s40496-022-00309-w>.
- [4] Matos AB, Trevelin LT, Silva BTF, Francisoni-Dos-Rios LF, Siriani LK, Cardoso MV. Bonding efficiency and durability: current possibilities. *Braz Oral Res* 2017; 31(suppl):e57. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0057>.
- [5] Nagarkar S, Theis-Mahon N, Perdigão J. Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2019; 107(6):2121-31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34305>.
- [6] Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J* 2011; 56(1 suppl):31–44. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x>.
- [7] Huang B, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition. *Dent Mater* 2018; 34(9):1253-62. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.05.008>.
- [8] Scaffa PMC, Breschi L, Mazzoni A, Vidal CMP, Curci R, Apolonio F, et al. Co-distribution of cysteine cathepsins and matrix metalloproteases in human dentin. *Arch Oral Biol* 2017; 74:101-7. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.11.011>.
- [9] Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldeli S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer – A review. *Dent Mater* 2013; 29(10):999-1011. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.07.016>.
- [10] Moreira MA, Souza NO, Sousa RS, Freitas DQ, Lemos MV, De Paula DM, et al. Efficacy of new natural biomodification agents from *Anacardiaceae* extracts on dentin collagen cross-linking. *Dent Mater* 2017; 33(10):1103-9. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.07.003>.

- [11] Hass V, Luque-Martinez IV, Gutierrez MF, Moreira CG, Gotti VB, Feitosa V, et al. Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. *Dent Mater* 2016; 32(6):732-41. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.03.008>.
- [12] Trevelin LT, Alania Y, Mathew M, Phansalkar R, Chen S, Pauli GF, et al. Effect of dentin biomodification delivered by experimental acidic and neutral primers on resin adhesion. *J Dent* 2020; 99:103354. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103354>.
- [13] Marya P, Handa M. Effect of proanthocyanidin and riboflavin on shear bond strength of a nanocomposite to deep dentin—An in vitro Study. *J Conserv Dent* 2021; 24(5):480-4. https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_126_21.
- [14] Asthana G, Khambhala R, Govil S, Dhanak N, Kanodia S, Parmar A. Effect of chemical cross-linkers on surface topography and microtensile bond strength of sound dentin: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2021; 24(3):288-92. https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_607_20.
- [15] Aydin B, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Aguiar TR, Phansalkar RS, Nam JW, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dent Mater* 2019; 35(2):328-34. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.11.029>.
- [16] Leme-Kraus AA, Aydin B, Vidal CMP, Phansalkar RM, Nam JW, McAlpine J, et al. Biostability of the Proanthocyanidins-Dentin Complex and Adhesion Studies. *J Dent Res* 2017; 96(4):406-12. <https://doi.org/10.1177/0022034516680586>.
- [17] De Souza LC, Rodrigues NS, Cunha DA, Feitosa VP, Santiago SL, Reis A, et al. Two-year clinical evaluation of a proanthocyanidins-based primer in non-cariou cervical lesions: A double-blind randomized clinical trial. *J Dent* 2020; 96:103325. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103325>.
- [18] Lomonaco D, Mele G, Mazzetto S. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. In: Anilkumar P (eds). *Cashew Nut Shell Liquid: A Gold Field for Functional Materials*. 1st ed. Springer International Publishing; 2017, p. 19-38.
- [19] Feitosa VP, Sauro S, Ogliari FA, Ogliari AO, Yoshihara K, Zanchi CH, et al. Impact of hydrophilicity and length of spacer chains on the bonding of functional monomers. *Dent Mater* 2014; 30(12):e317-23. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.06.006>.
- [20] Wang R, Li Y, Hass V, Peng Z, Wang Y. Methacrylate-functionalized proanthocyanidins as novel polymerizable collagen cross-linkers - Part 2: Effects on polymerization,

microhardness and leaching of adhesives. *Dent Mater* 2021; 37(7):1193-201. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.04.010>.

[21] Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Carvalho BA, Mattos AL, Mazzetto SE, Lomonaco D. Development of Bio-based Polyurethane Wood Adhesives from Agroindustrial Waste. *J Polym Environ* 2021; 1-14. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02331-y>.

[22] Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GAM, Papa S, Mazzoti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007; 86(5):436–40. <https://doi.org/10.1177/154405910708600509>.

[23] Andrade Neto DM, Carvalho EV, Rodrigues EA, Feitosa VP, Sauro S, Mele G, et al. Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants. *Dent Mater* 2016; 32(6):784–93. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.03.026>.

[24] Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Watson TF, Sinhoreti MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentine interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water ageing. *J Dent* 2012; 40(12):1134-43. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2012.09.011>.

[25] Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res* 2002; 81(7):472-6. <https://doi.org/10.1177/154405910208100708>.

[26] Hass V, Luque-Martinez I, Muñoz MA, Reyes MFG, Abuna G, Sinhoreti MAC, et al. The effect of proanthocyanidin-containing 10% phosphoric acid on bonding properties and MMP inhibition. *Dent Mater* 2016; 32(3):468-75. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.12.007>.

[27] Maravic T, Mancuso E, Comba A, Checchi V, Generali L, Mazzitelli C, et al. Dentin cross-linking effect of carbodiimide after 5 years. *J Dent Res* 2021; 100(10):1090-8. <https://doi.org/10.1177/00220345211014799>.

[28] Wang Y, Green A, Yao X, Liu H, Nisar S, Gorski JP, et al. Cranberry juice extract rapidly protects demineralized dentin against digestion and inhibits its gelatinolytic activity. *Materials (Basel)* 2021; 14(13):3637. <https://doi.org/10.3390/ma14133637>.

[29] Liu R, Fang M, Zhang L, Tang C, Dou Q, Chen J. Anti-proteolytic capacity and bonding durability of proanthocyanidin-biomodified demineralized dentin matrix. *Int J Oral Sci* 2014; 6(3):168-74. <https://doi.org/10.1038/ijos.2014.22>.

[30] Green B, Yao X, Ganguly A, Xu C, Dusevich V, Walker M, et al. Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *J Dent* 2010; 38(11):908-15. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2010.08.004>.

- [31] Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Tay FR, King NM. Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive resin on resin-dentine bond strength. *J Dent* 2012; 40(3):173-80. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.11.013>.
- [32] Pierpoint WS. o-Quinones formed in plant extracts. Their reactions with amino acids and peptides. *Biochem J* 1969; 112(5):609–16. <https://doi.org/10.1042/bj1120609>.
- [33] Loomis WD. Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. *Methods Enzymol* 1974; 31:528-44. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(74\)31057-9](https://doi.org/10.1016/0076-6879(74)31057-9).
- [34] Hagerman AE, Klucher KM. Tannin-protein interactions. *Prog Clin Biol Res* 1986; 213:67–76.
- [35] Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni ME. Proanthocyanidin: A natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A* 2003; 65(1):118–24. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10460>.
- [36] Bacelar-Sá R, Giannini M, Ambrosano GMB, Bedran-Russo AK. Dentin Sealing and Bond Strength Evaluation of Hema-Free and Multi-Mode Adhesives to Biomodified Dentin. *Braz Dent J* 2017; 28(6):731-7. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201701522>.
- [37] de Souza LC, Rodrigues N, Cunha DA, Feitosa VP, Santiago, S, Reis, A, et al. Two-year clinical evaluation of proanthocyanidins added to a two-step etch-and-rinse adhesive. *J Dent* 2019; 81:7-16. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.12.012>.
- [38] Maia FJN, Ribeiro FWP, Rangel JHG, Lomonaco D, Luna FMT, de Lima-Neto P, et al. Evaluation of antioxidant action by electrochemical and accelerated oxidation experiments of phenolic compounds derived from cashew nut shell liquid. *Ind Crops and Prod* 2015; 67:281-6. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.034>.
- [39] Takahashi M, Nakajima M, Tagami J, Scheffel DLS, Carvalho RM, Mazzoni A, et al. The importance of size-exclusion characteristics of type I collagen in bonding to dentin matrices. *Acta Biomater* 2013; 9(12):9522-8. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.07.037>.
- [40] Papadogiannis D, Dimitriadi M, Zafiropoulou M, Gaintantzopoulou MD, Eliades G. Universal Adhesives: Setting Characteristics and Reactivity with Dentin. *Materials (Basel)* 2019; 12(10):1720. <https://doi.org/10.3390/ma12101720>.
- [41] Hass V, Li Y, Wang R, Nguyen D, Peng Z, Wang Y. Methacrylate-functionalized proanthocyanidins as novel polymerizable collagen cross-linkers—Part 1: Efficacy in dentin collagen bio-stabilization and cross-linking. *Dent Mater* 2021; 37(7):1183-92. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.04.006>.

[42] Zhang Z, Tian F, Niu L, Ochala K, Chen C, Fu B, et al. Defying ageing: an expectation for dentine bonding with universal adhesives? *J Dent* 2016; 45:43-52. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.11.008>.

[43] Hiraishi N, Tochio N, Kigawa T, Otsuki M, Tagami J. Role of 2-hydroxyethyl methacrylate in the interaction of dental monomers with collagen studied by saturation transfer difference NMR. *J Dent* 2014; 42(4):484-9. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.12.016>.

[44] Alex G. Universal adhesives: the next evolution in adhesive dentistry? *Compend Contin Educ Dent* 2015; 36(1):15-26. PMID: 25822403.

TABLES

Table 1 - Composition of the adhesives employed

ADHESIVES	COMPONENTS
Control Ybond Universal [®] Lote n° 9909	Hydrophilic and hydrophobic methacrylate monomers (Bis-GMA, TEGDMA, HEMA, MDP, GPDM) ^a , initiators, stabilizers, silane, ethanol, water and silanized nanoparticles.
PAC	Ybond Universal [®] + 2 wt % of proanthocyanidin.
Cardanol	Ybond Universal [®] + 2 wt % of cardanol.
CNMA	Ybond Universal [®] + 2 wt % of cardanol methacrylate.

^aBis-GMA: bisphenol A glycidyl methacrylate. TEGDMA: triethylene glycol dimethacrylate. HEMA: hydroxyethyl methacrylate. MDP: 10-methacryloxy-decyldihydrogen-phosphate. GPDM: glycerol phosphate dimethacrylate.

PAC: proanthocyanidin. CNMA: cardanol methacrylate.

FIGURES

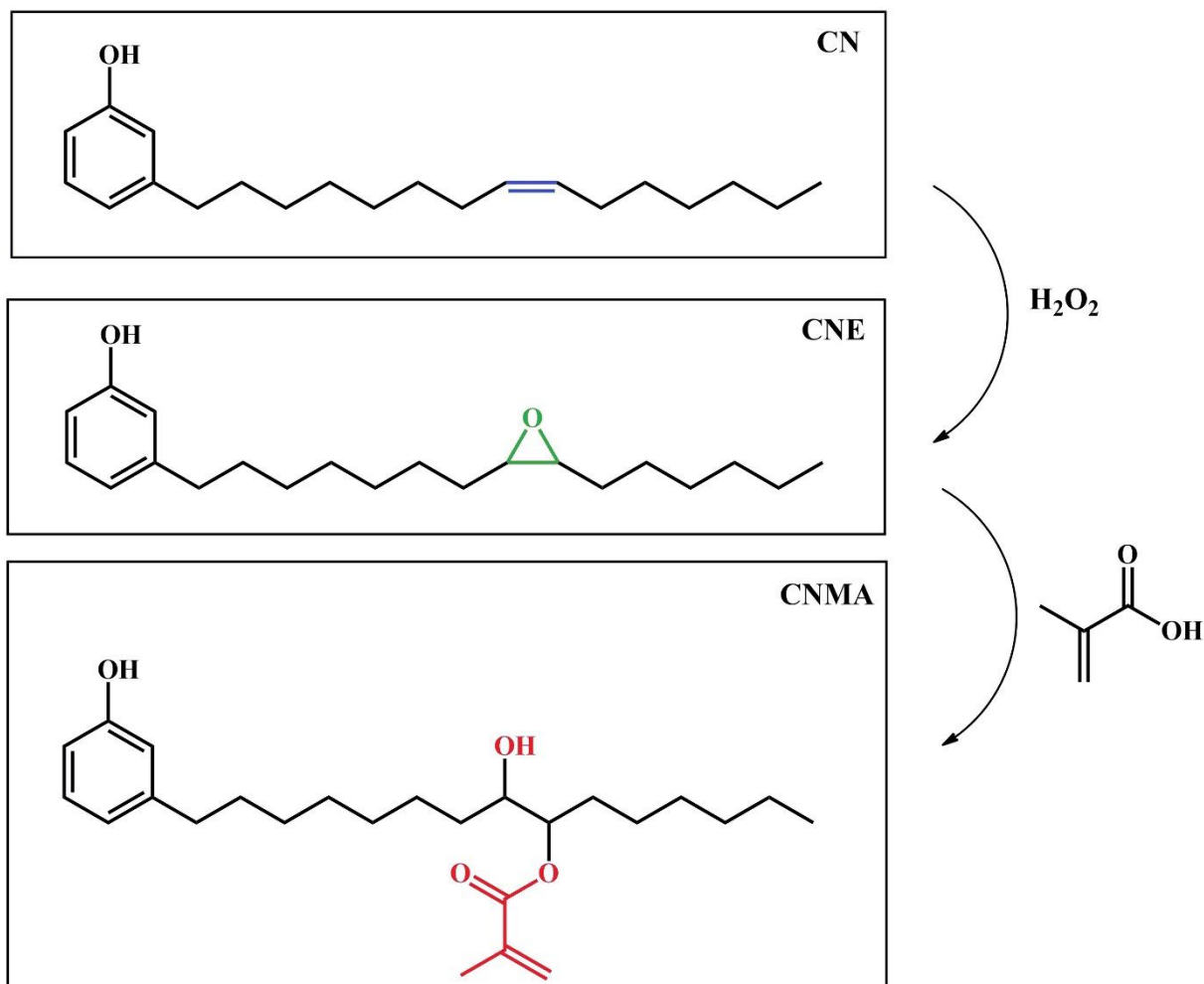


Figure 1 – Molecular structure of cardanol with main reaction sites: aromatic ring, phenolic hydroxyl, and unsaturations in the aliphatic carbon chain. Synthetic route: unsaturated cardanol (CN) was epoxidized with hydrogen peroxide (H_2O_2), using formic acid as a catalyst, in order to incorporate an oxirane ring where the unsaturation was located and form cardanol epoxy (CNE). CNE was esterified with methacrylic acid to incorporate a methacrylate pendant where the oxirane ring of CNE was located and to obtain the final monomer cardanol methacrylate (CNMA).

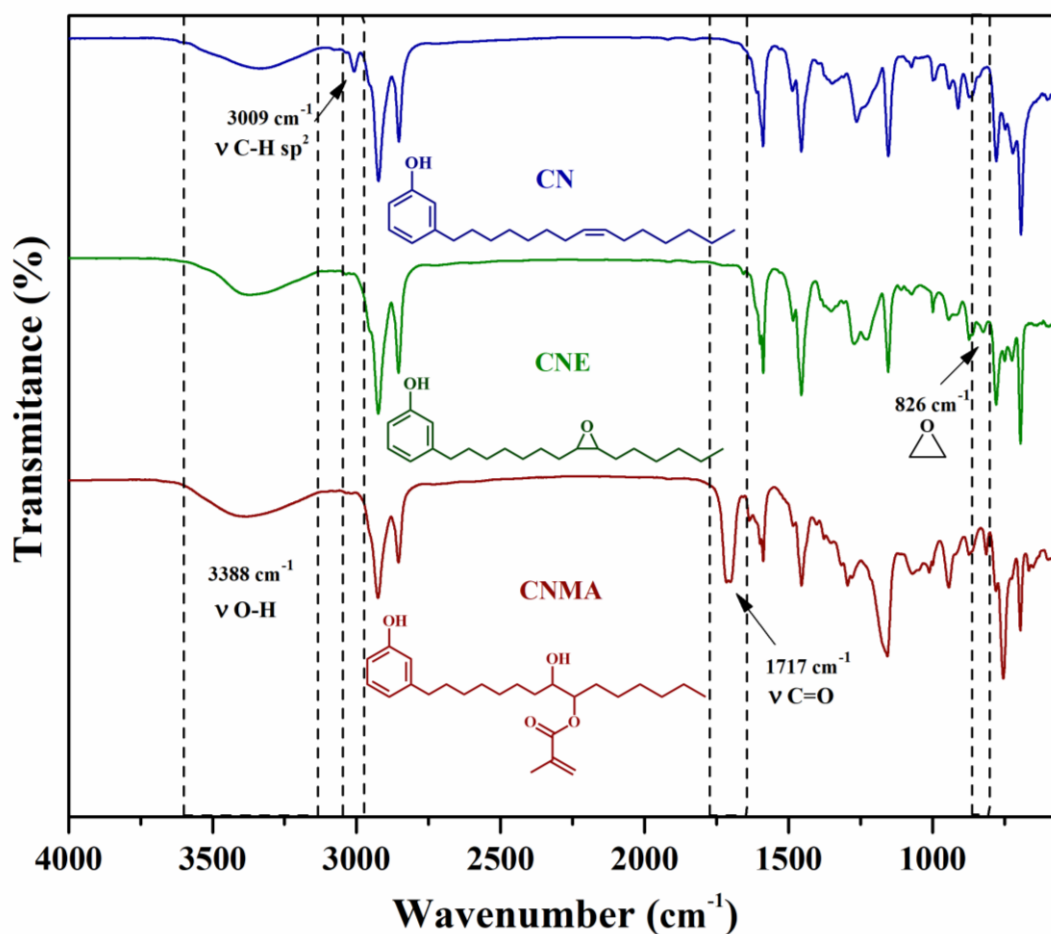


Figure 2 – FTIR spectra obtained from the monomers unsaturated cardanol (CN - top spectrum), cardanol epoxy (CNE – middle spectrum) and cardanol methacrylate (CNMA – bottom spectrum). The stretch of the C-H sp^2 (aliphatic) bond at 3009 cm^{-1} , is only observed in CN. The stretch of the C-O-C (oxirane ring) bond at 826 cm^{-1} is presented in CNE, demonstrating the successful epoxidation. After the ring-opening, the stretch of the C-O-C (oxirane ring) bond at 826 cm^{-1} has disappeared in CNMA. The spectra of CN, CNE and CNMA shows the absorption band at 3388 cm^{-1} , characteristic of vibrational stretch of the O-H bond of the phenol. The absorption band at 1717 cm^{-1} referring to the bond C=O (carbonyl from methacrylate) occurred only in CNMA.

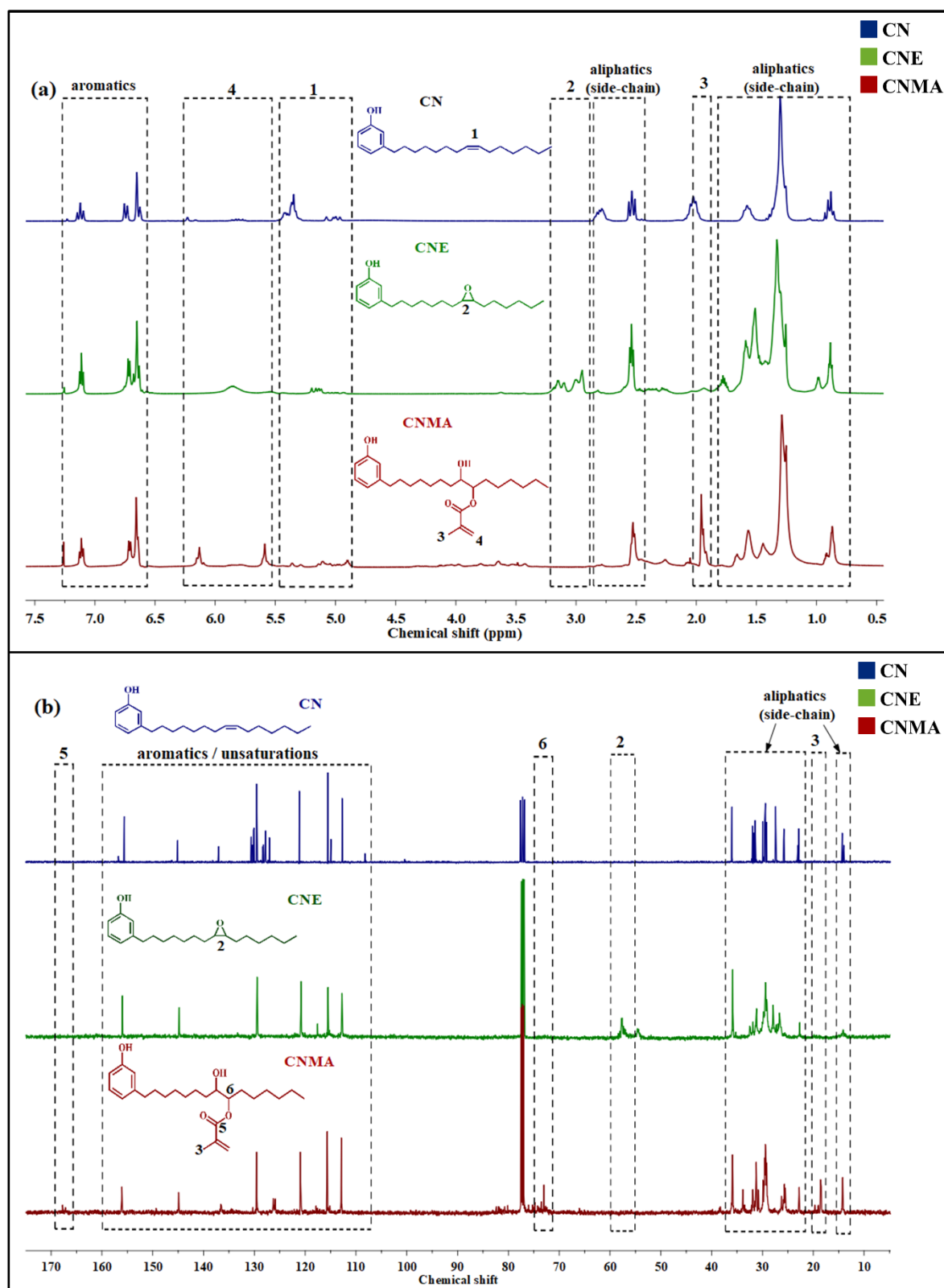


Figure 3 – ^1H NMR (a) and ^{13}C NMR (b) spectra of the monomers cardanol unsaturated (CN – blue spectrum), cardanol epoxy (CNE – green spectrum) and cardanol methacrylate (CNMA –

red spectrum). CN showed a signal at the range of δ 5.37 – 5.43 ppm (Fig. 3a - dotted rectangle 1) relative to the olefinic hydrogens of the lateral chain, that was absent in CNE and CNMA. The signal at the range of δ 2.95 - 3.17 (Fig. 3a - dotted rectangle 2) is attributed to the oxirane ring of CNE, also confirmed by the signal at 57.66 ppm in ^{13}C NMR (Fig. 3b – dotted rectangle 2), which has disappeared in CNMA spectra. Between δ 5.59 – 6.13 ppm are observed the signals referring to the vinylic hydrogens (Fig. 3a - dotted rectangle 4) in addition to the singlet at δ 1.96 ppm related to the methyl protons of the CNMA methacrylate group (Fig. 3a - dotted rectangle 3). The ^{13}C NMR confirmed the presence of the methacrylate group in CNMA showing the signal at 167.8 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 5), characteristic of the carbonyl (C=O). The terminal methyl group is observed at δ 18.81 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 3).

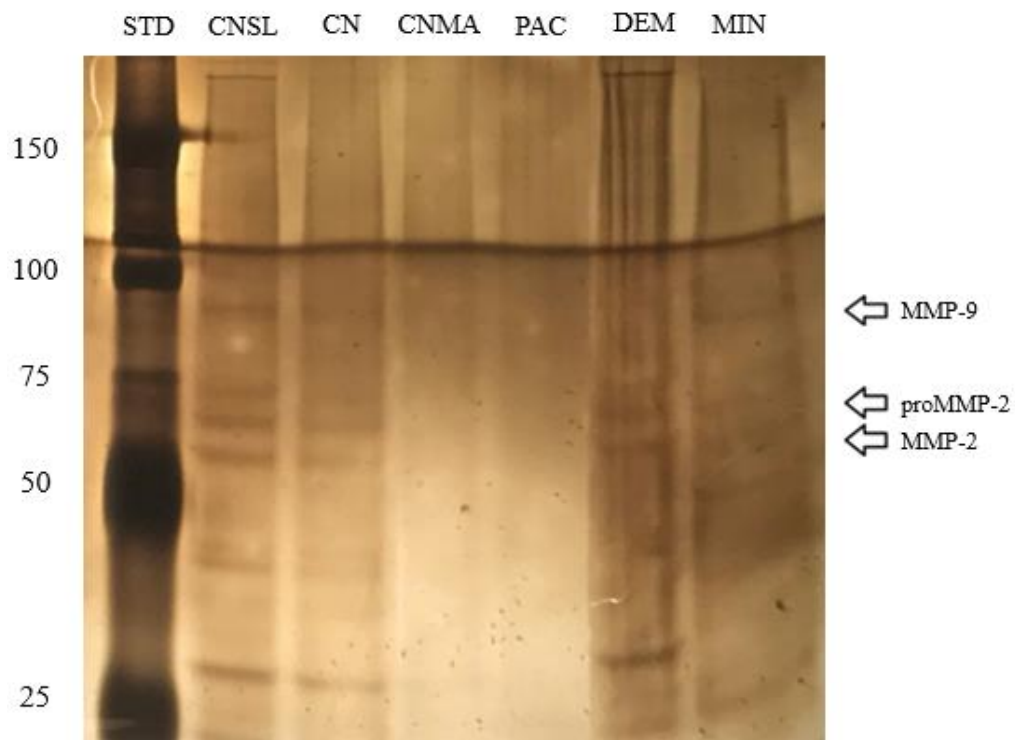


Figure 4 - Zymographic (SDS-PAGE) analysis was performed to determine the effect of different compounds on inhibition of matrix metalloproteinases at the molecular level. MMP-9 (92–86-kDa), MMP-2 pro and active-form (72- and 66-kDa respectively) are labeled with arrows. Aliquots of demineralized dentin powder were incubated for 1 min with the following products. Lane 1: molecular masses, expressed in kDa, are reported in the standard lane (STD). Lane 2: cashew nut shell liquid (CNSL) showing intense bands related to the presence of MMP-9, MMP-2 pro- and active-form. Lane 3: cardanol presented fainter bands compared to CNSL related to MMP-9, MMP-2 pro- and active-forms, representing a partial inhibition of the activity of the MMPs. Lane 4: cardanol methacrylate (CNMA) totally inhibited both MMP-2 and -9 activities. Lane 5: proanthocyanidin (PAC) also totally inhibited both MMP-2 and -9 activities. Lane 6: demineralized dentin powder (DEM) showing the presence of intense bands related to pro-MMP-2 and its active-form (72- and 66-kDa, respectively). Lane 7: mineralized dentin powder (MIN) evidenced fainter molecular bands referring to MMP-9, pro- and active-form of MMP-2 (72- and 66-kDa, and 95 respectively) when compared with the demineralized dentin.

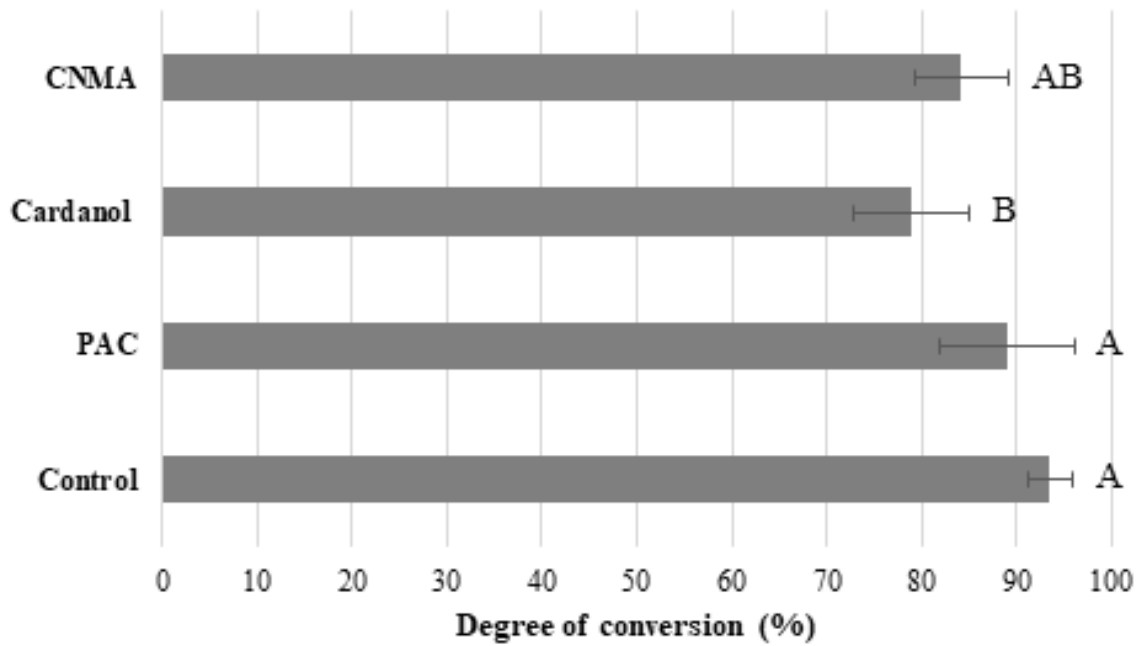


Figure 5 - Degree of conversion (%) outcomes. Statistical analysis (one-way ANOVA and Tukey's test) of data are presented within the bars (means) of each group with standard deviation. Different capital letters represent statistically significant different degree of conversion results ($p < 0.05$). Control: Ybond Universal[®]. PAC: proanthocyanidin. CNMA: cardanol methacrylate.

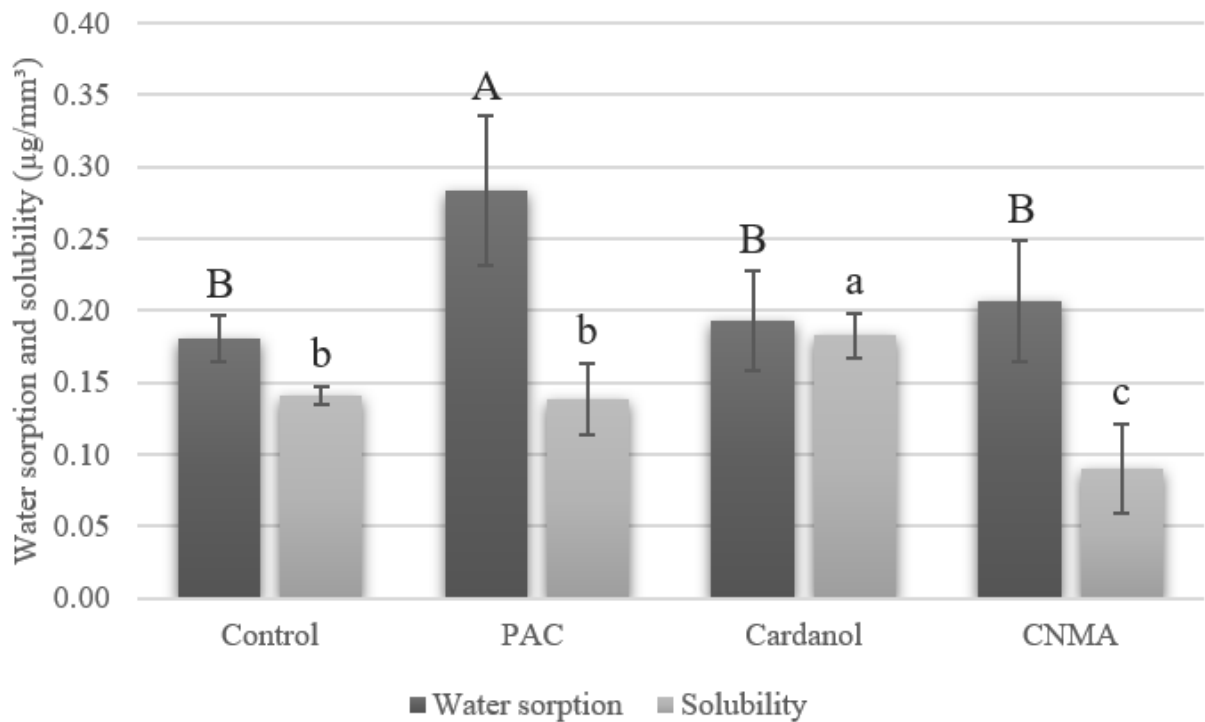


Figure 6 - Graph showing the outcomes (means and standard deviations) of water sorption (WS) and solubility (SL) tests of the adhesives ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$). Different capital letters present statistically significant difference among the WS of the groups ($p < 0.05$). Different lower case letters show significant difference between SL of the adhesives ($p < 0.05$). The data of statistical analysis (one-way ANOVA and Tukey's test) are presented within the bars of each group with standard deviation. Control: Ybond Universal[®]. PAC: proanthocyanidin. CNMA: cardanol methacrylate.

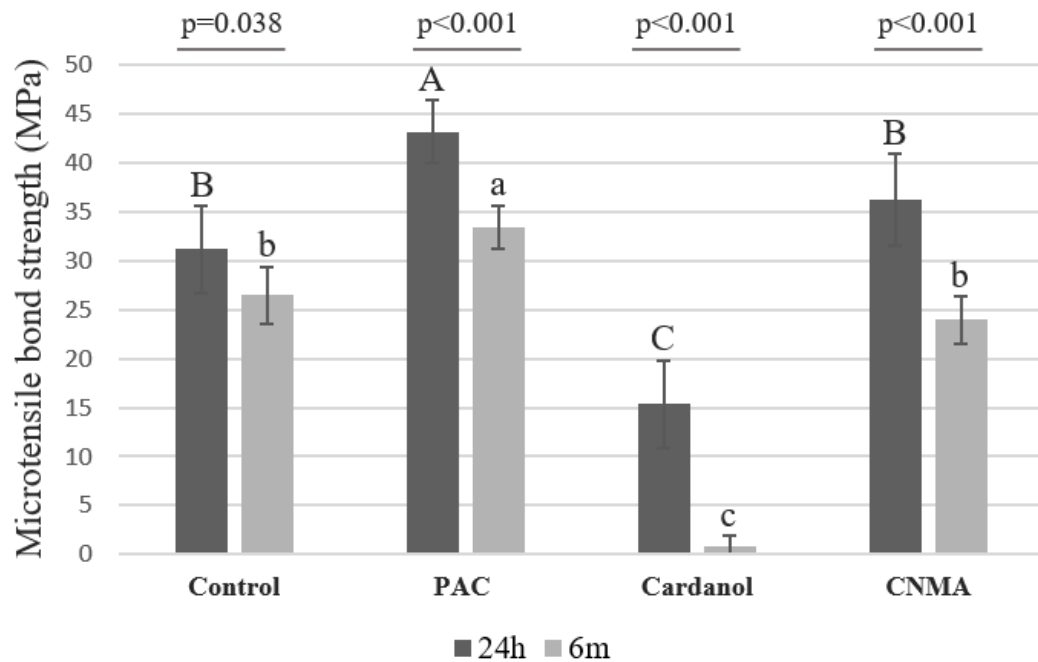


Figure 7 – Graph presenting the results of microtensile bond strength (MPa) of the different dentin adhesives employed (24h and 6-month aging). The outcomes of statistical analysis (two-way ANOVA and Tukey’s test) are presented within the bars (means) of each group with standard deviation. Different capital letters present statistically significant difference among 24h groups ($p < 0.05$). Different lower case letters show significant difference between 6-month aging groups ($p < 0.05$). All adhesives applied had significant drop in bond strength after aging, as pointed out in the upper region of the graph by p-values < 0.05 . Control: Ybond Universal[®]. PAC: proanthocyanidin. CNMA: cardanol methacrylate.

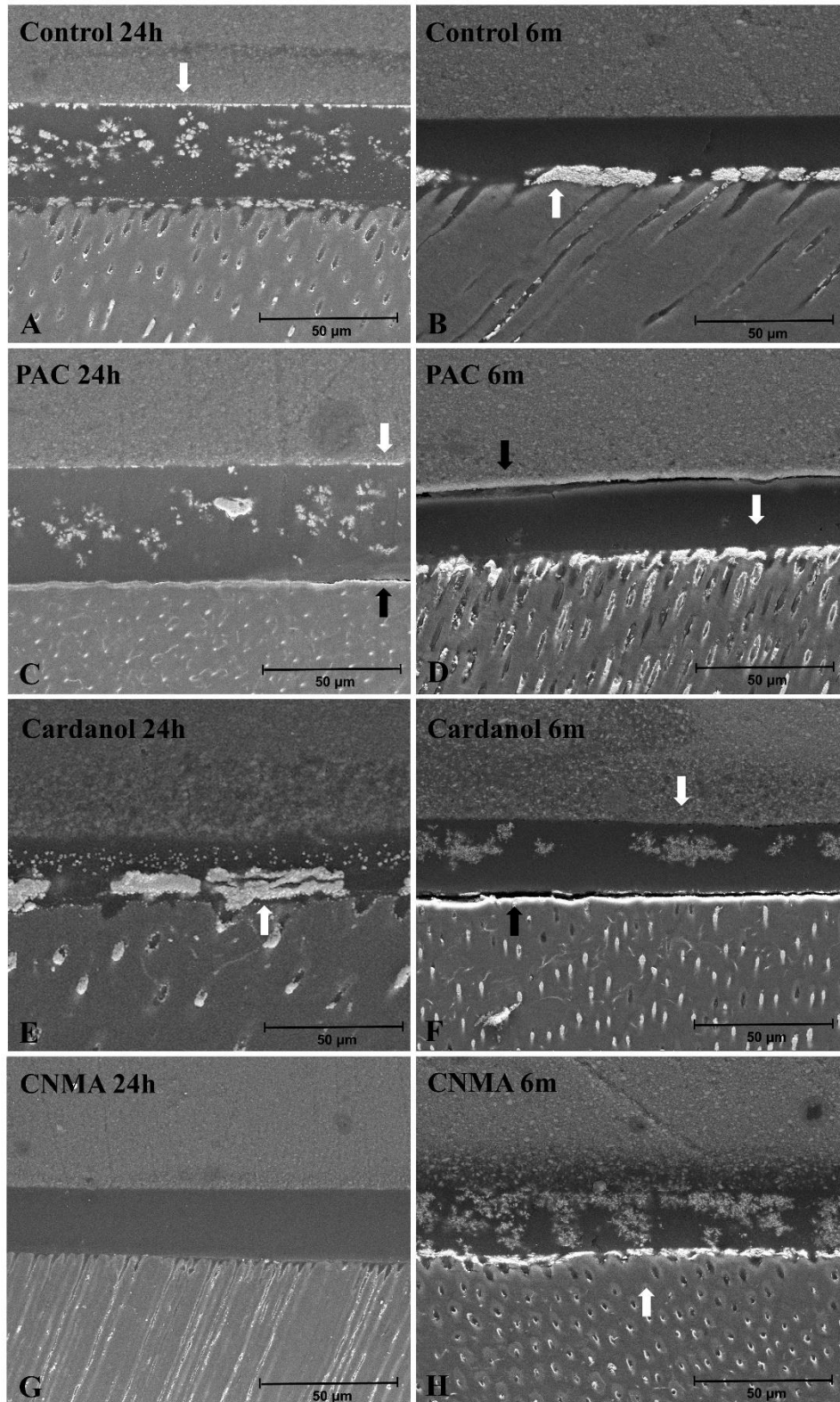


Figure 8 - Backscattered scanning electron microscopy micrographs (2000x magnification) depicting the most common features of silver uptake of the adhesive interface. The images on the left (A, C, E and G) represent immediate nanoleakage (24h), while the ones on the right (B,

D, F and H) indicate 6-month aging nanoleakage of the adhesive-dentin interface according to the following groups: A and B - Control (Ybond[®] adhesive); C and D – PAC (Ybond[®] + 2% proanthocyanidin); E and F – Cardanol (Ybond[®] + 2% cardanol); G and H – (Ybond[®] + 2% cardanol methacrylate). White arrows indicate silver deposits within the resin-dentin interfaces and/or in the adhesive layer. Black arrows point to gaps between the adhesive layer and the dentin. Interfaces created using CNMA (Figure 8G) were almost devoid of silver deposits before aging, but showed a noteworthy increase in number and thickness water channels after aging (Figure 8H). Furthermore, PAC presented gaps before and after aging (Figure 8C and 8D).

3.3 Capítulo 3

Esta tese está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (ANEXO A). Assim sendo, esta tese é composta por um terceiro capítulo contendo um artigo científico que será submetido ao periódico *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials*, conforme descrito abaixo:

Evaluation of the physicochemical and mechanical properties of composite resins formulated with biobased trimethacrylate monomer as a Bis-GMA substitute

Moreira MM, Silva AL, Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Feitosa VP, Lomonaco D

Evaluation of the physicochemical and mechanical properties of composite resins formulated with biobased trimethacrylate monomer as a Bis-GMA substitute

Madiana Magalhães Moreira^{a,c}, Ana Larissa da Silva^c, Rita de Cassia Sousa Pereira^b, Lucas Renan Rocha da Silva^b, Victor Pinheiro Feitosa^c, Diego Lomonaco^{a,b,*}.

Moreira MM, Silva AL, Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Feitosa VP, Lomonaco D

^aPostgraduate Program, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil.

^bDepartment of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil.

^cPaulo Picanço School of Dentistry, Fortaleza, Brazil.

Corresponding author*: Diego Lomonaco

Address - Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil. Zip code: 60.440-900.

Phone - +55 (85) 3366-9019

E-mail - lomonaco@ufc.br

Keywords: Composite resins. Methacrylates. Cardanol. Organic synthesis. Physicochemical properties. Flexural strength. Dynamic mechanical property.

Evaluation of the physicochemical and mechanical properties of composite resins formulated with biobased trimethacrylate monomer as a Bis-GMA substitute

ABSTRACT

Objectives - The aim of this manuscript was to analyze the effect of incorporating cardanol trimethacrylate monomer (CTMA) derived from the cashew nut shell liquid, as a substitute for Bis-GMA, on the degree of conversion, water sorption and solubility, viscosity, thermal degradation and mechanical properties of experimental composite resins.

Methods – The intermediary cardanol epoxy (CNE) was synthesized through cardanol epoxidation, followed by synthesis of cardanol trimethacrylate (CTMA) through methacrylic anhydride solvent-free esterification. Experimental composite resins were formulated with an organic matrix composed of Bis-GMA/TEGDMA (50/50 wt %) (Control). CTMA were added gradually replacing Bis-GMA: 10 wt % (CTMA-10), 20 wt % (CTMA-20), 40 wt % (CTMA-40), and 50 wt % (CTMA-50). Composite resins were characterized with regard to degree of conversion by FT-IR, water sorption and solubility, viscosity, thermogravimetric analysis (TGA), dynamic mechanical analysis (DMA), flexural strength and elastic modulus. Data were analysed with ANOVA and Tukey's post-test ($\alpha=0.05$).

Results – CTMA composites achieved similar degree of conversion and reduced the viscosity, water sorption and solubility when compared to Bis-GMA-based control composite. Also, acceptable thermal stability and viscoelastic properties were obtained for safe use in the oral cavity. CTMA-based and control resins did not show statistically significant differences regarding flexural strength and modulus of elasticity.

Significance – In summary, incorporation of CTMA into resins resulted in similar chemical and mechanical properties when compared to Bis-GMA-based resin, besides improving the

physical properties of the resins. Within the limitation of this study, CTMA can be used in dental restorative material as a Bis-GMA substitute monomer.

Keywords: Composite resins. Methacrylates. Cardanol. Organic synthesis. Physicochemical properties. Flexural strength. Dynamic mechanical property.

1 INTRODUCTION

The structure and functional groups of the monomers employed in dental materials strongly influence polymer network formation and characteristics, such as mechanical properties, degree of conversion, glass transition temperature, crosslinking formation and viscosity [1]. Bisphenol A glycidyl methacrylate (Bis-GMA) is the most commonly monomer used in polymer matrix formulations due to its high molecular weight, low polymerization shrinkage and excellent mechanical properties [2]. However, its high viscosity (approximately 1200 Pa.s), attributed to intermolecular hydrogen bond formation, demands the addition of low molecular weight monomers, such as hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) [2,3]. TEGDMA is widely used in composite resins to reduce viscosity and increase the amount of incorporated filler; however, it reduces mechanical properties and increases polymerization shrinkage and water sorption [4].

Moreover, Bis-GMA is a derivative of bisphenol A (BPA), a synthetic compound which mimics the estrogen hormone, being considered an endocrine disruptor that, even at low doses, may contribute to the pathogenesis of several diseases [5]. Exposure to BPA in the oral cavity has been explored, as this compound can be released by degradation of derivatives used in the formulation of resin-based materials, such as Bis-GMA, when exposed to saliva and *Streptococcus mutans* [6]. Worryingly, the potential impact of this release on human health remains uncertain.

In this constant search for improvements in biocompatibility, Bis-GMA free compounds have been widely researched, such as dimethacrylate monomers from bio-based material creosol [7], isosorbide-based monomer [8], and dendrimers [9]; as well as new resin-based systems, such as thiol-enes [10] and vinylcyclopropanes [11]. In order to improve long-term performance of dental materials, multimethacrylates have been investigated. The

trimethacrylate synthesized by Pérez-Mondragón et al. (2020) showed comparable mechanical properties to the Bis-GMA composite, however it resulted in a lower polymerization rate and higher water sorption and solubility, due to the presence of three pendant hydroxyls [12]. A trimethacrylate derivative of bile acids showed comparable mechanical properties to Bis-GMA; nevertheless, it also caused an increase in water sorption and viscosity [13]. Park et al. (2012) concluded that a trimethacrylate monomer added to dentin adhesives reduced viscosity and increased crosslink density and double bond conversion [14].

Among the natural and renewable sources that has been employed for the synthesis of new monomers for dental applications, the cashew nut shell liquid (CNSL) stands out [15,16], a biomass rich in phenolic lipids that represents approximately 25% of the cashew nut weight [17]. Technical CNSL is a byproduct of the cashew nut manufacturing industry, composed primarily of cardanol (67.8 to 94.6%) [17], a monomer that exhibits structural characteristics favorable for use in dental materials, such as long carbon chain and several reaction sites (Figure 1), suitable for the incorporation of functional groups, such as methacrylates. The use of monomers with long spacer carbon chain is favorable since they provide high hydrophobicity, resulting in lower water sorption, reduced polymer degradation, and greater hydrolytic stability to the polymer [18]. Moreover, the aromatic ring of cardanol contributes to relative stiffness and polymeric strength, while the alkyl chain provides flexibility to the monomer, reducing its viscosity and the subsequent requirement of considerable incorporation of low molecular weight monomers. Supported by these promising structural characteristics of the molecule, cardanol methacrylate epoxidized monomer was synthesized and employed in a resin-based desensitizer, achieving the greatest reduction in dentin permeability and most homogeneous and occluded surface among desensitizers tested, even after acid challenge [15].

Therefore, cardanol highlights as a molecule with attractive structural features for the synthesis of new methacrylate monomers, bringing alternatives to improve the properties of

dental materials with wide range of dental applications. The synthesis of a trimethacrylate from cardanol, as the major component of the CNSL and with promising physicochemical and structural properties, could generate hydrophobic resin-based materials with high mechanical strength, polymer crosslinking and hydrolytic stability, also reducing the use of BPA-derived monomers.

The aim of this manuscript was to analyze the effect of incorporating cardanol trimethacrylate (CTMA) monomer derived from CNSL, as a substitute for Bis-GMA, on the physicochemical and mechanical properties of experimental resin composites. The hypotheses of the study are that the addition of CTMA in resin composites (1) does not jeopardize chemical properties (degree of conversion and thermal-degradation), (2) reduces the viscosity, water sorption and solubility, (3) promote mechanical properties similar to traditional systems based on Bis-GMA.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Reagents

Cardanol was kindly supplied by Satya Chemicals (Eluru, India). Formic acid (85%), hydrogen peroxide (35%), ethyl acetate, sodium bicarbonate, and anhydrous sodium sulfate were used as received from LabSynth (São Paulo, Brazil). BHT (3,5-Di-tert-4-butylhydroxytoluene), and methacrylic anhydride were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) and used as received. Silica gel (63-200 μm ; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) was employed in the chromatographic separations.

2.2 Synthesis of cardanol trimethacrylate (CTMA)

The organic synthesis of the methacrylic monomer was performed according to the synthetic route illustrated in Figure 1, initially involving an epoxidation reaction of the unsaturated carbon chain of cardanol, followed by replacement of the phenolic hydroxyl and ring-opening to incorporate methacrylic groups. The intermediate product cardanol epoxy (CNE) was obtained, as performed by Pereira et al. [19] with modifications, to be used in the synthesis of cardanol trimethacrylate (CTMA). The synthesis of CNE consisted of epoxidation of unsaturations of cardanol with performic acid formed *in situ* from the reaction between formic acid and hydrogen peroxide, catalyzed by Amberlite IR 120H, using the molar ratio of 1.0: 0.5: 3.0 (unsaturation: formic acid: hydrogen peroxide). In a round bottom flask (100 mL), 10 g of cardanol (56.8 mmol of unsaturation) was weighed followed by the addition of 1.26 mL of formic acid (28.4 mmol) and 2 g of Amberlite IR 120H (20 wt % of cardanol). The mixture was kept under magnetic stirring for 10 minutes. Then, using a burette, 16.3 mL of hydrogen peroxide (170.5 mmol) was added dropwise under constant stirring at room temperature. After that, the mixture was heated in a silicone bath at 65°C and continuously stirred for 4 hours to obtain CNE as a reddish-brown oil (90% yield).

Cardanol trimethacrylate (CTMA) monomer was obtained by a simultaneously ring-opening and hydroxyl substitution esterification reaction of CNE with methacrylic anhydride in a molar ratio of 1:1, and 2.5 wt % of triphenylphosphine. Also, 0.01 wt % BHT was added to avoid spontaneous polymerization. CTMA synthesis was carried out under microwave irradiation (Milestone microwave reactor; StartSYNTH, Shelton, USA) operating with 2.45 GHz frequency and 800 W maximum power. The procedure begins by weighing 4 g of CNE (12.6 mmol) in a round bottom flask (25 mL), followed by the addition of 2.0 mL of methacrylic anhydride (12.6 mmol) and 0.1 g of triphenylphosphine (0.381 mmol). The flask was attached to a 50 cm Vigreux condenser and placed in the microwave space, which was programmed to

increase: from room temperature to 80 °C in a period of 2 min and maintain this constant temperature for 20 min; from 80 °C to 120 °C in a period of 2 min and maintain for 10 min more, under constant magnetic stirring. CTMA was obtained as a light-yellow oil (87,4 % yield).

The progress of the reactions described previously were monitored by thin layer chromatography. At the end of each reaction, mixture was cooled down to room temperature and vacuum filtered to remove the heterogeneous catalyst. The filtrate was transferred to a separation funnel (250 mL), neutralized with saturated sodium bicarbonate solution and extracted with ethyl acetate. Organic phase was collected, dried with anhydrous sodium sulfate, concentrated under reduced pressure and purified through a silica chromatography column to obtain the respective products. Products were kept in a fridge (4 °C) and protected by aluminum foil to avoid spontaneous polymerization.

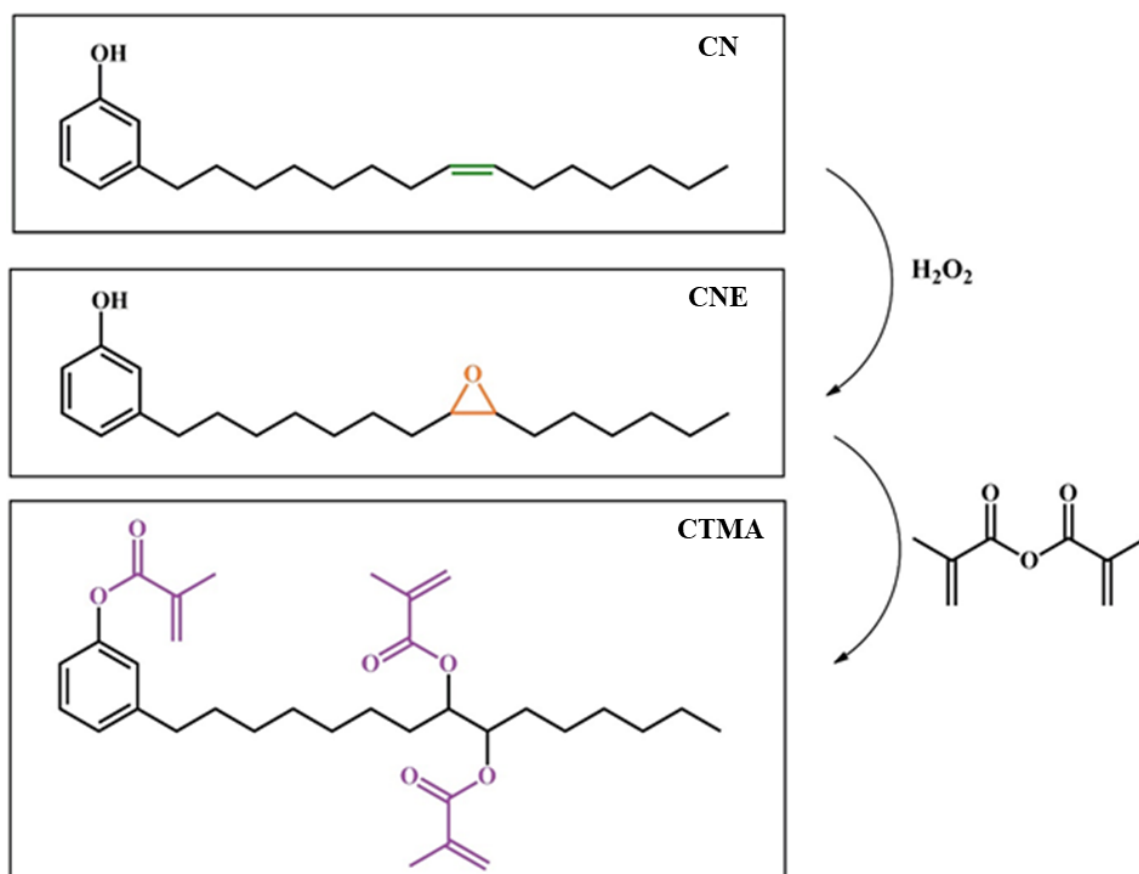


Figure 1 – Molecular structure of cardanol highlighting main reaction sites: aromatic ring, phenolic hydroxyl, and unsaturations in the aliphatic carbon chain. Synthetic route: unsaturated cardanol (CN) was epoxidized with hydrogen peroxide (H_2O_2), using formic acid as a catalyst, in order to incorporate an oxirane ring where the unsaturation was located and form cardanol epoxy (CNE). CNE was esterified with methacrylic anhydride in order to incorporate methacrylate pendants: where the oxirane ring of CNE was located and also to substitute the phenolic hydroxyl, achieving the final monomer cardanol trimethacrylate (CTMA).

2.3 Monomer characterization

CNE and CTMA were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and 1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) techniques.

2.3.1 *Fourier transform infrared vibrational spectroscopy (FT-IR)*

FT-IR spectra were obtained in a Spectrum Frontier (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, USA) equipped with zinc selenide (ZnSe) crystal to perform attenuated total reflectance (ATR) analysis. Samples of the isolated monomers were individually dispensed onto the crystal. The wavelength range of analyzes was $4000-550\text{ cm}^{-1}$ with a resolution of 4 cm^{-1} and 32 scans

2.3.2 *Nuclear magnetic resonance (NMR)*

The 1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a nuclear spectrometer instrument (Avance DPX, Bruker, Rheinstetten, Germany) operating at 75 MHz for ^{13}C and 300 MHz for 1H . Deuterated chloroform was used to solubilize samples at room temperature.

2.4 Experimental resin composite formulation

Experimental resin was formulated with an organic matrix composed of 50 wt % bisphenol A glycidyl methacrylate (Bis-GMA) and 50 wt % triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) (Control). CTMA were gradually added, replacing Bis-GMA: 10 wt % (CTMA-10), 20 wt % (CTMA-20), 40 wt % (CTMA-40), and 50 wt % (CTMA-50) as shown on Table 1. Camphoroquinone (0.5 wt %) and ethyl 4-dimethylaminebenzoate (EDAB, 1 wt %) were used, respectively, as photoinitiator and co-initiator with respect to the total amount of monomers. The organic matrices of the resins were loaded with 65 wt% of silanated barium borosilicate glass (average particle size of 0,7 μm ; Esstech Inc., Essington, USA) and were mechanically manipulated in an amalgamator (Ultramat S, SDI, Victoria, Australia).

Table 1 - Organic matrix composition of the experimental resins			
Groups	Monomeric composition (wt %)		
	Bis-GMA	TEGDMA	CTMA
Control	50	50	0
CTMA-10	40	50	10
CTMA-20	30	50	20
CTMA-40	10	50	40
CTMA-50	0	50	50

Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. Bis-GMA: bisphenol A glycidyl methacrylate. TEGDMA: triethyleneglycol dimethacrylate.

2.5 Degree of conversion

The polymerization of composite resins was evaluated using FT-IR with similar set-up described in characterization section. The unpolymerized composite resins (1mm height) were

placed directly on the diamond ATR crystal and spectra were obtained. Disc-shaped specimens (n=3) were prepared by filling a stainless-steel mold of 6 mm in diameter and 1 mm thickness (Odeme Dental Research, Luzerna, Brazil) with unpolymerized composite resins, which were covered by a polyester strip and light-cured for 40 seconds on each side with LED curing unit with 1200mW/cm² irradiance (Valo, Ultradent, South Jordan, USA). Polymerized specimens were evaluated 24 hours after dry storage. The conversion of the methacrylic double bond was monitored by calculating the ratio between the bands 1637 cm⁻¹ (aliphatic C=C double bond) / 1608 cm⁻¹ (aromatic C=C double bond as internal reference) from cured and uncured composite resins. The analysis was performed in triplicate [20].

2.6 Water sorption and solubility evaluation

Disk-shaped specimens (n=10) were prepared for water sorption and solubility tests according to ISO 4049-2009, except for the size of specimens (6 mm diameter instead of 15 mm), by using a stainless-steel mold of 6 mm in diameter and 1 mm thickness (Odeme Dental Research). This matrix was filled with unpolymerized composite resins, which were covered by a polyester strip, light-cured for 40 seconds on each side with LED (Valo) and stored in a desiccator with silica gel at 37°C. To obtain m₁, disks were weighed at each 24 hours in precision balance (Marte Científica AUW220D, São Paulo, Brazil) until a constant dry mass was obtained (variation less than 0.2 mg in three weight measures). Next, composite resin disks were stored in eppendorfs with 1.5 mL of distilled water at 37°C. After 7 days of immersion, the specimens were washed, gently wiped with absorbent paper and weighed in the precision balance to measure m₂. Subsequently, the disks were dried in the desiccator and weighed daily until a final constant mass was obtained (m₃). The weighing was performed by a single investigator in order to standardize the procedure. The volume (V) of the specimens (mm³) was calculated by

measuring the thickness and diameter with a digital caliper (± 0.01 mm). Water sorption (WS) and solubility (SL) were calculated ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) according to the formulas below [21].

$$\text{WS} = \frac{m_2 - m_3}{V} \quad \text{SL} = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

2.7 Viscosity measurements

The organic matrix of the experimental resins had their viscosities measurements carried out on a rotational rheometer equipped with a 50 mm diameter cone-plate geometry (RST-CPS, Brookfield, Lorch, Germany). For each measurement 1 mL of resin formulation was applied on the lower plate of the rheometer for 5 s before the upper plate was moved downward to adjust the gap to a thickness of 0.045 mm. Each measurement was repeated three times, with a recovery period between each run, and the following parameters were kept constant: shear rate from 1 to 1000 s^{-1} at 20 °C for 120 s [22].

2.8 Thermogravimetric Analysis (TGA)

The thermal behavior of composite resins was determined as a function of the increasing temperature using a TGA/SDTA851e thermogravimetric analyzer (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland), in a temperature range from 30 to 800 °C at a heating rate of 10 °C/min, under nitrogen atmosphere. Samples ($n=3$; 10 mg of each organic matrix of the resins) were light-cured for 40 seconds with LED curing unit (Valo). The thermal stability and degradation characteristics of the composite resins were predicted according to the temperatures at which decomposition (weight changes) of the polymers occurs [19].

2.9 Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

The viscoelastic properties of the resins organic matrix were characterized using a DMA 1 equipment (Mettler Toledo, New Castle, USA) with the following parameters: single-cantilever clamp at a frequency of 1 Hz, amplitude of 10 μm , in a temperature range from 30 to 200 $^{\circ}\text{C}$ and at a heating rate of 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. The composite resins were dispensed in a stainless-steel mold (25 mm length, 2 mm width and, 2 mm thickness; Odeme Dental Research) and light-cured (four times of 20 s on each side) using the overlapping method with LED curing unit (Valo). After 24 hours, the polymerized samples were subjected to dynamic-mechanical analysis. Three specimens of each composite resin were measured (storage modulus and $\tan \delta$) and the results were averaged [23].

2.10 Flexural strength

The flexural strength was evaluated according to ISO 4049-2009, except for the dimensions of the specimens. Bar-shaped specimens ($n=6$) were obtained by filling a stainless-steel mold (10 mm length, 2 mm width and, 2 mm thickness; Odeme Dental Research) with the experimental composites, which were covered by a polyester strip and light-cured (two times of 20 s on each side) using the overlapping method with LED curing unit (Valo). After 24 h, polymerized specimens were subjected to the three-point bending test performed with a universal testing machine (EMIC 23-2S; Instron, São José dos Pinhais, Brazil) at a crosshead speed of 1.00 mm/min until fracture. The flexural strength (σ) and elastic modulus (E) were calculated using the following formulas:

$$\sigma = \frac{3Fl}{2bh^2} \quad E = \frac{Fl^3}{4bh^3d}$$

Where:

F = maximum load (N) exerted on the specimen at the point fracture; l = distance between the supports (7 mm); b = width (mm) of the specimen measured immediately prior to testing; h = height (mm) of the specimen measured immediately prior to testing; F_1 = load (N) recorded when the deformation stops being directly proportional to the force registered in the graph; d = deflection of the specimen corresponding to the load F_1 [4].

2.8 Statistical analysis

The statistical analysis was performed using SigmaStat software (version 3.5). The data were analyzed to verify the normal distribution and the homogeneity of the variance. The results were analyzed statistically using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey post-hoc test ($\alpha = 0.05$). Normality test failed for water sorption data, which were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn's method ($\alpha = 0.05$).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Monomer synthesis and characterization

The trimethacrylate monomer was successfully synthesized by a two-step reaction: cardanol reacted with hydrogen peroxide to afford CNE, which was converted to CTMA by the reaction with methacrylic anhydride (Figure 1). The monomer characterization by FT-IR (Figures 2), ^1H and ^{13}C NMR (Figure 3) confirmed the presence of the methacrylate groups in CTMA. The characteristic bands/peaks are listed as follows:

CNE: FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3374; 2925; 2854; 1588; 1455; 1352; 1272; 1229; 1154; 1072; 998; 943; 872; 826; 779; 749; 724; 694; 637; 596; 562. NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3 ,

ppm): δ 7.13 (t); 6.72 (d); 6.68 (d); 5.89 (m); 5.16 (m); 3.17 (m); 2.95 (m); 2.55 (t); 1.79 (m); 1.59 (m); 1.30 (m); 0.90 (m). NMR ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 155.98; 144.97; 129.45; 120.83; 117.57; 115.55; 112.76; 57.66; 35.86; 31.16; 29.80; 27.90; 26.94; 26.66; 22.66; 14.08.

CTMA: FTIR (ATR, cm^{-1}): 2926; 2855; 1736; 1637; 1587; 1451; 1378; 1294; 1233; 1148; 1121; 1002; 941; 807; 780; 723; 693; 647. NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 7.20; 7.04 (d); 6.94 (d); 6.34 (d); 5.74 (d); 5.16 (m); 2.61 (t); 2.07 (s); 1.97 (t); 1.63 (m); 1.54 (m); 1.31 (m); 0.90 (m). NMR ^{13}C (300 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 166.01; 151.09; 144.44; 136.16; 132.36; 128.84; 126.88; 125.66; 121.30; 118.70; 115.55; 112.35; 72.65; 57.14; 35.60. 30.98; 29.54; 27.72; 25.44; 22.42; 18.20; 13.88.

In the FT-IR spectrum of CNE (Figure 2: orange middle spectrum), the stretch of the oxirane ring was observed at 826 cm^{-1} (epoxy group), while this absorption peak disappeared in CTMA spectrum (Figure 2: purple bottom spectrum). The cardanol epoxidation was detected by ^1H and ^{13}C NMR spectra: the signal at the range of δ 2.75 – 3.17 (Fig. 3a - dotted rectangle 2) is attributed to the oxirane ring of CNE, also confirmed by the signal at 57.66 ppm in ^{13}C NMR (Fig. 3b – dotted rectangle 2), which has disappeared in CTMA spectra. In the FT-IR spectrum of CTMA (Figure 2: purple bottom spectrum), the absorption band was detected at 1736 cm^{-1} , referring to the bond $\text{C}=\text{O}$ (carbonyl from methacrylate). The CNE esterification was confirmed by ^1H and ^{13}C NMR spectra: the signal at the range of 166 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 5) is characteristic of the carbonyl ($\text{C}=\text{O}$), in addition to the singlet at δ 2.07 ppm related to the methyl protons of methacrylate groups of CTMA (Fig. 3a – dotted rectangle 3).

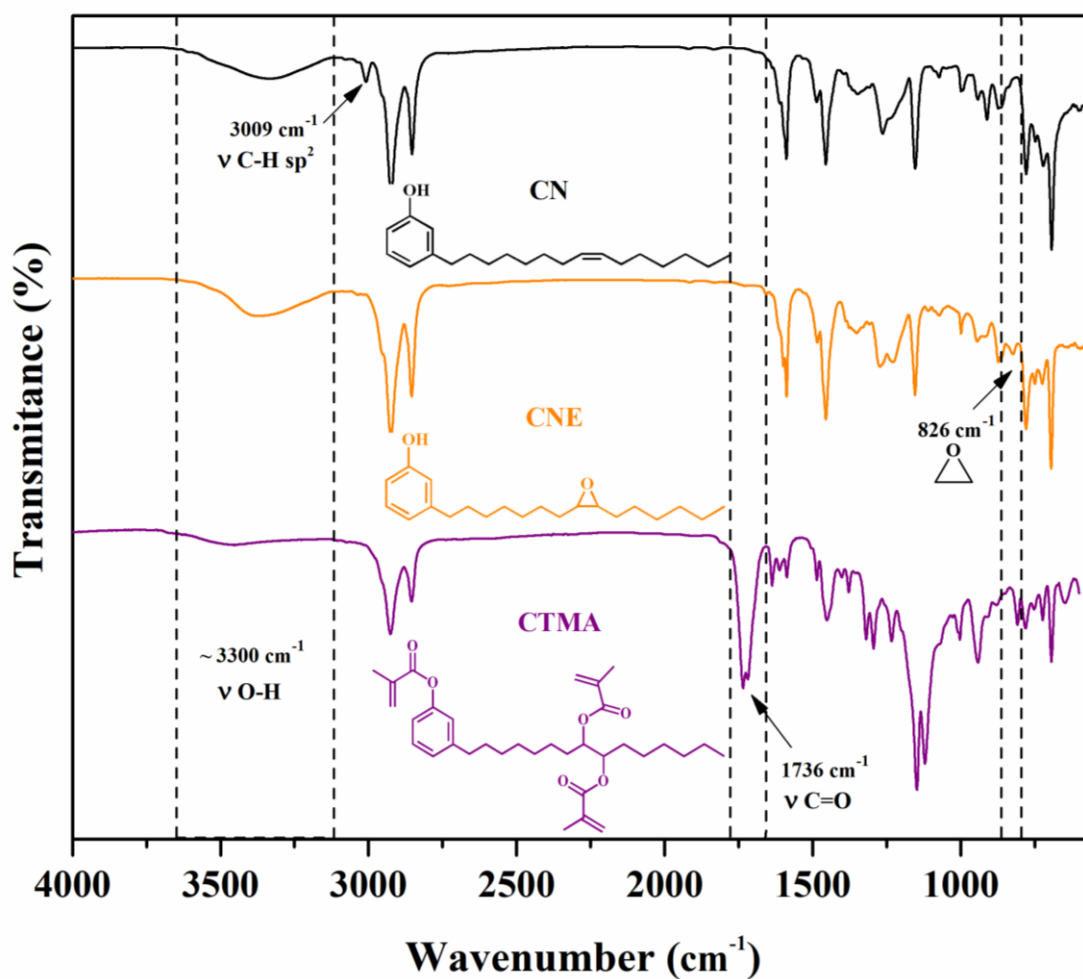


Figure 2 – FTIR spectra obtained from the monomers unsaturated cardanol (CN - top spectrum), cardanol epoxy (CNE – middle spectrum) and cardanol trimethacrylate (CTMA – bottom spectrum). The stretch of the C-H sp^2 (aliphatic) bond at 3009 cm^{-1} , is only observed in CN. The stretch of the C-O-C (oxirane ring) bond at 826 cm^{-1} is presented in CNE, demonstrating the successful epoxidation. After the ring-opening, the stretch of the C-O-C (oxirane ring) bond at 826 cm^{-1} has disappeared in CTMA. The absorption band at 3300 cm^{-1} , characteristic of vibrational stretch of the O-H bond of the phenol disappeared in CTMA. The absorption band at 1736 cm^{-1} referring to the bond C=O (carbonyl from methacrylate) occurred only in CTMA.

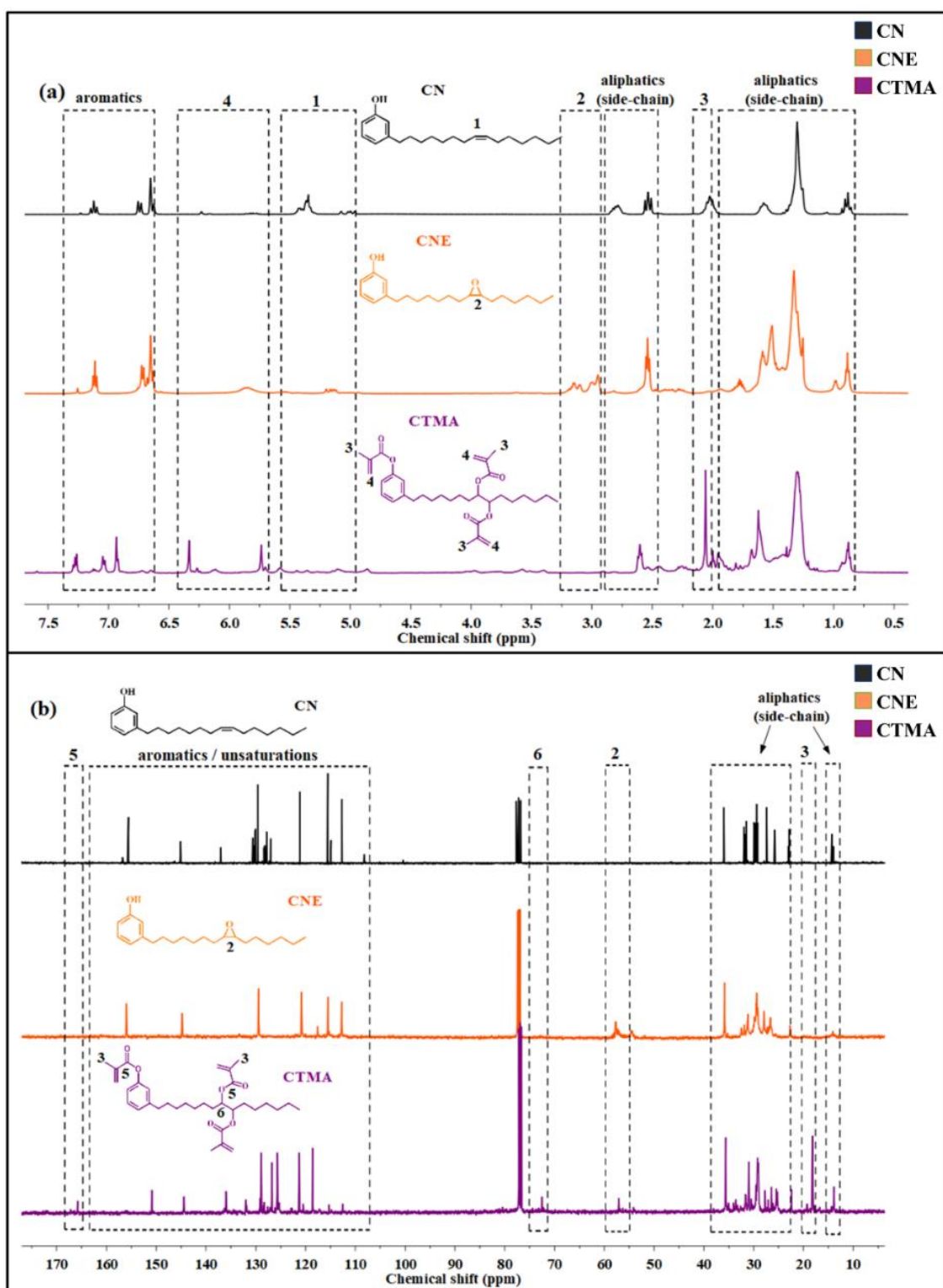


Figure 3 – ^1H NMR (a) and ^{13}C NMR (b) spectra of the monomers cardanol unsaturated (CN - black spectrum), cardanol epoxy (CNE - orange spectrum) and cardanol trimethacrylate (CTMA - purple spectrum). CN showed a signal at the range of δ 5.37 – 5.43 ppm (Fig. 3a -

dotted rectangle 1) relative to the olefinic hydrogens of the lateral chain, that was absent in CNE and CTMA. The signal at the range of δ 2.75 – 3.17 (Fig. 3a - dotted rectangle 2) is attributed to the oxirane ring of CNE, also confirmed by the signal at 57.66 ppm in ^{13}C NMR (Fig. 3b – dotted rectangle 2), which has disappeared in CTMA spectra. Between δ 5.74 – 6.34 ppm the signals referring to the vinylic hydrogens (Fig. 3a - dotted rectangle 4) in addition to the singlet at δ 2.07 ppm related to the methyl protons of the methacrylate group of CTMA (Fig. 3a – dotted rectangle 3). The ^{13}C NMR confirmed the presence of the methacrylate group in CTMA showing the signal at the range of 166 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 5), characteristic of the carbonyl (C=O). The terminal methyl group is observed at δ 18.20 ppm (Fig. 3b – dotted rectangle 3).

3.2 Degree of conversion

The degree of conversion results (means and standard deviations) are depicted in Figure 4. All materials achieved a similar degree of conversion ($p=0.052$); therefore, the incorporation of CTMA into the composite resins did not interfere in polymerization.

An effective polymerization plays a very important role on the physicochemical and mechanical properties of resin-based dental materials. Double bond conversion of multi-methacrylate polymers is rarely complete because of the flexibility of monomers during propagation, and due to the limited mobility of partially cured macromolecules as the reaction progresses [14]. The long flexible carbon chain of CTMA probably induced a delayed gelation, increasing the mobility of the active species after the formation of microgels during polymerization and achieving a similar degree of conversion as the traditional Bis-GMA/TEGDMA control resin.

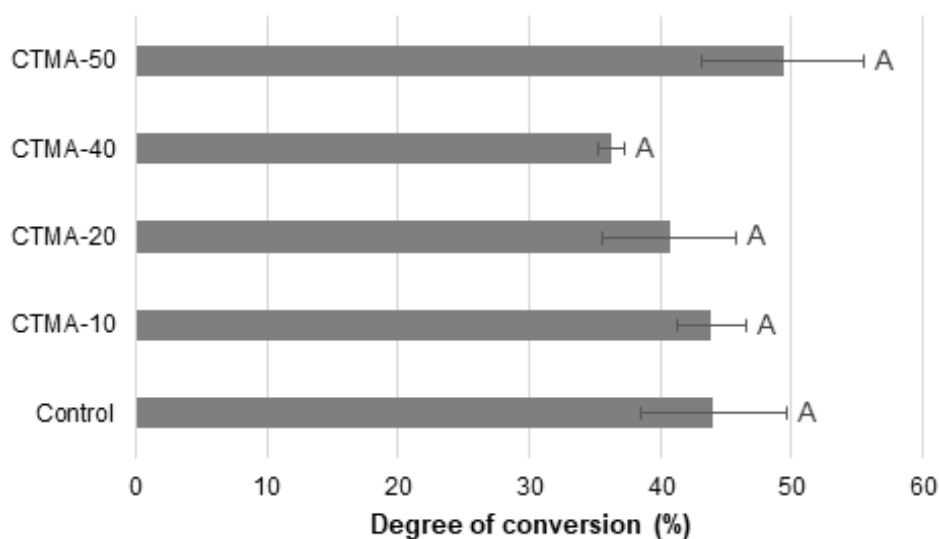


Figure 4 - Means and standard deviations obtained from the degree of conversion (%) analysis. Identical capital letters represent statistically similar degree of conversion ($p > 0.05$). Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA.

3.3 Water sorption and solubility

The outcomes of water sorption and solubility of the experimental resin composites are summarized in Figure 5. The incorporation of CTMA monomer into composites reduced the water sorption and solubility when compared to Bis-GMA-based resin ($p < 0.05$). The hydrophobicity of CTMA, based on its long aliphatic carbon chain [18], free of polar hydroxyls, contributed to the low values of water sorption obtained by CTMA composites. Indeed, this contributed to smaller amounts of leachable monomers from CTMA composites, and overall soluble products. In the case of BisGMA-rich composites, the released products might contaminate the body with BPA in contrary to CTMA.

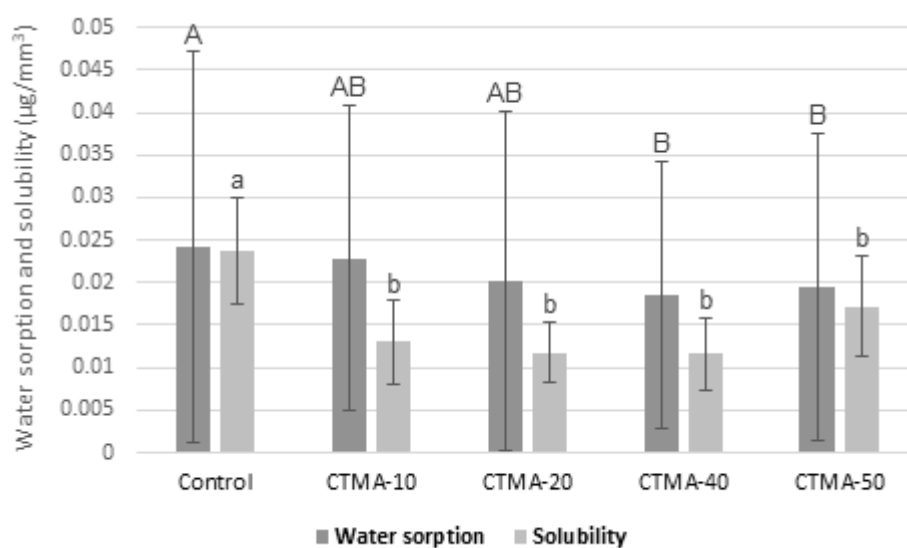


Figure 5 - Graph showing the outcomes of water sorption (median and interquartile range) and solubility (mean and standard deviation) tests of the composite resins ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$). Different capital letters present statistically significant difference among the water sorption of the groups ($p < 0.05$). Different lower case letters show significant difference between solubility of the composites ($p < 0.05$). Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA.

3.4 Viscosity

The viscosity of the filler-free resins was linear with increasing shear rate, suggesting Newtonian behavior for all resins. Table 2 presents the viscosity outcomes, measured at 500 s^{-1} shear rate. CTMA incorporation gradually reduced the viscosity of the experimental resins ($p < 0.05$).

A relatively low viscosity is desired for monomers employed in resin-based dental materials, in order to facilitate handling and incorporation of filler particles. The Bis-GMA content reduces side-chain mobility, as it increases the formation of strong hydrogen bonds

through its hydroxyls [24]. The observed decrease in viscosity was attributed to the substitution of the viscous Bis-GMA by CTMA, since the latter has a high molecular weight but a long flexible carbon chain free of hydroxyl groups, thereby not forming hydrogen bonds which increase viscosity. CTMA-50 eliminated all content of Bis-GMA and the consequent formation of hydrogen bonds, substantially reducing the viscosity of the resins.

Table 2 – Viscosities of the organic matrix of resins		
Groups	Mean viscosity (SD) (cP)	p-value (<0.001)
Control	251.83 (0.50)	A
CTMA-10	184.62 (0.55)	B
CTMA-20	155.24 (1.35)	C
CTMA-40	133.67 (0.48)	D
CTMA-50	123.99 (0.29)	E

Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA. SD: Standard deviation. cP: centipoise = 0.01 P.

3.5 TGA

The TGA thermograms are plotted in Figure 6 and the degradation characteristic temperatures were summarized in Table 3: the initial (5% weight loss) decomposition temperature ($T_{d5\%}$), and the temperature with maximum decomposition rate (T_{max}). All samples were in general stable up to 200 °C, revealing similar and acceptable thermal stability of resins for safe use in the oral cavity.

According to the data in Table 3, the addition of a maximum of 20% CTMA (CTMA-10 and CTMA-20) to resins slightly increased the initial thermal degradation temperature, and therefore improved the thermal degradation stability of the resins when compared to control. Contrariwise, the addition of higher concentrations of CTMA (CTMA-40 and CTMA-50) led to a decrease of the initial thermal degradation temperature. This demonstrated that the CTMA

incorporation up to 20% can help improve thermal stability of resins, which could be attributed to the bulky aromatic structure and long side alkyl chains of CTMA which prevented the packing of the polymer chains leading to an increase in the voids in the system.

The survey of Jaillet et al. (2014) investigated the thermal degradation of novel vinylester prepolymers from cardanol in comparison to diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA), which showed similar thermal stability [25]. A maximum decomposition rate around 430°C for cardanol-based resins was found, quite similar to the values obtained for CTMA-based resins (Table 3; $T_{\text{máx}}$: 422 to 427°C).

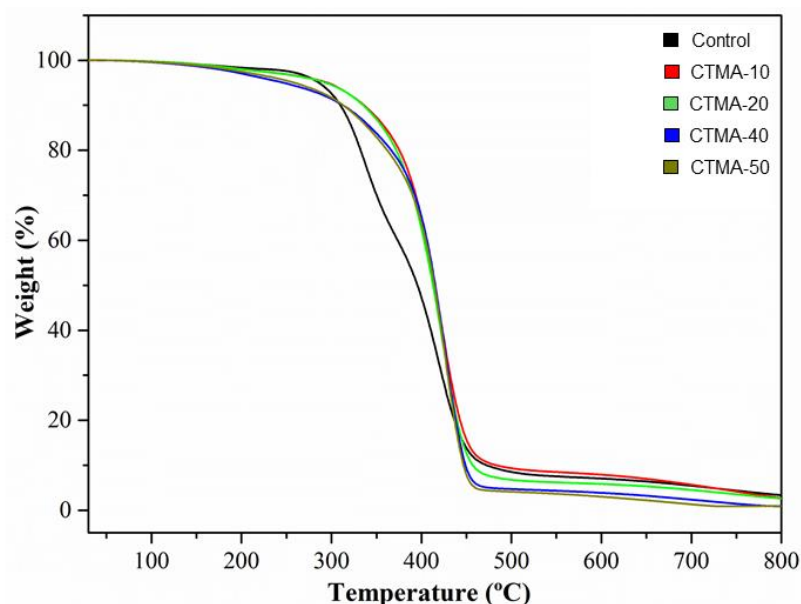


Figure 6 - Thermogravimetric Analysis (TGA): comparison of the mass loss of resins as a function of the temperature increase. Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA.

Table 3 – TGA results		
Resins	T _{máx}	T _{d5%}
Control	418 °C	286 °C
CTMA-10	422 °C	295 °C
CTMA-20	423 °C	294 °C
CTMA-40	427 °C	247 °C
CTMA-50	427 °C	259 °C

T_{máx}: maximum decomposition; T_{d5%}: 5% decomposition.

Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA. MPa: megapascal.

3.6 Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

The results of DMA for the resins are summarized in Figure 7 and Table 4. Dynamic mechanical analysis provides information about the properties of polymer networks, such as storage modulus and glass transition temperature (T_g), by evaluating the structure and stiffness of the materials [23].

The storage modulus for all experimental resins decreased with increasing temperature (Fig. 7a). The storage modulus at the rubbery region (180 °C) decreased slightly with increasing CTMA content, while at 37 °C the CTMA-20 resin exhibited the highest storage modulus (840.42 MPa) among the CTMA-based resins (Fig. 7a and Table 4). Control resin obtained the highest value of storage modulus at the rubbery zone (180 °C), indicating greater entanglement of polymer networks. Crosslinking density is an important variable in the viscoelastic behavior of the polymers, and, typically, resin-based materials with multimethacrylates are highly crosslinked polymer networks, once a higher number of functionalities is beneficial for the storage modulus in the rubbery zone [14]. However, our results showed that the trimethacrylate reduced the storage modulus, and, therefore, the crosslinking density of the resin.

The addition of CTMA revealed a plasticizing effect on Bis-GMA preventing close packing between the polymer backbones, as seen in the lowering of T_g (determined as the maximum of the $\tan \delta$ versus temperature) in comparison to the Bis-GMA control (Figure 7b and Table 4). However, the T_g obtained by CTMA resins are still above body temperature and food/beverage consumed (>115 °C); therefore, their physical and mechanical properties are preserved, ensuring optimal intraoral performance of these materials.

The height of the maximum $\tan \delta$ peak reflects the extent of mobility of the polymer chain segments as a function of temperature. When CTMA was used as a comonomer, all resins showed higher $\tan \delta$ peaks than the control. This result reveals a high mobility of the CTMA polymer networks (especially for CTMA-40 and CTMA-50) due to the flexible long carbon chain, causing an increase in the viscous behavior (less energy is stored in the material) at the expense of the elastic component. Also, regarding the width of $\tan \delta$ peaks, the samples revealed similar wide peaks, which means that the glass transition occurs over a wide temperature range. This wide glass transition is apparently related to the chain-growth polymerization in heterogeneous networks and usually occurs with increasing crosslink density of the polymer network [23].

Resins	Storage Modulus at 37 °C (MPa)	Storage Modulus at 180 °C (MPa)	T_g (°C)^a
Control	981.84	31.34	141
CTMA-10	738.46	25.89	128.7
CTMA-20	840.42	25.10	125
CTMA-40	700.06	20.39	119.2
CTMA-50	786.09	18.36	115.1

Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA. MPa: megapascal.

^a Glass transitions temperature (T_g) were determined as the maximum of the $\tan \delta$ versus temperature.

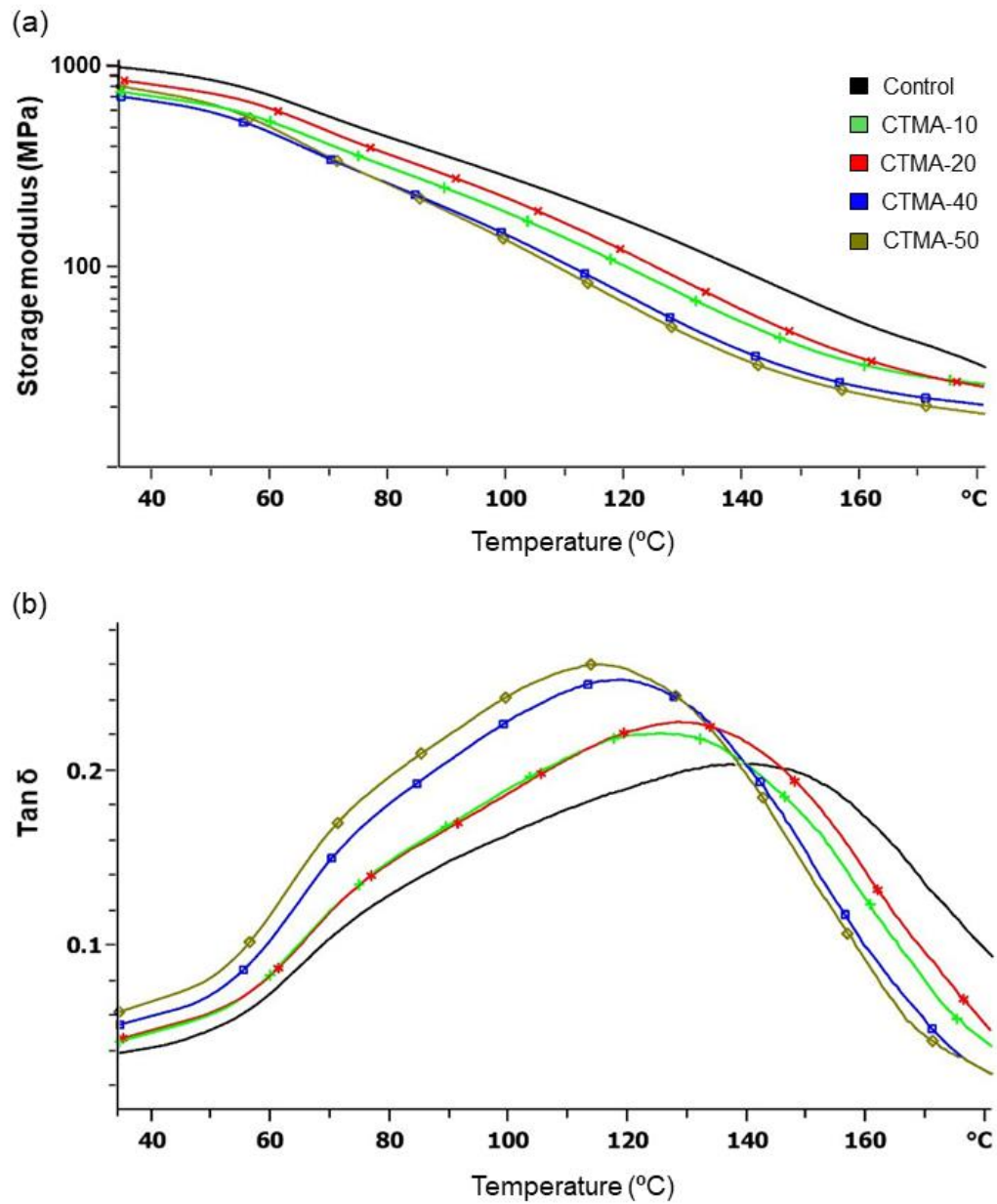


Figure 7 - Dynamic-mechanical analysis (DMA): comparison of the storage modulus (a) and $\tan \delta$ (b) versus temperature curves for experimental resins. Glass transitions temperature (T_g) of the materials were determined as the maximum of the $\tan \delta$ versus temperature (B). Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA.

3.7 Flexural strength

The outcomes of the flexural strength (FS) and elastic modulus (E) are depicted in Figure 8. All composite resins formulated with CTMA showed FS and E similar to the control resin ($p > 0.05$). The CTMA-20 material achieved the E highest values, which was statistically significant different from CTMA-40 composite ($p = 0.028$).

FS is one of the few properties correlated with the clinical performance of resin-based restorations, as this *in vitro* test is related to the clinical wear of restorations and plays an important role in the acceptance of restorative materials [26]. Statistical analysis demonstrated the absence of significant differences between the CTMA-based resins mechanical properties when compared to control. The main reason that could explain this behavior is the CTMA chemical structure, which has one aromatic ring that confer high mechanical resistance to the material similar to the rigid backbone structure of the Bis-GMA monomer. The achievement of similar degree of conversion values by the composites may also explain the results obtained for flexural strength and elastic modulus, since physical and mechanical properties of resin-based composites are influenced by the degree of conversion achieved during the polymerization process [27].

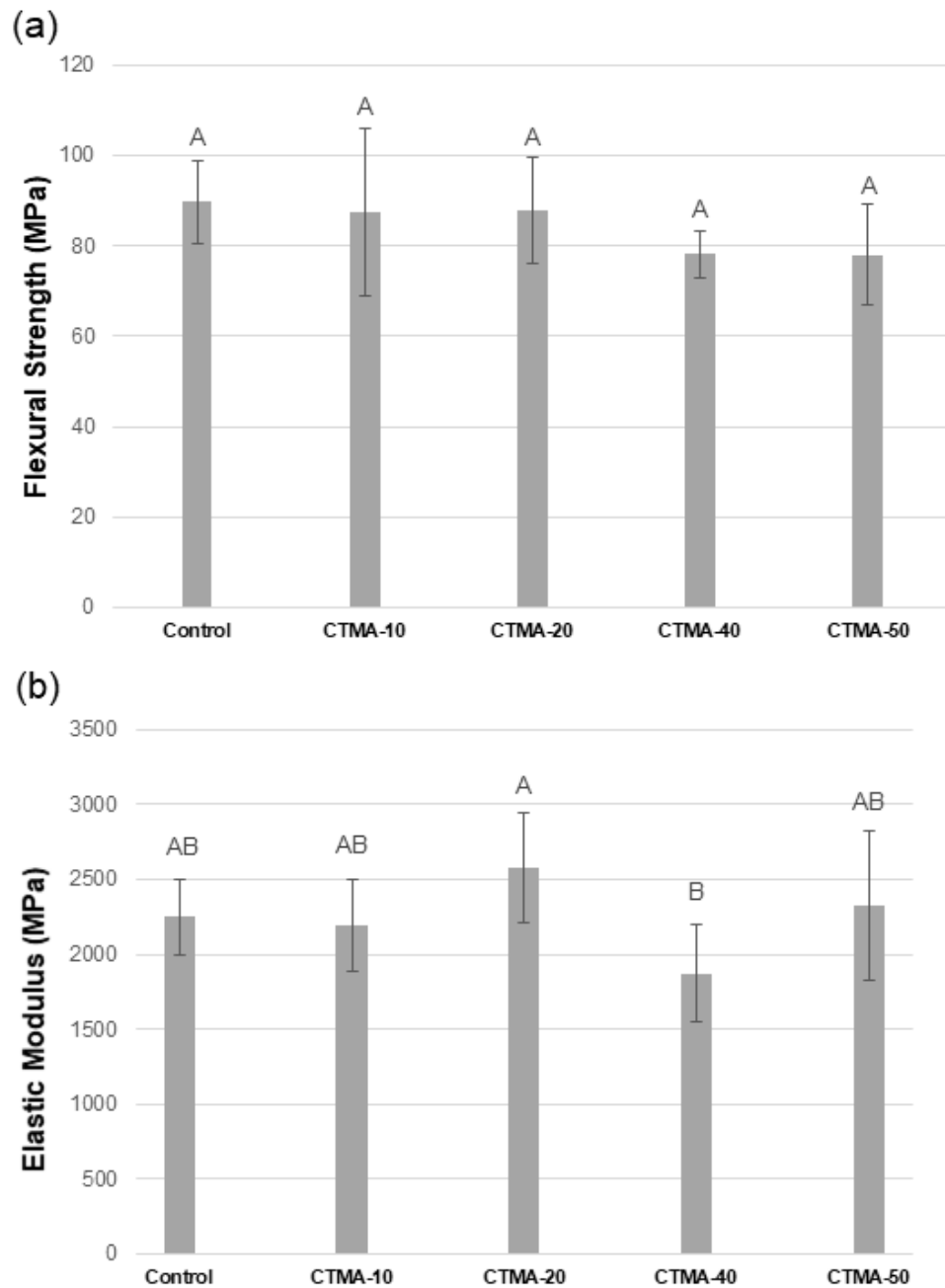


Figure 8 - Graph showing the flexural strength (a) and elastic modulus (b) results (MPa). Different capital letters present statistically significant difference between the composite resins ($p < 0.05$). Control: Bis-GMA/TEGDMA (50:50 wt %). CTMA: cardanol trimethacrylate. The symbols -10, -20, -40, and -50 mean wt% CTMA incorporated into the resins as a substitute for Bis-GMA.

The present results revealed that the first and second hypothesis must be accepted, once the physicochemical properties tested were not negatively affected by the addition of CTMA and there was a reduction in the viscosity, water sorption and solubility in comparison with BisGMA-based resin by the addition of the novel trimethacrylate monomer. Also, CTMA groups attained mechanical properties similar to traditional systems based on Bis-GMA. Consequently, third hypothesis should be accepted. Therefore, it could be expected that the substitution of Bis-GMA for CTMA monomer could lead to composite resins with successful clinical performance and provide vital information for future development of durable, versatile and BPA-free resin-based materials.

4. CONCLUSION

In summary, this research is the first to exhibit the synthesis of a CNSL-derived trimethacrylate monomer and its possible application in resin-based dental materials. Incorporation of CTMA into resins reduced its viscosity, water sorption and solubility without interfering in flexural strength and polymerization when compared to Bis-GMA-based resin. Within the limitation of this study, CTMA is a feasible co-monomer for dental restorative materials, as a Bis-GMA substitute.

REFERENCES

- [1] Stansbury JW. Dimethacrylate network formation and polymer property evolution as determined by the selection of monomers and curing conditions. *Dent Mater* 2012; 28(1):13-22. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.09.005>.
- [2] Szczesio-Wlodarczyk A, Polikowski A, Krasowski M, Fronczek M, Sokolowski J, Bociong K. The Influence of Low-Molecular-Weight Monomers (TEGDMA, HDDMA, HEMA) on the Properties of Selected Matrices and Composites Based on Bis-GMA and UDMA. *Materials (Basel)* 2022; 15(7):2649. <https://doi.org/10.3390/ma15072649>.
- [3] Gajewski VES, Pfeifer CS, Fróes-Salgado NRG, Boaro LCC, Braga RR. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz Dent J* 2012; 23(5):508–14. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402012000500007>.
- [4] González-López JA, Pérez-Mondragón AA, Cuevas-Suárez CE, Trejo-Carbajal N, Herrera-González AM. Evaluation of dental composites resins formulated with non-toxic monomers derived from catechol. *J Mech Behav Biomed Mater* 2020; 104:103613. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103613>.
- [5] Cimmino I, Fiory F, Perruolo G, Miele C, Beguinot F, Formisano P, et al. Potential mechanisms of bisphenol A (BPA) contributing to human disease. *Int J Mol Sci* 2020; 21(16):5761. <https://doi.org/10.3390/ijms21165761>.
- [6] De Nys S, Duca RC, Vervliet P, Covaci A, Boonen I, Elskens M, et al. Bisphenol A as degradation product of monomers used in resin-based dental materials. *Dent Mater* 2021; 37(6):1020-29. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.03.005>
- [7] Sun Y, Zhou Z, Jiang H, Duan Y, Li J, Liu X, et al. Preparation and evaluation of novel bio-based Bis-GMA-free dental composites with low estrogenic activity. *Dent Mater* 2022; 38(2):281-93. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.12.010>.
- [8] Jun SK, Cha JR, Knowles JC, Kim HW, Lee JH, Lee, HH. Development of Bis-GMA-free biopolymer to avoid estrogenicity. *Dent Mater* 2020; 36(1):157-66. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.11.016>.
- [9] Vasconcelos e Cruz J, Delgado AH, Félix S, Brito J, Gonçalves L, Polido M. Improving Properties of an Experimental Universal Adhesive by Adding a Multifunctional Dendrimer (G-IEMA): Bond Strength and Nanoleakage Evaluation. *Polymers (Basel)* 2022; 14(7):1462. <https://doi.org/10.3390/polym14071462>.

- [10] Childress KK, Alim MD, Hernandez JJ, Stansbury JW, Bowman CN. Additive manufacture of lightly crosslinked semicrystalline thiol–enes for enhanced mechanical performance. *Polym Chem* 2020; 11(1):39-46. <https://doi.org/10.1039/C9PY01452G>.
- [11] Catel Y, Fässler P, Fischer U, Gorsche C, Liska R, Schörpf S, et al. Synthesis and polymerization of vinylcyclopropanes bearing urethane groups for the development of low-shrinkage composites. *Eur Polym J* 2018; 98:439-47. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.11.042>.
- [12] Pérez-Mondragón AA, Cuevas-Suárez CE, González-López JA, Trejo-Carbajal N, Meléndez-Rodríguez M, Herrera-González AM. Preparation and evaluation of a BisGMA-free dental composite resin based on a novel trimethacrylate monomer. *Dent Mater* 2020; 36(4): 542-50. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.02.005>.
- [13] Gauthier MA, Zhang Z, Zhu XX. New dental composites containing multimethacrylate derivatives of bile acids: a comparative study with commercial monomers. *ACS Appl Mater Interfaces* 2009; 1(4):824-32. <https://doi.org/10.1021/am8002395>.
- [14] Park J, Ye Q, Singh V, Kieweg SL, Misra A, Spencer P. Synthesis and evaluation of novel dental monomer with branched aromatic carboxylic acid group. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2012; 100(2):569-76. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31987>.
- [15] Moreira MM, da Silva LRR, Mendes TAD, Santiago SL, Mazzetto SE, Lomonaco D, et al. Synthesis and characterization of a new methacrylate monomer derived from the cashew nut shell liquid (CNSL) and its effect on dentinal tubular occlusion. *Dent Mater* 2018; 34(8):1144-53. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.04.011>.
- [16] Lemos MVS, Araujo-Neto VG, Lomonaco D, Mazzetto SE, Feitosa VP, Santiago SL. Evaluation of Novel Plant-derived Monomers-based Pretreatment on Bonding to Sound and Caries-affected Dentin. *Oper Dent* 2021. <https://doi.org/10.2341/20-138-L>.
- [17] Lomonaco D, Mele G, Mazzetto S. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. In: Anilkumar P (eds). *Cashew Nut Shell Liquid: A Gold Field for Functional Materials*. 1st ed. Springer International Publishing; 2017, p. 19-38.
- [18] Feitosa VP, Sauro S, Ogliari FA, Ogliari AO, Yoshihara K, Zanchi CH, et al. Impact of hydrophilicity and length of spacer chains on the bonding of functional monomers. *Dent Mater* 2014; 30(12):e317-23. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.06.006>.
- [19] Pereira RCS, Rocha da Silva LR, Carvalho BA, Mattos AL, Mazzetto SE, Lomonaco D. Development of Bio-based Polyurethane Wood Adhesives from Agroindustrial Waste. *J. Polym. Environ.* 2021; 1-14. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02331-y>.

- [20] Andrade Neto DM, Carvalho EV, Rodrigues EA, Feitosa VP, Sauro S, Mele G, et al. Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants. *Dent Mater* 2016; 32(6):784–93. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.03.026>.
- [21] Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Watson TF, Sinhoreti MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentine interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water ageing. *J Dent* 2012; 40(12):1134-43. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2012.09.011>.
- [22] Da Silva LRR, Carvalho BA, Pereira RCS, Diogenes OBF, Pereira UC, Da Silva KT, et al. Bio-based one-component epoxy resin: Novel high-performance anticorrosive coating from agro-industrial byproduct. *Prog Org Coat* 2022; 167:106861. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.106861>.
- [23] Park JG, Ye Q, Topp EM, Lee CH, Kostoryz EL, Misra A, et al. Dynamic mechanical analysis and esterase degradation of dentin adhesives containing a branched methacrylate. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 91(1):61-70. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31374>.
- [24] Pereira LDE, Neto MPC, Pereira RG, Schneider LFJ. Influence of resin matrix on the rheology, translucency, and curing potential of experimental flowable composites for bulk-fill applications. *Dent Mater* 2021; 37(6):1046-53. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.03.003>.
- [25] Jaillet F, Nouailhas H, Auvergne R, Ratsimihety A, Boutevin B, Caillol S. Synthesis and characterization of novel vinyl ester prepolymers from cardanol. *Eur J Lipid Sci Technol* 2014; 116(7):928-39. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300487>.
- [26] Heintze SD, Ilie N, Hickel R, Reis A, Loguercio A, Rousson V. Laboratory mechanical parameters of composite resins and their relation to fractures and wear in clinical trials—A systematic review. *Dent Mater* 2017; 33(3):e101-14. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.11.013>.
- [27] Wu J, Zhao Z, Hamel CM, Mu X, Kuang X, Guo Z, et al. Evolution of material properties during free radical photopolymerization. *J Mech Phys Solids* 2018; 112:25-49. <https://doi.org/10.1016/j.jmps.2017.11.018>.

4 CONCLUSÃO GERAL

Diante dos resultados obtidos nesse capítulo dessa tese, pode-se concluir que:

1. Os monômeros metacrílicos derivados do LCC, cardanol metacrilato (CNMA) e cardanol trimetacrilato (CTMA), foram sintetizados com sucesso, em elevados rendimentos, sem o emprego de solventes e em tempo reduzido.
2. CNMA apresentou-se como um monômero capaz de inibir enzimas proteolíticas e reduzir a solubilidade de adesivo universal sem interferir na polimerização deste, todavia não promoveu uma menor degradação da interface adesiva em longo prazo.
3. Sugere-se que estudos venham a ser realizados a partir dos resultados obtidos no presente estudo *in vitro*, com foco em reduzir a degradação hidrolítica dos adesivos dentários simplificados.
4. A substituição do Bis-GMA pelo monômero trimetacrílico CTMA reduziu a viscosidade, sorção de água e solubilidade de resinas compostas sem interferir significativamente nas propriedades químicas e mecânicas. Diante das limitações do estudo, CTMA é um monômero viável para ser empregado como um substituto de origem renovável do Bis-GMA.

REFERÊNCIAS

- ASTHANA, G. *et al.* **Effect of chemical cross-linkers on surface topography and microtensile bond strength of sound dentin: An in vitro study.** J. Conserv. Dent., v. 24, n. 3, p. 288-92, may 2021.
- AYDIN, B. *et al.* **Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification.** Dent. Mater., v. 35, n. 2, p. 328-34, feb. 2019.
- CATEL, Y. *et al.* **Synthesis and polymerization of vinylcyclopropanes bearing urethane groups for the development of low shrinkage composites.** Eur. Polym. J., v. 98, p. 439-47, nov. 2018.
- CARDOSO, M. V. *et al.* **Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry.** Aust. Dent. J., v. 56, suppl. 1, p. 31-44, june 2011.
- CIMMINO, I. *et al.* **Potential mechanisms of bisphenol A (BPA) contributing to human disease.** Int. J. Mol. Sci., v. 21, n. 16, p. 5761, aug. 2020.
- CHILDRESS, K. K. *et al.* **Additive manufacture of lightly crosslinked semicrystalline thiol-enes for enhanced mechanical performance.** Polym. Chem., v. 11, n. 1, p. 39-46, jan. 2020.
- Da Silva, L. R. R. *et al.* **Bio-based one-component epoxy resin: Novel high-performance anticorrosive coating from agro-industrial byproduct.** Prog. Org. Coat., v. 167, p. 106861, apr. 2022.
- DE NYS, S. *et al.* **Bisphenol A as degradation product of monomers used in resin-based dental materials.** Dent. Mater., v. 37, n. 6, p. 1020-29, june 2021.
- DE OLIVEIRA SOUZA, N. *et al.* **Cashew nut shell liquids: Antimicrobial compounds in prevention and control of the oral biofilms.** Arch. Oral Biol., v. 133, p. 105299, jan. 2022.
- DE SOUZA, L. C. *et al.* **Two-year clinical evaluation of a proanthocyanidins-based primer in non-cariou cervical lesions: A double-blind randomized clinical trial.** J. Dent., v. 96, p. 103325, may 2020.
- EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids. (CEF). **Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: Executive summary.** EFSA J., v. 13, n. 1, p. 3978, 2015.
- EYÜBOĞLU, G. B.; YEŞİLYURT, C.; ERTÜRK, M. **Evaluation of cytotoxicity of dentin desensitizing products.** Oper. Dent., v. 40, n. 5, p. 503-514, sep. 2015.
- FEITOSA, V. P. *et al.* **Impact of hydrophilicity and length of spacer chains on the bonding of functional monomers.** Dent. Mater., v. 30, n. 12, p. e317-23, dec. 2014.

GAUTHIER, M. A.; ZHANG, Z.; ZHU, X. X. **New dental composites containing multimethacrylate derivatives of bile acids: a comparative study with commercial monomers.** ACS Appl. Mater. Interfaces, v. 1, n. 4, p. 824-32, apr. 2009.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. A. *et al.* **Evaluation of dental composites resins formulated with non-toxic monomers derived from catechol.** J. Mech. Behav. Biomed. Mater., v. 104, p. 103613, apr. 2020.

HASS, V. *et al.* **Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition.** Dent. Mater., v. 32, n. 6, p. 732-41, june 2016.

HUANG, B. *et al.* **Biodegradation of resin-dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition.** Dent. Mater., v. 34, n. 9, p. 1253-62, sep. 2018.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal 2020.** Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/0>>. Acesso em: abr 2022.

KALA, S. *et al.* **Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: Mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action.** S. Afr. J. Bot., v. 127, p. 293-300, dec. 2019.

LEITE, Aracelli de Sousa *et al.* **Cytogenotoxic and mutagenic profiling of cashew nut shell liquids and cardanol.** Clin. Phytoscience, v. 5, n. 1, p. 1-7, nov. 2019.

LEME-KRAUS, A. A. *et al.* **Biostability of the Proanthocyanidins-Dentin Complex and Adhesion Studies.** J. Dent. Res., v. 96, n. 4, p. 406-12, apr. 2017.

LOMONACO, D.; MELE, G.; MAZZETTO, S. E. **Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources.** In: Anilkumar P (eds). Cashew Nut Shell Liquid: A Gold Field for Functional Materials. 1st ed. Springer International Publishing; 2017, p. 19-38.

LUO, S. *et al.* **Preparation of a Bis-GMA-free dental resin system with synthesized fluorinated dimethacrylate monomers.** Int. J. Mol. Sci., v. 17, n. 12, p. 2014, dec. 2016.

MARYA, P.; HANDA, M. **Effect of proanthocyanidin and riboflavin on shear bond strength of a nanocomposite to deep dentin—An in vitro Study.** J. Conserv. Dent., v. 24, n. 5, p. 480-4, sep. 2021.

MOREIRA, M. A. *et al.* **Efficacy of new natural biomodification agents from Anacardiaceae extracts on dentin collagen cross-linking.** Dent. Mater., v. 33, n.10, p. 1103-9, oct. 2017.

MOREIRA, M. M. *et al.* **Synthesis and characterization of a new methacrylate monomer derived from the cashew nut shell liquid (CNSL) and its effect on dentinal tubular occlusion.** Dent. Mater., v. 34, n. 8, p. 1144-53, aug. 2018.

PARK, J. *et al.* **Synthesis and evaluation of novel dental monomer with branched aromatic carboxylic acid group.** J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater., v. 100, n. 2, p. 569-76, feb. 2012.

PÉREZ-MONDRAGÓN, A. A. *et al.* **Preparation and evaluation of a BisGMA-free dental composite resin based on a novel trimethacrylate monomer.** Dent. Mater., v. 36, n. 4, p. 542-50, apr. 2020.

SCAFFA, P. M. C. *et al.* **Co-distribution of cysteine cathepsins and matrix metalloproteases in human dentin.** Arch. Oral Biol., v. 74, p. 101-7, feb. 2017.

SZCZESIO-WŁODARCZYK, A. *et al.* **The Influence of Low-Molecular-Weight Monomers (TEGDMA, HDDMA, HEMA) on the Properties of Selected Matrices and Composites Based on Bis-GMA and UDMA.** Materials (Basel), v. 15, n. 7, p.2649, apr. 2022.

TREVELIN L. T. *et al.* **Effect of dentin biomodification delivered by experimental acidic and neutral primers on resin adhesion.** J. Dent., v. 99, p. 103354, aug. 2020.

XU, Y.; WANG, H.; XIE, D. **Preparation of new low viscosity urethane dimethacrylates for dental composites.** J. Biomater. Sci. Polym. Ed., v. 29, n.7-9, p. 1011–25, aug. 2018.

APÊNDICE A – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS

TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS

Eu, _____,
 RG _____, residente em _____, nº _____, na
 cidade de _____ aceito doar o(s) dente(s)
 _____, os quais foram armazenados em recipiente com solução
 fisiológica e sem identificação dos doadores, para a pesquisa intitulada **“DESENVOLVIMENTO
 DE MATERIAIS DENTÁRIOS RESINOSOS A PARTIR DO LÍQUIDO DA CASCA DA
 CASTANHA DE CAJU”** sob responsabilidade da pesquisadora Madiana Magalhães Moreira.
 Estou ciente dos objetivos do projeto de pesquisa, que este foi aprovado pelo Comitê de Ética em
 Pesquisa da Universidade Federal do Ceará e que o(s) dente(s) foi(foram) extraído(s) por indicação
 terapêutica para a melhoria da minha saúde, como documentado em meu prontuário, fundamentando-
 se em exames clínicos e/ou radiográficos. Fui informado (a) que, caso não aceitasse doar os dentes
 para a pesquisa, meu tratamento não seria prejudicado. Fui informado (a) também que a minha
 identidade na divulgação dos resultados será preservada.

A qualquer momento poderei esclarecer minhas dúvidas com a pesquisadora Madiana
 Magalhães Moreira (+55 85 988039039) ou através do Comitê de Ética em Pesquisa da
 Universidade Federal do Ceará pelo telefone +55 85 33668346.

As informações acima mencionadas são verdadeiras e de minha inteira
 responsabilidade, sendo que estou ciente das suas eventuais repercussões cíveis e penais.

Fortaleza, ___ de _____ de _____.

Assinatura do(a) doador(a): _____

Assinatura da pesquisadora responsável: _____

CRO: _____

ANEXO A – SEGUIMENTO DO REGIMENTO INTERNO

CAPÍTULO VI

DOS EXAMES E DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO E TESE

Art. 45 - O Exame Geral de Qualificação de que trata o *Artigo 50 das Normas para os Cursos de Pós-Graduação da UFC* deverá ser realizado perante uma comissão julgadora composta de no mínimo 03 (três) membros efetivos e um suplente, tendo o orientador como seu presidente.

§1º - O Exame Geral de Qualificação deverá ser realizado antes da matrícula na atividade acadêmica dissertação ou tese e será composto por duas fases. A primeira constará da defesa do projeto de pesquisa, a qual deverá ser realizada até seis meses após o ingresso no curso (nível Mestrado) ou até 12 meses (nível Doutorado). A segunda fase constará da defesa da pesquisa (uma pré-defesa) e deverá ser realizada até 45 dias antes da defesa da dissertação ou da tese.

§2º - As duas fases do Exame Geral de Qualificação constarão de sessão pública com: (1) aula expositiva com duração de 30 a 40 minutos; (2) arguição pelos membros da banca avaliadora com duração de 20 minutos para cada componente desta, bem como 20 minutos destinados às respostas do aluno para cada avaliador.

§3º - As bancas das duas fases do Exame Geral de Qualificação serão compostas por 2 (dois) avaliadores e pelo orientador.

§4º - No caso de não cumprimento do prazo estipulado no §1º, o orientador deverá encaminhar à coordenação do PPGO, antes de seu vencimento e ouvido o aluno, solicitação de ampliação do prazo, mediante justificativa e descrição da etapa de desenvolvimento do projeto.

§5º - O aluno que não obtiver aprovação no Exame Geral de Qualificação terá direito à nova oportunidade, com data a ser definida pela Coordenação do PPGO.

§6º - O aluno só poderá defender a dissertação ou tese após aprovação no Exame Geral de Qualificação de que trata este artigo.

Art. 46 – As dissertações e as teses apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato

9

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos poderão conter cópias de artigos e/ou relatórios de patentes de autoria ou coautoria do candidato, publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação e a tese em formatos tradicionais ou formatos alternativos deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no sítio <http://www.biblioteca.ufc.br>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *Manual de Normalização para Defesa de dissertação de Mestrado e tese de Doutorado no formato Alternativo do PPGO*, disponível no sítio <http://www.ppgoufc.br>.

§3º - As dissertações defendidas no formato alternativo deverão constar de, no mínimo, 01(um) capítulo, enquanto que as teses no mesmo formato deverão constar de, no mínimo, 02 (dois) capítulos.

§4º - Admite-se que a dissertação ou a tese sejam escritas e/ou defendidas em língua estrangeira seguindo as diretrizes definidas no regimento interno do Programa;

ANEXO B – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO CARDOL-METACRILATO E O EFEITO DE SUA APLICAÇÃO SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS DA DENTINA E DA INTERFACE ADESIVA

Pesquisador: MARIO AUREO GOMES MOREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 52463116.0.0000.5054

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.482.602

Apresentação do Projeto:

Será feita uma avaliação da atividade antibacteriana do cardol incorporado com radical metacrilato (monômero cardol-metacrilato) em diferentes concentrações sobre a formação e o desenvolvimento de biofilmes de *Streptococcus mutans* (através de análise com microscopia confocal com corantes live/dead e microscopia eletrônica de varredura), sua ação sobre propriedades superficiais de adesivos sobre a dentina (através de medidas de ângulos de contato) e mecânicas da dentina (nanodureza e módulo de elasticidade) e sua influência quando aplicado como primer e incorporado a um sistema adesivo (Single Bond Universal - 3M-ESPE, St Paul, EUA) sobre a resistência de união ao microcissalhamento. A adesão entre sistemas adesivos e a dentina acontece predominantemente por retenção micromecânica através da penetração desses materiais no emaranhado de fibras colágenas expostas na dentina parcialmente ou completamente desmineralizada. Essa interação entre material adesivo e substrato dentinário faz surgir na interface adesiva uma região com características mistas chamada de camada híbrida. A matriz de colágeno e a camada híbrida são estruturas suscetíveis à biodegradação. A biomodificação das fibrilas colágenas da dentina, com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas da camada híbrida e proteger a interface adesiva de fatores de degradação como a ação de proteases endógenas (metaloproteinases da matriz-MMPs e catepsinas) e de outros fatores externos, tem

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 1.482.602

sido uma das estratégias mais estudadas atualmente e é considerada um recurso importante na tentativa de estender a longevidade da adesão entre dentina e resina. O cardol é um dos principais compostos do líquido extraído da casca da castanha do caju e, dentre várias outras propriedades, apresenta potencial antimicrobiano e de biomodificação da dentina. Os objetivos deste projeto de pesquisa são avaliar a atividade antibacteriana do cardol incorporado com radical metacrilato (monômero cardol-metacrilato) em diferentes concentrações sobre a formação e o desenvolvimento de biofilmes de *Streptococcus mutans* (através de análise com microscopia confocal com corantes live/dead e microscopia eletrônica de varredura), sua ação sobre propriedades superficiais de adesivos sobre a dentina (através de medidas de ângulos de contato) e mecânicas da dentina (nanodureza e módulo de elasticidade) e sua influência quando aplicado como primer e incorporado a um sistema adesivo (Single Bond Universal - 3M-ESPE, St Paul, EUA) sobre a resistência de união ao microcissalhamento.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito do uso do cardol-metacrilato nas propriedades físico-químicas da dentina e da interface adesiva dentina-resina e seus potenciais efeitos antimicrobianos.

Objetivo Secundário:

Avaliar atividade antibacteriana do cardol-metacrilato na formação e desenvolvimento do biofilme de *Streptococcus mutans*; Mensurar a energia de superfície da dentina após a aplicação de primers de cardolmetacrilato; Avaliar (após 24 horas e 6 meses) o efeito da aplicação do cardolmetacrilato em diferentes concentrações como primer e incorporado a um sistema adesivo universal na resistência de união ao microcissalhamento; Mensurar (após 24h e 6 meses) a nanodureza da dentina, da camada de adesivo e da camada híbrida após a aplicação do cardol-metacrilato em diferentes concentrações como primer ou incorporado ao adesivo; Analisar o módulo de elasticidade da dentina desmineralizada após a aplicação do cardol-metacrilato em diferentes concentrações através de teste de flexão de três pontos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não há riscos envolvidos na pesquisa. Os dentes utilizados serão extraídos por razões que não envolvem a pesquisa e doados por pacientes. TRATA-SE DE ESTUDO LABORATORIAL SEM INTERVENÇÃO EM PACIENTES.

Benefícios:

Possibilidade de desenvolvimento de novos materiais adesivos que possam influenciar na

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3388-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 1.482.602

durabilidade das restaurações odontológicas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande relevância para a área da dentística restauradora com possibilidade de ampliação de materiais nessa área restauradora.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou a dispensa do TCLE, termo de doação de dentes, declaração de custeio, projeto com anexos, carta de apreciação pelo comitê, declaração de concordância dos pesquisadores, folha de rosto, carta de autorização do local onde a pesquisa vai ser desenvolvida, currículo lattes e orçamento. O pesquisador atualizou cronograma e inclui termo de fiel depositário.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

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_488574.pdf	31/03/2016 20:16:42		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO00.pdf	31/03/2016 20:15:59	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMADEEXECUCAO.pdf	31/03/2016 20:13:50	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Brochura Pesquisa	PROJETO.pdf	31/03/2016 20:13:34	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Outros	termodefildedepositario.jpeg	31/03/2016 20:11:53	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEdispensanovo.pdf	13/01/2016 22:17:22	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostropdf.pdf	06/01/2016 08:46:12	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Orçamento	ORCAMENTODOPROJETO.pdf	03/01/2016 15:41:53	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Outros	cartadeencaminhamento.pdf	03/01/2016	MARIO AUREO	Aceito

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 1.482.602

Outros	cartadeencaminhamento.pdf	09:59:43	GOMES MOREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodeconcordanciaufc.jpg	03/01/2016 09:57:17	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Outros	declaracaodecusteio.pdf	03/01/2016 09:53:56	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Outros	termodeoacaododentes.pdf	03/01/2016 09:45:49	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Cartadeautorizacao.jpeg	23/12/2015 12:04:26	MARIO AUREO GOMES MOREIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 07 de Abril de 2016

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

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