



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**Avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em  
nanopartículas de montmorilonita em compósitos à base de  
BisGMA/TEGDMA**

**TAMIRIS MARTINS RIBEIRO DOS SANTOS**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do  
Grau de Mestre na Área de  
Tecnologia Nuclear - Materiais

**Orientadora:**  
**Profa. Dra. Duclerc Fernandes Parra**

São Paulo  
2019

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**Avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em nanopartículas  
de montmorilonita em compósitos à base de BisGMA/TEGDMA**

**Versão Corrigida**

**Versão original disponível no IPEN**

**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do  
Grau de Mestre na Área de  
Tecnologia Nuclear- Materiais**

**Orientadora:**

**Profa. Dra. Duclerc Fernandes  
Parra**

**São Paulo**

**2019**

Fonte de Financiamento: CNPQ

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

SANTOS , T. M. R. . *Avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em nanopartículas de montmorilonita em compósitos à base de BisGMA/TEGDMA*. 2019. 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Santos , Tamiris Martins Ribeiro  
Avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em nanopartículas de montmorilonita em compósitos à base de BisGMA/TEGDMA / Tamiris Martins Ribeiro Santos ; orientadora Duclerc Fernandes Parra . -- São Paulo, 2019.  
88 f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Materiais) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2019.

1. Amoxicilina . 2. Montmorilonita. 3. Resina Odontológica  
4. Nanocompósito . 5. Resina Epóxi . I. Parra , Duclerc Fernandes , orient. II. Título.

*“Se tomo as asas da alvorada e me detenho nos confins dos mares, ainda lá me  
haverá de guiar a tua mão, e a tua destra me susterá. ”*

*Salmos 139:9-10*

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a minha mãe Maria Marlete Martins de Oliveira Santos, minha irmã Soraya Martins Ribeiro dos Santos, todos os meus amigos e colegas que me acompanharam nessa jornada e a todo corpo acadêmico, que esse trabalho sirva para auxílio.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por toda oportunidade que me deu, sem ele não sou nada.

Agradeço a minha mãe Maria, minha irmã Soraya, minha tia Silvelena, ao querido Dudu e Francisco.

Agradeço a todos os meus amigos, a todos que desejaram, que me deram forças para prosseguir e dar continuidade nesse mestrado.

A minha orientadora Profa. Dra. Duclerc Fernandes Parra por toda a atenção, tempo, esforço e dedicação para que esse trabalho fosse concluído.

Ao CNPq pelo apoio financeiro que foi fundamental para a realização deste trabalho diretamente e indiretamente.

Aos funcionários do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN) que sempre estão dispostos a auxiliar e ajudar, agradeço ao Eleosmar, as meninas da CPG, ao Glauson, ao Nildemar, Prof. Dr. Oscar e Profa. Dra. Cláudia e ao Dr. Lugão por todo cuidado e toda dedicação no decorrer do meu mestrado.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, Pedro Alexandre, Camila Bassetti, Mariana Santos, Vinicius Juvino, Vinicius Lima, Luiz komatsu, Henrique Peres, Maria José, Jorge Gabriel, Adriana kuchinski, Maíse Pastore, as Maras, ao Gustavo Varca, Gabriela e a todos que me ajudaram de alguma maneira. Em especial eu agradeço a Luiza de Mello Paiva Campos por me auxiliar no decorrer desses três anos. Obrigada a todos!

Agradeço ao professor Dr. Cristiano Oliveira por permitir que fosse possível realizar as análises de SAXS no equipamento que o mesmo gerencia. Agradeço aos técnicos Arnaldo Gomes e ao Dennys Reis por todo o auxílio, desde do preparo das amostras até a revisão do texto. Obrigada!

Ao Ms. Daniel Lebre por abrir as portas do Cemsa para que eu pudesse realizar as análises de liberação de fármaco com a técnica CLAE-EM/EM.

Agradeço ao técnico Alexandre Moura por possibilitar a utilização do ultra micrótomo para corte das minhas amostras.

A todos aqueles que de certa forma contribuíram para a construção deste trabalho.

Aos professores da banca Hélio Wiebeck e Letícia Boaro que gentilmente aceitaram o convite para participarem da etapa final deste trabalho.

## RESUMO

SANTOS, Tamiris M. R. **Avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em nanopartículas de montmorilonita em compósitos à base de BisGMA/TEGDMA.** 2019. 88p. Dissertação (Dissertação em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEM. São Paulo.

Na odontologia materiais restauradores são utilizados em larga escala e a principal desvantagem desses materiais é a contração de polimerização. A contração de polimerização diminui a vida útil do mesmo, causando infiltrações por microrganismos e conseqüentemente, a cárie secundária. O objetivo deste trabalho foi avaliar um compósito nano-estruturado polimérico experimental que promovesse a liberação de fármaco de maneira controlada para fins antimicrobianos para assim, minimizar a referida desvantagem. Dessa forma, foi utilizada a nanopartícula Montmorilonita (MMT), como veículo de liberação. Após incorporação da Amoxicilina trihidratada (AMOX) na concentração de 10% em carga (10:1) nas nanopartículas de MMT, foram elaborados três grupos de compósitos experimentais. O primeiro grupo foi composto apenas pela matriz polimérica à base de BisGMA/TEGDMA (controle 1); o segundo foi composto pela matriz polimérica e 9% (em massa) de MMT, sem fármaco (controle 2); e finalmente, o terceiro grupo foi composto pela matriz polimérica e 10% (em massa) de MMT+AMOX (grupo MMT+AMOX). Ensaio para estudar a liberação de fármaco foram feitos e os métodos de caracterização usados foram: (as amostras foram coletadas e analisadas através de espectrofotometria de UV a  $\lambda=273$  nm e CLAE-EM/EM), determinação de Intumescimento e Perda de Massa, Análise de Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR), Difração de Raios-X (DRX), Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Foram feitos quatro gráficos de liberação, dois para cada técnica, os resultados foram comparados entre si e corroboraram com a literatura. Em relação ao intumescimento dos corpos de prova,



observou-se que o grupo controle foi o que apresentou o maior valor, seguido do grupo MMT e do grupo MMT+AMOX, e no que se refere à perda de massa, o grupo controle foi o que apresentou o maior valor, seguido do grupo MMT+AMOX e MMT. Os valores para o grupo imerso em solução de saliva artificial foram maiores para perda de massa e intumescimento. O perfil de decomposição térmica obtido por meio das análises de TG e DSC do composto MMT+AMOX, sugeriu que houve intercalação do fármaco entre as lamelas da nanopartícula. Por meio do FTIR, observou-se que o composto MMT+AMOX apresentou as ligações referentes a ambos os componentes e deslocamento do pico 2969  $\text{cm}^{-1}$ , para o pico 2953  $\text{cm}^{-1}$ , sugerindo incorporação da AMOX na MMT. Por meio do DRX e do SAXS, foi possível mensurar tamanho das lamelas de MMT e compará-las com o composto feito com MMT+AMOX. Os resultados obtidos mostraram maior espaçamento basal para o grupo com AMOX. Nas micrografias de MEV foi possível observar pontos de aglomeração do composto MMT+AMOX, em relação à matriz polimérica. Por meio da técnica de MET, foi possível notar as lamelas da MMT, bem como sua dispersão. Concluiu-se então que, no que se refere à liberação, o grupo MMT+AMOX apresentou maior liberação nas primeiras 48 horas. Os resultados obtidos pelo ensaio em solução de saliva e de solução tampão apresentados no presente trabalho, foram relacionados às enzimas presentes na solução de saliva artificial. Adicionalmente foi constatado que o fármaco não interferiu negativamente na estrutura do compósito, resultado observado nas análises de perda de massa, intumescimento e SAXS. Em relação às análises de FTIR, TG, DSC, DRX e SAXS os resultados apresentados sugerem que houve a intercalação do fármaco dentre as lamelas da referida nanopartícula. De acordo com as micrografias de varredura, apesar da boa dispersão observada, há pontos de aglomeração do composto MMT+AMOX. Com as micrografias de transmissão, SAXS e DRX foi possível classificar a MMT na categoria de compósitos nano-estruturados. Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram que as partículas de MMT podem ser utilizadas como um satisfatório veículo de liberação de fármaco em compósitos.

Palavras-chave: AMOX, MMT, Nanocompósito.

## ABSTRACT

SANTOS, Tamiris M. R. **Evaluation of amoxicillin release incorporated in montmorillonite nanoparticles in composites based on BisGMA / TEGDMA 2019.** 88p. Dissertação (Dissertação em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEM. São Paulo.

Restorative dental materials are used on a large scale in dentistry, the main indirect problem of the currently used ones is the polymerization contraction. The polymerization contraction reduces the useful time by generating infiltrations due to the presence of microorganisms and consequently causing secondary cavities. The objective of this work was to evaluate an experimental model that promoted the release of antimicrobial drugs in a controlled way to prevent the formation of secondary cavities and consequently prolong the useful life of dental restorations. The nanoparticles Montmorillonite (MMT) were used as drug loaders, they were prepared with amoxicillin trihydrate (AMOX) 10% a proportion at (10:1). Three experimental protocols were elaborated. The first protocol consisted of BisGMA/TEGDMA-based polymer matrix (control); the second one consisted of the BisGMA/TEGDMA-based polymer matrix plus 9% MM of MMT without the drug (control 2); and finally, the BisGMA/TEGDMA-based polymer matrix plus 10% (by mass) of the MMT with the drug AMOX (MMT + AMOX group). Some essays to study the drug release were made and the characterization techniques were the followed: UV 273 nm and CLAE-EM/EM spectroscopy, Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetry Analysis (TG), the Determination of Swell-Shrink Behavior (SSB), X-Ray Diffraction (XRD), X-Ray Diffraction (XRD), X-Ray Diffraction (XRD), X-Ray Scattering (SAXS), Scanning Electron Microscopy (SEM), Electron Transmission Electron Microscopy (MET). Four graphs to study the release were made, two for each technique, the results were compared to each other and corroborated with the literature. Regarding the swelling of the probes, the control group came with the highest value, followed by the MMT group and the MMT + AMOX group. About the mass loss, the control group was the one that presented the highest value, followed

by the MMT + AMOX and MMT groups. The values for the groups immersed in saliva solution were proportionally higher for mass loss and swelling. The decomposition profile obtained from the TG and DSC analysis of MMT + AMOX suggested that there was intercalation of the drug between the lamellae of the nanoparticles. Using FTIR it was observed that the compound MMT + AMOX presented bounded to both components and a chemical shift of 2969  $\text{cm}^{-1}$ , to 2953  $\text{cm}^{-1}$ , which suggests the incorporation of the AMOX within the MMT. Using XRD and SAXS, it was possible to measure the size of the MMT lamellae and to compare them with the compound made with MMT + AMOX. The results showed greater basal spacing for the group with AMOX. In the SEM micrographs of the MMT + AMOX, it was possible to observe agglomeration spots in association with the polymer matrix. Through the MET technique, it was possible to observe the lamellae of MMT as their dispersion. About the release of the drug, it was concluded that the MMT + AMOX had the greatest release within the first 48 hours. Concerning swelling and mass loss, the control group showed the highest values, the result was that this group is not actually a type of carrier, since the MMT and (MMT + AMOX) carrier groups differ. Therefore, it was concluded that the drug did not negatively interfere with the structure of the composite as shown by the mass loss, swelling, and SAXS tests. Regarding the FTIR, TG, DSC, XRD, and SAXS analyzes, the results presented suggest a drug intercalation between the nanoparticles lamellae. According to SEM micrographs, despite the observed dispersion, there were agglomeration spots of the compound MMT + AMOX. With micrographs of TEM, SAXS and DRX it was possible to categorize the MMT as nanostructured composites. The results obtained demonstrated that the MMT particles can be used as a satisfactory drug carrier-delivery probe in composites.

Key words: AMOX, MMT, Nanocomposite.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	16
<b>2 OBJETIVO</b>	19
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	20
3.1 Matriz Orgânica	20
3.2 Carga Inorgânica	22
3.3 Montmorilonita para Carregamento de Fármaco	25
3.4 Amoxicilina	27
<b>4 MATERIAIS</b>	30
4.1 Descrição da Nanopartícula Argilomineral Cloisite® 30B	31
4.2 Descrição da Amoxicilina	32
<b>5 MÉTODOS</b>	33
5.1 Incorporação de Fármaco (AMOX+MMT)	33
5.2 Elaboraões dos Compósitos	34
5.3 Elaboração dos Corpos de Prova	35
5.4 Liberação de Fármaco	37
5.4.1 Método de Cromatografia Líquida Acoplada ao Espectrômetro de Massa- CLAE-EM/EM	37
5.4.2 Método de Espectrofotometria UV - Vis	39
5.5 Intumescimento e Perda de massa	41
5.6 Análise de Termogravimetria - TG	42
5.7 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC	43
5.8 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR	44
5.9 Difração de Raios X - DRX	44
5.10 Espalhamento de Raios - X a Baixo ângulo - SAXS	45
5.11 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV	46
5.12 Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET	47
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	48
6.1 Ensaio de Liberação de Fármaco	48
6.1.1 Liberação de Fármaco por CLAE - EM/EM	48
6.1.2 Liberação de Fármaco por UV - Vis	50
6.2 Perda de Massa e Intumescimento	54

6.3	Análise de Termogravimetria - TG .....	56
6.4	Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC .....	63
6.5	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR .....	66
6.7	Difração de Raios - X.....	67
6.8	Espalhamento de Raios - X a Baixo Ângulo - SAXS.....	69
6.6	Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV .....	72
6.7	Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET .....	74
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>77</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>80</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura do BisGMA.....	20
<b>Figura 2:</b> Fórmula estrutural do TEGDMA.....	21
<b>Figura 3:</b> Classificação geral da Montmorilonita.....	22
<b>Figura 4:</b> Estrutura da Montmorillonita.....	23
<b>Figura 5:</b> Molécula de Amoxicilina.....	28
<b>Figura 6:</b> Metil “tallow” bis-2-hidroxetil amônio quaternário.....	31
<b>Figura 7:</b> Fórmula estrutural da Amoxicilina Trihidratada.....	32
<b>Figura 8:</b> Síntese de incorporação de fármaco na MMT, (A) agitação do composto, (B) pó macerado em cadinho de ágata, (C) pó sendo peneirado.....	33
<b>Figura 9:</b> Compósito Experimental com 10% AMOX+MMT.....	34
<b>Figura 10:</b> (A) amostras sendo fotopolimerizadas; (B) Amostra polimerizada; (C) Cadinho de análise térmica; (D) Pastilha de KBr.....	36
<b>Figura 11:</b> Ultramicrotomo Leica Ultracut.....	37
<b>Figura 12:</b> Curva de calibração da AMOX por CLAE-EM/EM.....	38
<b>Figura 13:</b> Espectrômetro de massa CLAE - EM/EM.....	39
<b>Figura 14:</b> Gráfico da curva de calibração com a equação da reta.....	40
<b>Figura 15:</b> Espectrômetro de UV - Vis.....	411
<b>Figura 16:</b> Equipamento de análise de termogravimetria.....	42
<b>Figura 17:</b> Equipamento de Calorimetria diferencial exploratória.....	43
<b>Figura 18:</b> Equipamento de Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS).....	46
<b>Figura 19:</b> Curva da liberação de Amoxicilina em mg/mL 520 horas.....	48
<b>Figura 20:</b> Curva da liberação de Amoxicilina em mg/mL <sup>-1</sup> e porcentagem em um intervalo de tempo de 0 a 480 horas.....	50
<b>Figura 21:</b> Curva da liberação de Amoxicilina em ng/mL em um intervalo de tempo de 0 a 10 horas por CLAE-EM/EM (solução de saliva).....	52
<b>Figura 22:</b> Curva da liberação de Amoxicilina em mg/mL em um intervalo de tempo de 0 a 10 horas, por UV-Vis (solução de salina).....	53
<b>Figura 23:</b> Termograma dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA.....	57
<b>Figura 24:</b> Derivada dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA.....	57
<b>Figura 25:</b> Termograma da nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX.....	59
<b>Figura 26:</b> Derivada das curvas da nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX.....	59
<b>Figura 27:</b> Termogramas das amostras fotopolimerizadas e sem fotopolimerização.....	61
<b>Figura 28:</b> dTG das amostras fotopolimerizadas e sem fotopolimerização.....	62
<b>Figura 29:</b> Curva de DSC dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, canforoquinina, DMAEMA.....	63

<b>Figura 30:</b> Curva de DSC nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX. ....	64
<b>Figura 31:</b> Curva de DSC do compósito com MMT+AMOX fotopolimerizado e sem fotopolimerização. ....	65
<b>Figura 32:</b> Espectrografia em transmitância das nanopartículas de MMT pura, Amoxicilina e composto MMT+AMOX. ....	66
<b>Figura 33:</b> Curva de raios X da MMT, AMOX e MMT+AMOX (pó). ....	68
<b>Figura 34:</b> Gráfico de Espalhamento da MMT, AMOX e MMT+AMOX. ....	69
<b>Figura 35:</b> Gráfico de espalhamento do controle 1, controle 2 e MMT+AMOX (Compósito). ....	70
<b>Figura 36:</b> Micrografia da matriz Polimérica sem carga com X500 de aumento. ....	72
<b>Figura 37:</b> Micrografia de mostrando a dispersão da nanopartícula de MMT na matriz com X 500 de aumento. ....	73
<b>Figura 38:</b> Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX, em 100 nm. ....	74
<b>Figura 39:</b> Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX com 50 nm em escala, as flechas indicam intercalação da MMT+AMOX na resina. ....	75
<b>Figura 40:</b> Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX, com 20 nm em escala, a flecha indica lamela esfoliada. ....	75
<b>Figura 41:</b> FIGURA: Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX, com 10 nm em escala. ....	76

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Identificação dos reagentes e dos fabricantes da matriz polimérica. ....	30
<b>Tabela 2:</b> Identificação dos reagentes e dos fabricantes da MMT e da Amoxicilina. ....	30
<b>Tabela 3:</b> Formulação dos grupos experimentais em mol e em massa. ....	35
<b>Tabela 4:</b> Resultados referentes à perda de massa e intumescimento dos corpos de prova adicionados com o composto MMT+AMOX e dos grupos controles em solução de saliva artificial (saliform). ....	55
<b>Tabela 5:</b> Resultados referentes à perda de massa e intumescimento dos corpos de prova adicionados com o composto MMT+AMOX e dos grupos controles em solução tampão. ....	55
<b>Tabela 6:</b> Perfil de decomposição dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA. ....	58
<b>Tabela 7:</b> Eventos de decomposição das amostras em pó: temperaturas e perda de massa percentual. ....	60
<b>Tabela 8:</b> Valores dos eventos de perda de massa percentual e respectivas temperaturas. ....	62

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1:</b> Equação utilizada para cálculo de liberação de AMOX. ....	40
<b>Equação 2:</b> Equação de intumescimento dos corpos de prova. ....	41
<b>Equação 3:</b> Equação de perda de Massa. ....	41



## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais restauradores com potencial bioativo na área odontológica pode ser uma alternativa válida para aumentar a vida útil da restauração e diminuir a necessidade de substituição das restaurações dentárias. (Sarrett, 2005; Jandt e Sigusch, 2009; Chen, 2010; Ferracane, 2011). Além disso, comparado aos materiais cerâmicos, ao amálgama e ao esmalte dentário, a superfície das restaurações em compósito apresenta uma tendência maior de acumular biofilme bacteriano (Beyth *et al.*, 2007; Brambilla *et al.*, 2012).

Além de tendências ao acúmulo de biofilme, os compósitos dentários fotopolimerizáveis ainda apresentam a desvantagem da contração de polimerização. Esse fenômeno é responsável por danos indesejáveis ao material e podem causar fendas entre o dente e a restauração. Como consequência, pode haver dor pós-operatória, desprendimento da resina depositada, deflexão de cúspides causando cáries secundárias, sensibilidade dolorosa pós-operatória, podendo até provocar alterações pulpares (Kleverlaan *et al.*, 2005; Venhoven, 1993).

Com o passar dos anos houve um grande avanço na melhoria das propriedades desse material pela adição de cargas inorgânicas para reforço mecânico, como: o quartzo, a sílica, o silicato de alumínio e lítio, o vidro de bário, o vidro de estrôncio, ou uma mistura destes. A literatura também relata o uso de nanoargilas para reforço mecânico em compósitos odontológicos. Em estudos de nanopartícula a Montmorillonita (MMT) é descrita como um material útil para reduzir a contração de polimerização de compósitos odontológicos (Venhoven *et al.* 1996; Liu *et al.*, 1999; Salahuddin e Sherata, 2001; Discacciati *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2014; Discacciati e Oréfice, 2007; Campos, *et al.*, 2016).

Um atributo importante da MMT é a capacidade de adsorver alguns cátions e retê-los em um estado de troca catiônica, tendo ainda a possibilidade de que cátions intercalados sejam trocados por outros cátions em solução aquosa. A estrutura lamelar e a capacidade de troca catiônica são duas importantes propriedades das argilas minerais e permitem ainda que pequenas moléculas se

intercalem em suas lamelas, como por exemplo, moléculas de fármaco. (Drits, 2003; Heinz *et al.*, 2007).

A incorporação de fármacos nas nanopartículas de MMT traz perspectivas aos estudos de liberação controlada de fármaco. As nanopartículas de MMT complexadas com fármacos tendem a criar novos sistemas farmacêuticos. Esses sistemas podem ser definidos como sistemas moleculares complexos de liberação com um diâmetro menor do que 100 nanômetros. As nanopartículas de MMT podem apresentar diversas formas, tamanhos e diferentes propriedades dependendo da maneira na qual foi encapsulado, adsorvido ou intercalado. Inúmeros tipos de fármacos podem ser carregados. (Zheng e Zaoui, 2013; Yih e Al-Fandi, 2006). Estudos mostram que a nanopartícula de MMT não apresentou efeito bactericida, porém, quando associadas a fármacos, mostram atividades, tornando-se materiais bacteriostáticos. (Meng *et al.*, 2009; Yu *et al.*, (2017).

Na odontologia, diversos tipos de fármacos podem ser utilizados para eliminar bactérias que podem danificar os tecidos peri-radiculares. A desinfecção do canal se dá por meio de medicamentos intracanal e também por medicamentos via oral, como é o caso da Amoxicilina, antibiótico muito utilizado devido a sua eficácia (Cohen e Burns, 1998; Leonardo, 2008).

A amoxicilina (AMOX) é uma penicilina semi-sintética que inibe a enzima bacteriana *transpeptidase* impedindo então a síntese do *peptidoglicano*, importante componente da parede celular, que por sua vez provoca uma rápida lise das bactérias (Silveira *et al.*, 2006).

A AMOX é muito indicada para o tratamento de infecções já estabelecidas, profilaxia ou prevenção de infecções, por conta do baixo custo, facilidade de execução, controle total do profissional para a administração do mesmo, baixos índices de toxicidade e redução de cepas bacterianas resistentes (Peterson *et al.*, 2000; Seabra *et al.*, 2004).

É importante ressaltar ainda que não existe na literatura dados sobre a incorporação de amoxicilina em nanopartículas de MMT adicionadas em matrizes poliméricas à base de Bisfenol A Glicidilmetacrilato (BisGMA) e Tetraetileno Glicol

Dimetacrilato (TEGDMA). Dessa forma, o desenvolvimento de um compósito com atividade antibacteriana tornará possível explorar uma nova linha de pesquisa voltada à Odontologia.

## **2 OBJETIVO**

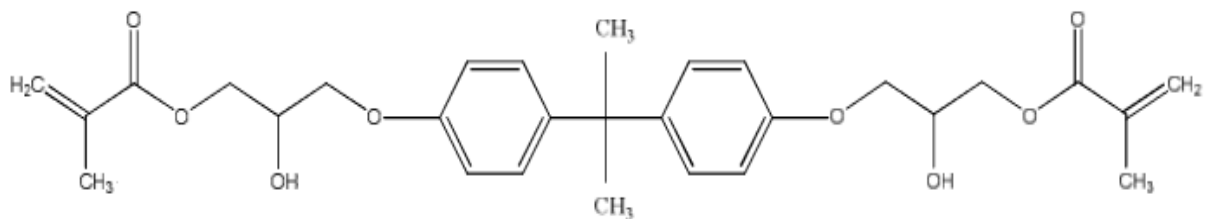
O objetivo do presente trabalho foi adicionar a um compósito polimérico experimental à base de BisGMA/TEGDMA um composto formado por nanopartículas de MMT incorporadas com o fármaco Amoxicilida trihidratada. Após o processo, avaliou-se a cinética de liberação de fármaco, as propriedades térmicas, o tipo de interação do composto em relação à matriz polimérica e a morfologia do material.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Matriz Orgânica

Por volta de 1960, Bowen após vários estudos, sintetizou uma resina epóxi com uma resina acrílica, obtendo assim o BisGMA (metacrilato de glicidila bisfenol A ou 2,2 bis[4-(2-hidroxi-3-metacriloxipropoxi)-fenil]propano), pode-se observar a estrutura do bisGMA na figura 1. O éster glicidil do bisfenol A reage com o metacrilato da resina acrílica, dando origem à resina de Bowen (Ferracane, 2011). O BisGMA apresenta alta massa molar (MW=512g/mol), o que traz como consequência alta rigidez ao material por conta dos grupos aromáticos em sua estrutura, e a quantidade de pontes de hidrogênio presentes no mesmo, apresentam alta viscosidade ao material ( $n=1369$  Pa.s), como consequência fazendo o material apresentar baixa mobilidade de reação, baixo grau de conversão e baixa contração de polimerização. (Sideridou *et al.*, 2002; Atai e Watts, 2006)

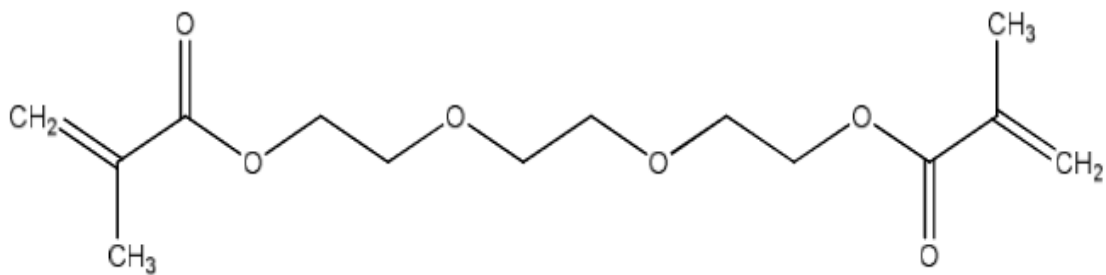
**Figura 1:** Estrutura do BisGMA



Atualmente, o monômero base da maior parte das resinas odontológicas comerciais continua sendo o BisGMA e por conta de sua alta viscosidade e necessidade de incorporação de cargas, afim de aumentar o grau de conversão do mesmo, faz-se necessário misturá-lo a um co-monômero menos viscoso. O co-monômero mais utilizado em associação com o BisGMA é o TEGDMA (dimetacrilato de trietilenoglicol ou 2-metil-2-ácido propenóico), na figura 2 mostra

a estrutura do TEGDMA. O TEGDMA apresenta massa molar de  $M_w=286$  g/mol e viscosidade de  $\eta=0,05$  Pa.s. valores inferiores ao do BisGMA. A presença de grupos éteres na estrutura do TEGDMA traz grande flexibilidade à molécula, trazendo maior efetividade de reação e aumentando o grau de conversão do compósito (BisGMA/TEGDMA). Com o aumento do grau de conversão do polímero, as propriedades físicas do compósito são melhoradas. (Atai e Watts, 2006; Sideridou *et al.*, 2002; Dewaele *et al.*, 2006). Porém, mesmo com a junção dos monômeros, ainda ocorrem alterações volumétricas significativas durante a polimerização. O baixo valor da massa molar do TEGDMA está associado à contração de polimerização. (Stansbury, *et al.*, 2005; Bowman, *et al.*, 2011; Dewaele, *et al.*, 2006).

**Figura 2:** Fórmula estrutural do TEGDMA.

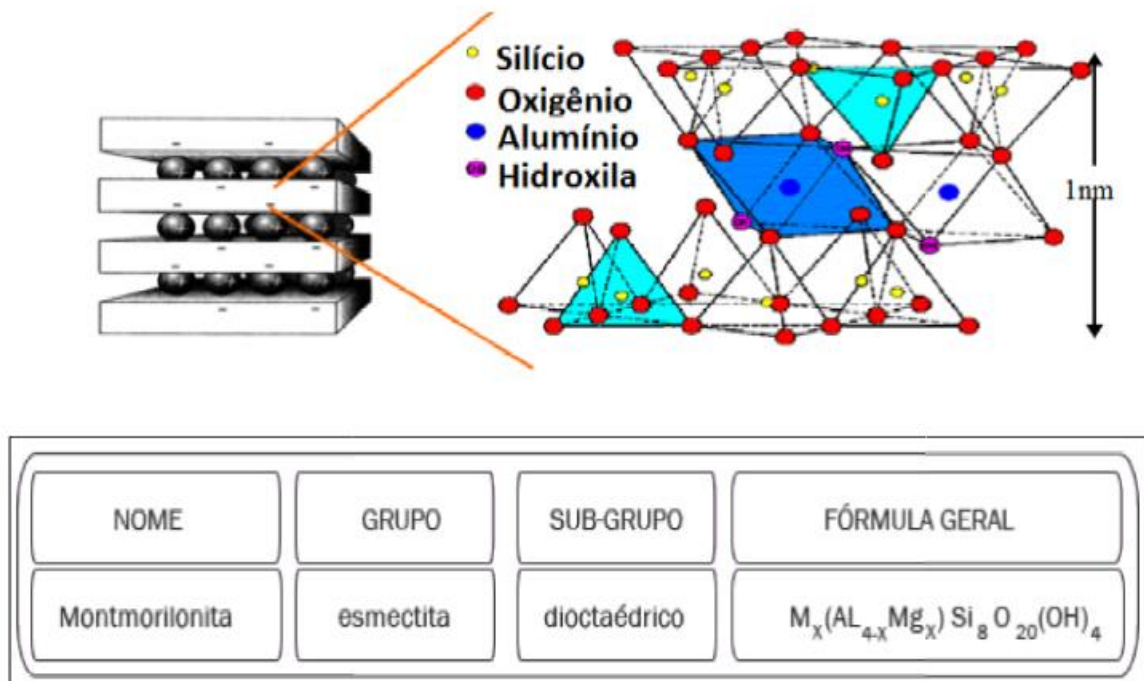


A união do TEGDMA ao BisGMA altera a contração de polimerização da resina. Afim de minimizar a contração são adicionadas algumas partículas de preenchimento (carga inorgânica), sendo elas: o quartzo, a sílica, o silicato de alumínio e lítio, o vidro de bário, o vidro de estrôncio, ou mistura destes. Essas cargas são utilizadas para melhorar efetivamente a durabilidade da matriz polimérica resinosa e para uma cor satisfatória da mesma. Também são adicionados aditivos para prevenir a polimerização prematura (Anusavice, 2013).

### 3.2 Carga Inorgânica

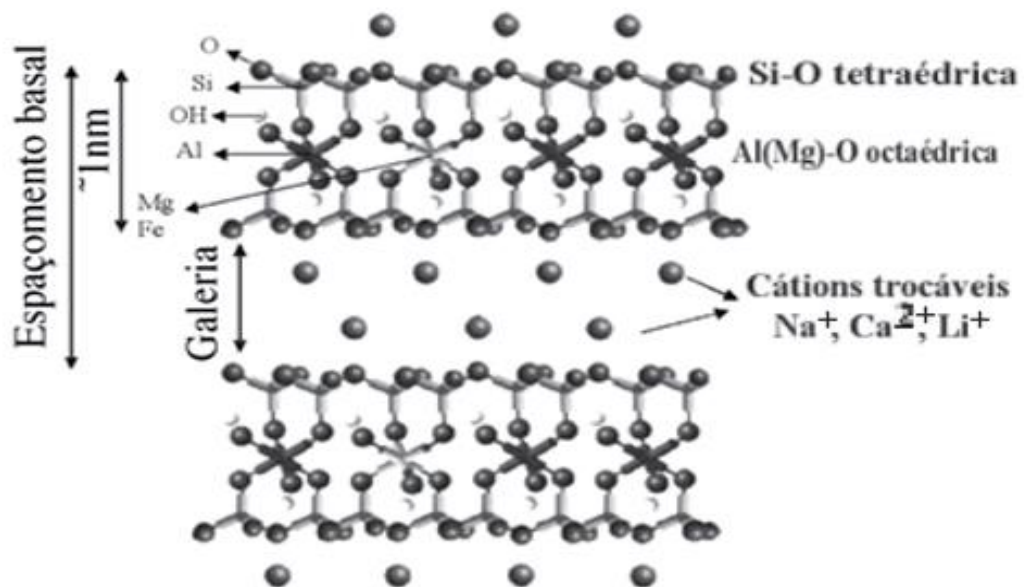
A nanopartícula Montmorilonita é um argilomineral classificado como esmectita foi identificada por Knight em 1896 em Montmorillon, uma cidade na região de Poitou na França. A fórmula geral da Montmorilonita é dada por  $(\text{Na,Ca})_{0,3}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  sendo um silicato de alumínio, magnésio e cálcio hidratado. A MMT pode possuir tamanhos variados de partículas, de 0,1 a 2  $\mu\text{m}$ , com tamanho médio de  $\sim 0,5 \mu\text{m}$  e formato de placas ou lâminas. O diâmetro de uma placa é de aproximadamente 100nm, a espessura pode chegar até 1nm e as dimensões laterais podem variar em torno de 30nm. É um mineral efetivo como um absorvente de metais pesados e possui cátions trocáveis. Na figura 3 de Zanetti e Costa (2004), está representado a classificação da MMT e sua organização estrutural (Santos, 1989; Utracki *et al.*, 2004; Alexandre e Dubois, 2000).

**Figura 3:** Classificação geral da Montmorilonita (Zanetti e Costa, 2004).



Pertencente ao grupo dos filossilicatos 2:1, cujas placas são caracterizadas por estruturas constituídas por duas folhas tetraédricas de sílica com uma folha central octaédrica de alumina, unidas entre si por átomos de oxigênio comuns a ambas as folhas. As lamelas se organizam formando pilhas mantidas pelas forças de van der Waals e entre as lamelas formam-se espaços regulares chamados espaçamento basal “d”, ou espaço interlamelar. As lamelas da Montmorilonita apresentam perfil irregular, são finas e possuem boa capacidade de delaminação. Na figura 4 de Paiva *et al.*, (2008) é possível observar o espaçamento basal da MMT, sua estrutura como também sua galeria (Santos, 1989; Bharadwaj *et al.*, 2001; Utracki *et al.*, 2004; Alexandre e Dubois, 2000).

**Figura 4:** Estrutura da Montmorillonita (Paiva *et al.*, 2008).



Por possuir uma estrutura lamelar cristalina que consiste em camadas, a nanopartícula de Montmorillonita vem sendo utilizada em diversos tipos de nanocompósitos poliméricos, principalmente em indústrias automobilísticas, de embalagens, de biomateriais e aeroespacial (Gu *et al.*, 2004; Touati *et al.*, 2007; Munhoz *et al.*, 2017). Estudos comprovam a capacidade de diminuição da contração de polimerização (contração volumétrica), melhoria das propriedades



térmicas em compósitos odontológicos, quando utilizado com a Montmorilonita como carga inorgânica (Discacciati *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2014; Campos *et al.*, 2016; Solhi *et al.*, 2012).

A superfície da argila pode ser resultado de uma substituição isomorfa, por exemplo, magnésio em lugar do alumínio, ou de uma cisão de ligações das extremidades da argila. A capacidade de troca catiônica é uma propriedade importante das argilas minerais (Drits, 2003; Heinz *et al.*, 2007).

A Montmorilonita tem a capacidade de adsorver alguns cátions e retê-los em um estado de troca catiônica o qual permite que cátions intercalados sejam trocados por outros cátions em solução aquosa. Cátions sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) são os mais comuns. A Montmorilonita pode ser classificada em alguns tipos, entre estes a Montmorilonita de sódio (Na-MMT) e a Montmorilonita de cálcio (Ca-MMT) (Uddin, 2008).

A substituição dos cátions interlamelares por cátions orgânicos pode ser usada na produção de montmorilonitas organofílicas. Nanoargilas naturais e não modificadas são difíceis para dispersão em polímeros, sendo assim, as montmorilonitas são modificadas para adquirir caráter organofílico (Uddin, 2008). Existem diferentes modos de se modificar argilas minerais: adsorção, troca iônica com cátions inorgânicos e complexos catiônicos, troca iônica com cátions orgânicos, enxerto de compostos orgânicos, reação com ácidos, polimerização interlamelar ou intraparticular e interparticular, calcinação, delaminação e reagregação da argila mineral, e tratamentos físicos como liofilização e ultrassom (Janek e Lagaly, 2001). Os mecanismos de adsorção da Montmorilonita estão diretamente relacionados à área de superfície e/ou capacidade de troca. Assim, torna-se evidente a possibilidade de se inserir moléculas de fármacos no interior das lamelas, viabilizando a exploração de seu potencial como um sistema de liberação de fármacos (Janek e Lagaly, 2001).

### 3.3 Montmorilonita para Carregamento de Fármaco

Além de a MMT melhorar diversas propriedades nos materiais à base de BisGMA/TEGDMA (Campos *et al.*, 2014; Campos *et al.*, 2016), ainda há a possibilidade da incorporação de fármacos dentro das lamelas da MMT. A literatura mostra diversos sistemas de liberação de fármaco que utilizaram nanopartícula de MMT como veículos de liberação de fármaco (Viseras *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2014; Wang, *et al.*, 2008).

Dentre as diferentes alternativas, a argila mais utilizada para o uso farmacêutico é a Montmorilinita, devido a sua alta capacidade de troca catiônica (CTC:(80-150 mEq/100g) (Janek e Lagaly, 2001; Lee e Kim, 2004; Leroux, 2006; Coelho, 2008).

A incorporação de fármacos à nanopartículas tem revolucionado as perspectivas de tratamento com novas ideias e novas tecnologias. As nanopartículas complexadas com fármacos criam tendências terapêuticas. Podem ser definidas como complexos moleculares, quando apresentam um diâmetro menor do que 100 nanômetros (Yih e al- Fandi, 2006; Zhang *et al.*, 2014). A partir da forma e dos materiais em que as nanopartículas são complexadas, as mesmas podem apresentar diversas formas, tamanhos e propriedades diferentes. Inúmeros tipos de fármacos podem ser carregados em nanopartículas de MMT por meio de encapsulação, adsorção superficial e intercalação (Zheng *et al.*, 2013).

A estrutura da nanopartícula MMT apresenta camadas ou galerias, formando um espaço interlamelar, onde compostos orgânicos podem ser absorvidos entre os espaços. Devido a essa propriedade é possível a junção com material polimérico dentro dos espaços interlamelares da argila (Viseras *et al.*, 2010). As argilas minerais são classificadas como material orgânico, e atualmente recebem atenção do setor farmacêutico devido às propriedades físico-químicas destes silicatos. Devido a diversas propriedades que fazem as argilas serem nanopartículas úteis em aplicações farmacêuticas, as que mais chamam a atenção do setor são: A capacidade de absorção, grande área de superfície,

capacidade de troca catiônica, inércia química e baixa toxicidade. As argilas têm sido estudadas em preparações farmacêuticas contendo fármacos e excipientes (Choy *et al.*, 2007).

A propriedade da MMT de intercalar compostos orgânicos é particularmente importante na preparação de sistemas de liberação de fármacos. A MMT usada como excipiente pode ter uma influência em dois aspectos muito importantes na biodisponibilidade de fármacos, como a liberação e a estabilidade. Na literatura há exemplos bem-sucedidos de fármacos intercalados na MMT os quais mantiveram as atividades farmacológicas depois de liberadas do sistema lamelar (Viseras *et al.*, 2010).

Segundo Nhung *et al.*, (2007) para potencializar os benefícios da clorexidina pode-se buscar auxílio na nanotecnologia, através de sistemas de liberação controlada de fármacos, que apresentam diversas vantagens sobre o sistema de administração convencional. Dentre as vantagens, destacam-se a maior eficácia terapêutica proporcionada pela liberação progressiva e controlada do fármaco a partir da nanopartícula e, a diminuição significativa da toxicidade por utilizar menor concentração do fármaco e possuir maior tempo de ação. Além disso, esse sistema evita a instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura) além de possibilitar a penetração mais profunda nos tecidos em decorrência do seu reduzido tamanho.

A capacidade de intercalação clorexidina na nanopartícula de MMT, adicionada em compósitos odontológicos foi muito estudada. A ação antimicrobiana da clorexidina ocorre ante um grande número de bactérias aeróbias e anaeróbias, como também ante-espécies Gram-positivas e Gram-negativas, podendo ser bactericida ou bacteriostática. A ação bactericida que ocorre com as soluções mais concentradas dá-se pela ruptura da membrana citoplasmática desses microrganismos; já a ação bacteriostática acontece quando a solução de clorexidina é utilizada em baixas concentrações e se deve à inibição da síntese de ATP das bactérias (Michelotto, *et al.* 2008).

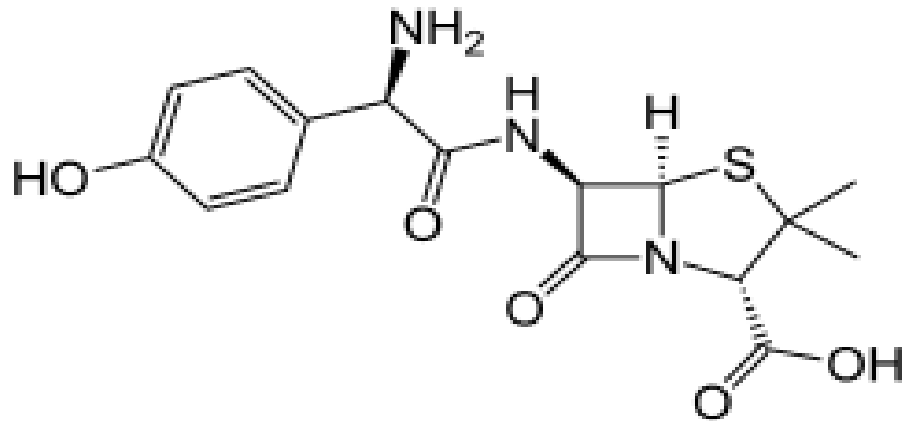
O estudo de Boaro *et al.*, (2019) utilizou diversas técnicas para avaliar a liberação e a incorporação da clorexida na nanopartícula de MMT. Utilizando

técnicas de grau de conversão e propriedades mecânicas, os resultados obtidos mostram que estatisticamente a clorexidina não interferiu tanto no grau de conversão e nas propriedades mecânicas. No mesmo estudo, a clorexidina mostrou um perfil de liberação controlada e efetivo em quantidade de 2,5; 5 e 10% incorporadas em nanopartículas de MMT adicionadas em compósitos a base de Bis-GMA e TEGDMA. Também mostrou atividade antimicrobiana em bactérias como *Porfironomas gingivalis*, *Streptococos mutans* e *Stafilococos aureus*. A incorporação de Clorexidina na MMT adicionada em compósitos odontológicos trouxe novas informações e metodologias para fundamentar estudos posteriores utilizando outros fármacos como a amoxicilina.

### 3.4 Amoxicilina

A amoxicilina (alfa-amino-p-hidroxibenzil penicilina), possui massa atômica de 365,4 g/mol, pode ser encontrada com três formulas moleculares diferentes, Amoxicilina anidra ( $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ ), Amoxicilina sódica ( $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ ) e Amoxicilina trihidratada ( $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ ). Na figura 5, pode-se observar a melécula de Amoxicilina anidra. A amoxicilina possui propriedades bactericidas contra patógenos Gram-positivos e alguns Gram-negativos. Os efeitos são devidos à inibição da síntese da parede celular bacteriana pela inibição das transpeptidases envolvidas na síntese do peptidoglicano. E por se tratar de um derivado da penicilina é classificada como um antibiótico  $\beta$ - lactâmico. Em um estudo prévio, Heffelfinger *et al.*, (2000), reportam resultados muito interessantes a respeito da susceptibilidade de bactérias aos tratamentos com antibióticos, concluindo que a amoxicilina deve ser usada em locais que o MIC (concentração inibitória mínima)  $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ , com 90% de sucesso terapêutico estimado. Estudos mostram a concentração inibitória da amoxicilina contra bactérias resistentes à mesma. Para a *Escherichia coli*  $>512 \mu\text{g} / \text{mL}$ , para *Klebsiella aerogenes*  $256 \mu\text{g} / \text{mL}$ , *Staphylococcus aureus*  $4-8 \mu\text{g} / \text{mL}$ , *Bacteroides fragilis*  $32 \mu\text{g} / \text{mL}$ . (Farrell, 1980; Petter Ball, 2007.)

**Figura 5:** Molécula de Amoxicilina.



O uso de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos surgiu a partir da 2<sup>a</sup> Guerra Mundial trouxe uma enorme contribuição aplicações médicas, devido sua alta eficiência e ao baixo custo e aos poucos efeitos colaterais. Apesar os antibióticos da família dos  $\beta$ -lactâmicos possuem grande eficácia no combate à maioria das bactérias, ao longo dos anos algumas bactérias se tornaram resistente ao uso desse medicamento. A resistência aos antibióticos é uma consequência inevitável adquirida pelo uso desenfreado de antibióticos. A partir de 1990, a resistência bacteriana e os impactos ambientais foram analisados. (Baggaley *et al.*, 1997; Wilke *et al.*, 2005).

A AMOX é um antibiótico aminopenicilâmico de amplo espectro, amplamente usado na medicina humana. É aprovada para o tratamento de doenças infecciosas bacterianas cujos patógenos são sensíveis ao antibiótico. É muito utilizada, entre outras coisas, para infecções respiratórias, infecções do trato urinário, infecções da pele, infecções no trato digestivo e infecções ginecológicas e abscesso dentários. (Peter Ball, 2007; Levenstein, 1981; Matsuda, Yasushi, 1981.)

Apesar de AMOX ter boa absorção oral e ampla atividade antimicrobiana, não é indicada como resinas de uso oral. Estudos clínicos mostram que a beta-lactamase havia aumentado dramaticamente, pelo fato que o código genético e a

produção de beta-lactamase das bactérias poderiam ser passados via plasmídeos. Essa transferência de beta-lactamase mediada por plasmídeo significa que a resistência poderia se espalhar muito rapidamente e por esse motivo poderiam ser passadas entre diferentes espécies e gêneros de bactérias. (Geddes, *et al*, 2007; White *et al.*, 2004; Datta, *et al.*, 1968.)

## 4 MATERIAIS

Os materiais utilizados para a elaboração dos compósitos estão identificados na tabela 1, mostrando o fabricante, origem e pureza dos reagentes, segundo mostra a tabela a seguir.

**Tabela 1:** Identificação dos reagentes e dos fabricantes da matriz polimérica.

<b>Reagente</b>	<b>Fabricante</b>
<b>Monômero</b>	BISGMA: (Metacrilato de glicidila bisfenol A). Lote: 688-51, Esstech, Essington, Pennsylvania, USA.
<b>Co-monômero</b>	TEGDMA: (Tetraetileno Glicol Dimetacrilato). Lote: PA02700018, Esstech, Essington, Pennsylvania, USA.
<b>Fotoiniciador</b>	Canforoquinona: (camphorquinone, 97%). Lote: S12442-127, Sigma-Aldrich, Germany.
<b>Propagador</b>	DMAEMA: (2- Dimetilamino etil metacrilato), 98%. Lote: 21608009, Sigma-Aldrich Chemie, Germany.

Na tabela 2 estão identificados a Amoxicilina e a MMT, que foram utilizadas para confecção do composto ativo, mostrando o fabricante, origem e pureza dos reagentes.

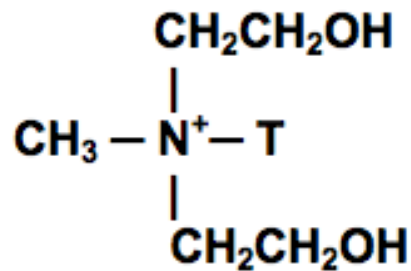
**Tabela 2:** Identificação dos reagentes e dos fabricantes da MMT e da Amoxicilina.

<b>Reagente</b>	<b>Fabricante</b>
<b>Carga</b>	Cloisite 30B: MMT natural Cloisite® 30B. Lote: 09C02AAX015, Southern Clay Products, Inc. 1212 Church Street Gonzalez, Texas 78629, USA.
<b>Fármaco</b>	Amoxicilina trihidratada (antibiótico). Comp. 97% Lote: 1711503301, India.

#### 4.1 Descrição da Nanopartícula Argilomineral Cloisite® 30B

A montmorilonita utilizada no seguinte trabalho foi a Cloisite® 30B, organofilizada pelo fabricante. De acordo com o fabricante a mesma possui a superfície modificada pelo Metil “tallow” bis-2-hidroetil amônio quaternário (MT2EtOH), na concentração de 90meq 100g<sup>-1</sup> de argila, ânion de cloreto, onde “Tallow” representa um grupo alquila com aproximadamente 65% de C18; 30% de C16; e 5% de C14), conforme demonstra a Figura 6 abaixo.

**Figura 6:** Metil “tallow” bis-2-hidroetil amônio quaternário (MT2EtOH).7.



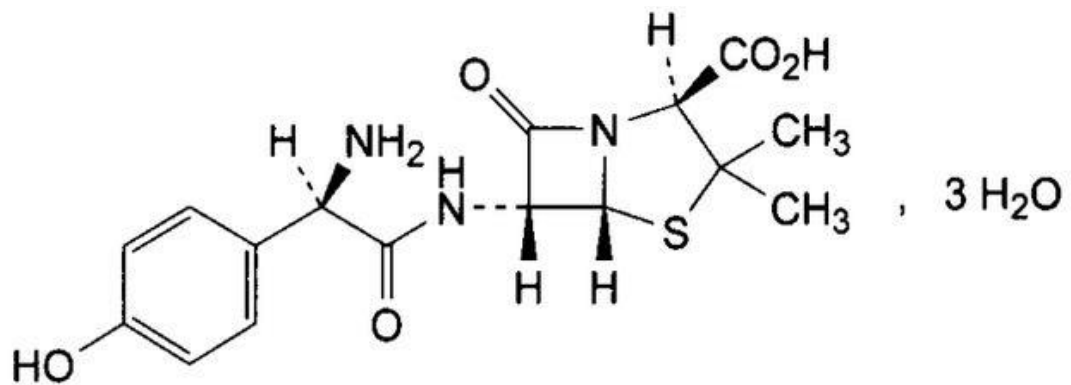
Ainda segundo o fabricante, a MMT Cloisite 30B® possui  $d_{001} = 18.5\text{\AA}$ , correspondente ao pico principal da Difração de Raio- X, valor que também indica o espaçamento interlamelar inicial. O fabricante também afirma que a área superficial da nanopartícula é de 750m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.



## 4.2 Descrição da Amoxicilina

A Amoxicilina utilizada no presente estudo foi a Amoxicilina trihidratada, com a massa molecular de  $MW=419,5 \text{ g mol}^{-1}$  considerando a massa molecular da água. A fórmula molecular da amoxicilina é de  $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ , na figura 7 pode-se observar a fórmula estrutural da amoxicilina.

**Figura 7:** Fórmula estrutural da Amoxicilina Trihidratada.



## 5 MÉTODOS

### 5.1 Incorporação de Fármaco (AMOX+MMT)

A incorporação de AMOX na MMT foi de 10% (9:1) foi baseada em um estudo prévio de Yu *et al.*, (2017). Primeiramente foram pesados 5g de MMT, que foram misturados em 250 mL de água mili-Q e agitados por 24 horas em um agitador magnético com placa de aquecimento microprocessada (Corning, Thermofisher – USA) em temperatura ambiente e em rotação de 80 rpm. Após 24 horas de agitação, foram adicionados 0,5g de AMOX que foram agitados por mais 24 horas. O pH da solução foi ajustado a 10, por meio da adição de NaOH, para solubilização do fármaco. Após as 48 horas de agitação total, o composto AMOX+MMT foi inserido em cinco tubos Falcon de 50 mL e centrifugados por 15 minutos. O precipitado resultante da centrifugação foi congelado por 48 horas e liofilizado. O composto AMOX+MMT resultante da liofilização foi macerado em cadinho de ágata e passado em uma peneira de 0,75  $\mu\text{m}$ . O composto MMT+AMOX foi armazenado em uma embalagem escura e protegido de umidade. A figura 8 mostra algumas etapas do processo de incorporação de AMOX na MMT.

**Figura 8:** Síntese de incorporação de fármaco na MMT, (A) agitação do composto, (B) pó macerado em cadinho de ágata, (C) pó sendo peneirado.



## 5.2 Elaborações dos Compósitos

Para elaboração da matriz polimérica foi levada em conta a massa molar do BisGMA e do TEGDMA, para que os mesmos tivessem o valor de massa molar semelhantes. A proporção foi definida em 35% de BisGMA e 65% de TEGDMA. A canforoquinona (foto iniciador) e o DMAEMA (propagador) foram utilizados em 0,5% em massa, de acordo com estudos prévios (Tanaka *et al.*, 1991; Campos *et al.*, 2016; Campos *et al.*, 2014). Na tabela 3 foi possível observar os valores utilizados para confecção do composto em massa (%). Os materiais foram pesados individualmente em uma balança eletrônica digital de precisão  $\pm 0,0001\text{mg}$ , marca Shimadzu/ modelo AY220 e misturados manualmente por aproximadamente 5 minutos.

Foram elaborados três grupos experimentais, o primeiro grupo composto somente de matriz polimérica, o segundo grupo contendo 9% de carga de MMT, e terceiro grupo, contendo como carga 10% MMT+AMOX. Os compósitos experimentais foram misturados manualmente, armazenados em frascos próprios, vedados e mantidos sob-refrigeração. Na figura 9 foi possível observar a aparência do composto final (Composto com 10% AMOX+MMT).

**Figura 9:** Compósito Experimental com 10% AMOX+MMT.



**Tabela 3:** Formulação dos grupos experimentais em massa.

	<b>BisGMA</b>	<b>TEGDMA</b>	<b>Canforoquinona</b>	<b>DMAEMA</b>	<b>Carga</b>
	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
<b>Controle 1</b>	35	65	0,5	0,5	-----
<b>Controle 2</b>	35	65	0,5	0,5	9 de MMT
<b>MMT+</b>					10 de
<b>AMOX</b>	35	65	0,5	0,5	MMT+AMOX

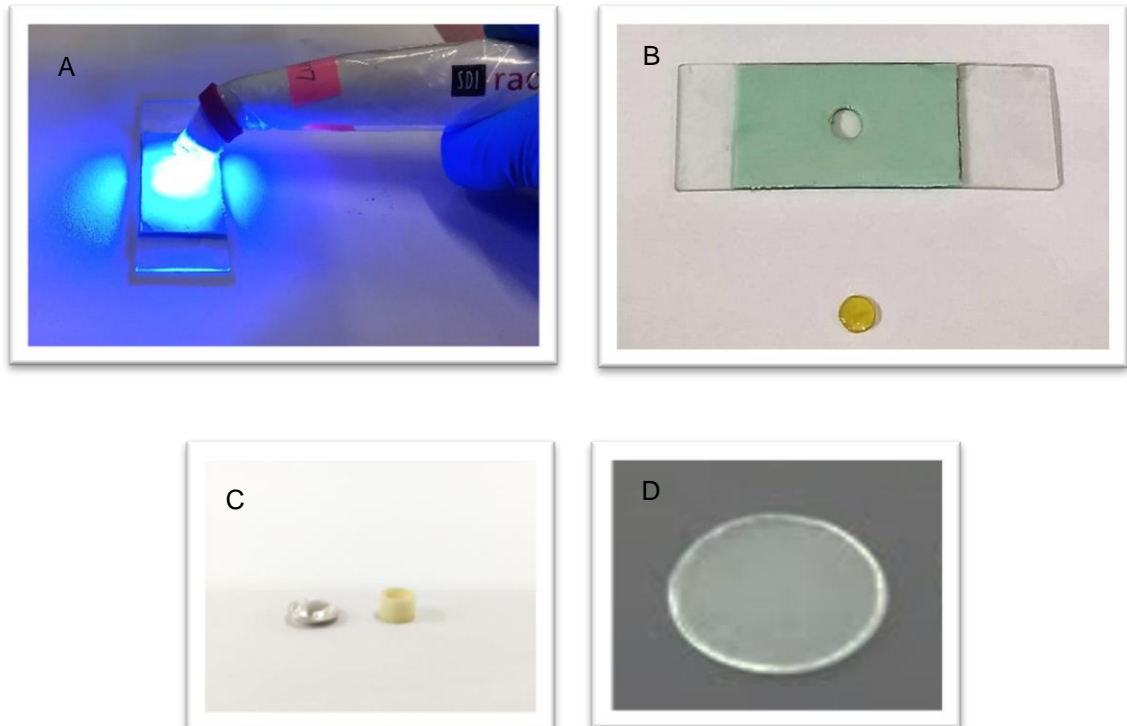
### 5.3 Elaboração dos Corpos de Prova

Os corpos de prova foram confeccionados de acordo com a exigência de cada método de caracterização. Para as técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Análise de Termogravimetria (TG) a massa foi definida em 10 mg, que foram inseridos nos respectivos cadinhos, de acordo com a análise a ser realizada, como mostra a figura 10 (C).

Em relação às análises em pó, para o FTIR, foram confeccionadas pastilhas em KBr, na proporção de 98% de KBr para 2% de material (em pó), como mostra a figura 10 (D). Para a análise de difração de raios-X, foram utilizadas amostras suficientes para preencher a lâmina de quartzo. Para a metodologia de espalhamento de raios-X a baixo ângulo – SAXS, também foram utilizadas quantidades necessárias para preencher a porta amostra.

Para as metodologias de liberação de fármaco, MEV, e espalhamento de raios-X a baixo ângulo – SAXS (amostras contendo matriz polimérica), foram utilizados matrizes de silicone com dimensões de 5 mm de diâmetro e 1 mm de espessura, sobre uma lâmina de vidro e então foram fotopolimerizados por 25 segundos ( $1200\text{mW/cm}^2$ ), como mostra a figura 10 (A e B). Corpos de prova na mesma dimensão e fotopolimerizados foram utilizados para obtenção de perda de massa e intumescimento.

**Figura 10:** (A) amostras sendo fotopolimerizadas; (B) Amostra polimerizada; (C) Cadinho de análise térmica; (D) Pastilha de KBr.



Para a obtenção das amostras para metodologia de MET, as mesmas foram cortadas por meio de um ultramicrotomo com faca de diamante. As amostras cortadas obtiveram espessura de 70 nm, o armazenamento da amostra foi por meio de um grid de 200 mesh. O equipamento utilizado para o corte de filmes finos foi o ultra-microtomo Leica Ultracut UCT Ultramicrotome, como mostra a figura 11.

**Figura 11:** Ultramicrótomo Leica Ultracut.

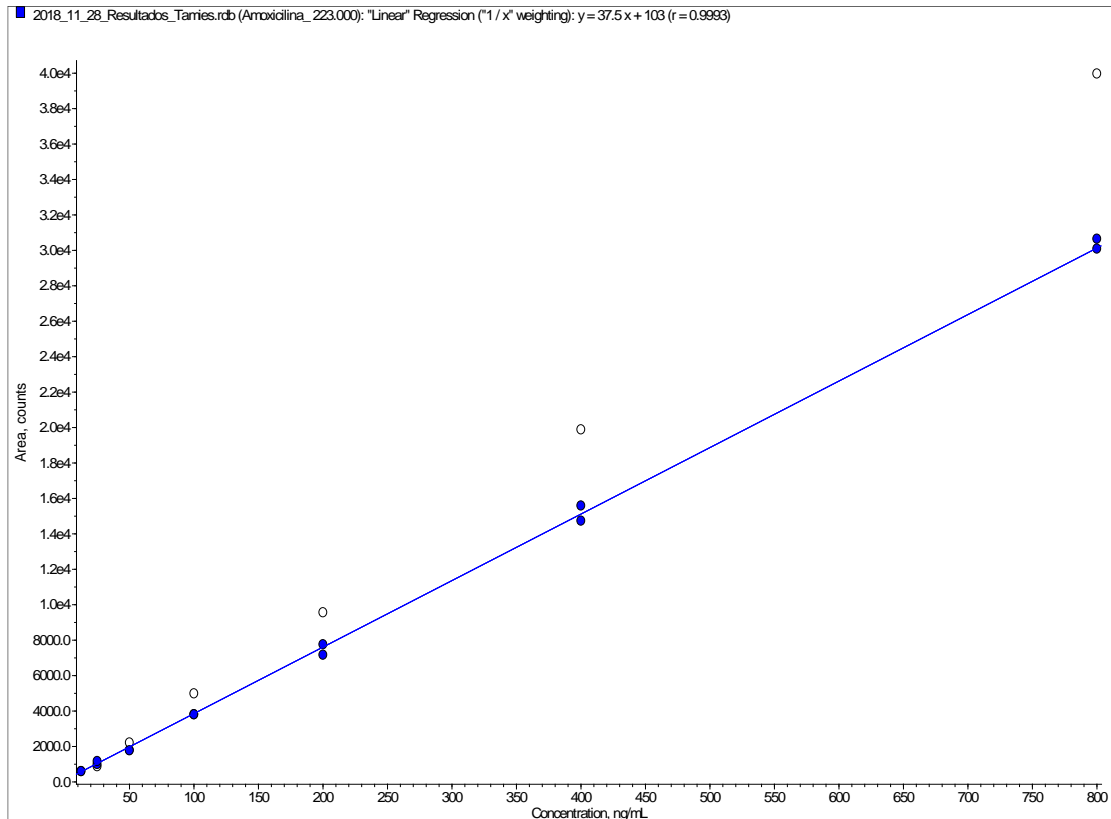


## **5.4 Liberação de Fármaco**

### **5.4.1 Método de Cromatografia Líquida Acoplada ao Espectrômetro de Massa- CLAE-EM/EM**

Inicialmente foram feitos corpos de prova (n=5) que foram introduzidos dentro de eppendorf contendo 2 mL de solução de saliva artificial (Saliform com pH 7), os mesmos foram agitados sob temperatura e agitação controlada por 22 dias (528h). A cada alíquota coletada, os corpos de prova foram submetidos a nova solução de saliva artificial para evitar saturação do meio. Para obtenção do perfil de liberação da AMOX foi feita uma curva de calibração e como branco foi utilizando uma solução feita com a saliva artificial (Saliform) e com o controle 2 (matriz polimérica e MMT), para evitar qualquer efeito de matriz. O método de validação foi baseado no estudo de Gaikwad, *et al.* (2013).

Foi preparada uma solução-mãe de AMOX, a partir dela foram feitas diluições seriadas, que foram analisadas por CLAE-EM/EM, para possível avaliação da liberação de fármaco da resina elaborada. Na figura 12 foi possível observar a curva de calibração, com  $r=0,9993$ .

**Figura 12:** Curva de calibração da AMOX por CLAE-EM/EM.

A quantificação da AMOX foi realizada por análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Agilent Technologies) acoplada ao espectrômetro de massa (AB Sciex) EM/EM (figura 13). Foi utilizado água, acetonitrila e ácido fórmico como fase móvel, fluxo de  $250 \mu\text{L min}^{-1}$  e coluna Synergi  $2,5 \mu$  Polar- RP 100. As análises foram realizadas no Laboratório CEMSA do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

**Figura 13:** Espectrômetro de massa CLAE - EM/EM.



#### **5.4.2 Método de Espectrofotometria UV - Vis**

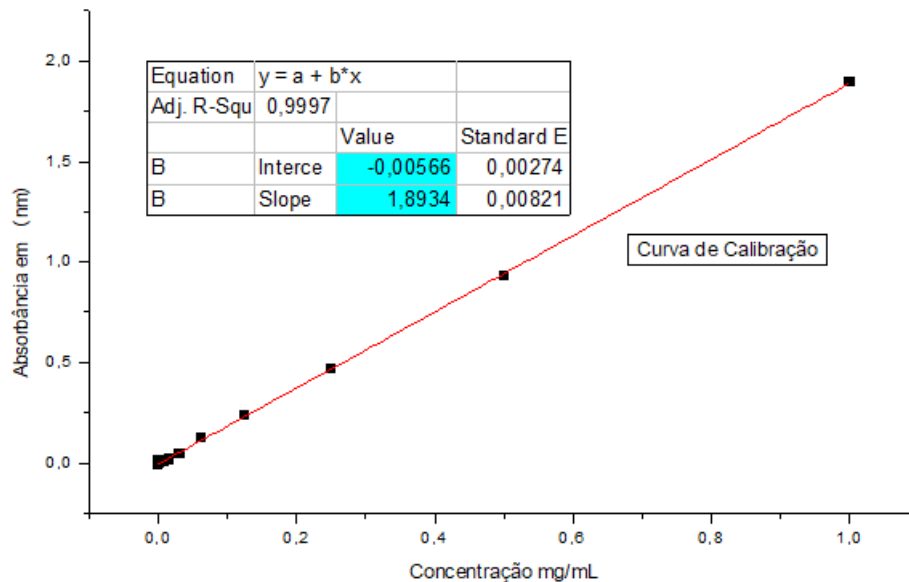
Os corpos de prova (n=5) foram previamente pesados, introduzidos em frascos contendo 5 mL de solução tampão salino (0,9%, pH 7, 50 mM) e então submetidos a incubação em um agitador sob temperatura de 37°C e agitação mecânica de 80 rpm. Alíquotas de 200  $\mu$ L foram coletadas nos tempos 0, 1, 2, 3 e 4 horas e, a cada 24 horas, durante 20 dias (de 0 a 480 horas). O ensaio foi realizado em tréplica para cálculo de média. De modo a permitir uma compreensão acerca do possível mecanismo de liberação, foram realizados, além da quantificação do AMOX.

Para obtenção dos dados de liberação de fármaco, inicialmente foi feita uma curva de calibração a partir de diluições seriadas do fármaco, em solução tampão de pH 7. A leitura da liberação foi realizada por absorbância em  $\lambda = 273$  nm, por espectrofotometria UV-Vis, sendo assim possível obter a curva de



calibração, bem como a equação da reta, de acordo com a de lei de Lambert Beer, como mostra a figura 14.

**Figura 14:** Gráfico da curva de calibração com a equação da reta.



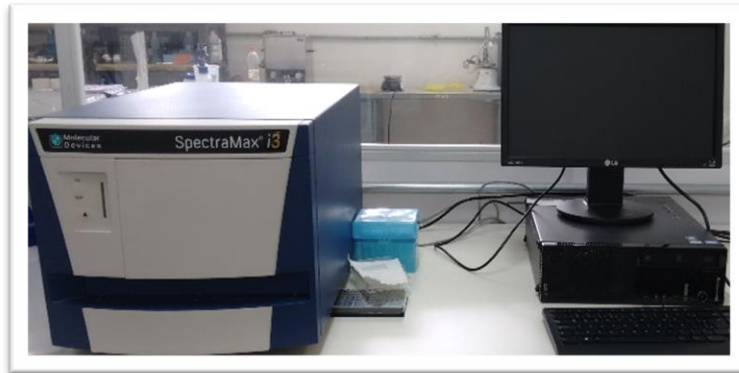
De acordo com os dados da curva de calibração, foi possível obter o valor de A e de B da equação da reta. O valor de **x** é a concentração desconhecida e o de **y** é a média das absorbâncias como mostra a equação 1.

**Equação 1:** Equação utilizada para cálculo de liberação de AMOX.

$$X = \frac{(Y+0057)}{1,8934}$$

A quantificação da AMOX por UV-Vis foi realizada em leitora de microplaca i3x Spectramax (Molecular Devices, USA), no Laboratório de Nanotecnologia do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP). Na figura 15 é possível observar o modelo do equipamento.

**Figura 15:** Espectrômetro de UV - Vis.



## 5.5 Intumescimento e perda de massa

Visando determinar o índice de intumescimento do material, os corpos de prova foram pesados antes de serem inseridos na solução tampão e na solução de saliva artificial. Após a última coleta do experimento de liberação, os espécimes foram pesados novamente para cálculo de intumescimento como mostra a equação 2.

**Equação 2:** Equação de intumescimento dos corpos de prova.

$$\% \textit{intumescimento} = \left[ \frac{(M_{inicial} - M_{final})}{M_{inicial}} \right] * 100$$

Decorrido o ensaio de liberação, os espécimes foram secados em estufa para a obtenção da massa constante (48 horas) sob temperatura de 50°C para cálculo de integridade do material. Os espécimes foram então submetidos à pesagem e a perda de massa foi calculada de acordo com a equação 3.

**Equação 3:** Equação de perda de Massa.

$$\% \textit{perda de massa} = (M_{inicial} - M_{final}) * 100$$

## 5.6 Análise de Termogravimetria – TG

Por meio da Técnica de TG, foram analisados os perfis de decomposição térmica dos compósitos fotopolimerizados e não fotopolimerizados. Também foram observados os perfis de decomposição da nanopartícula de MMT, do fármaco e do composto MMT+AMOX. A análise de termogravimetria foi realizada em programa de temperatura entre 25 e 800°C, na taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>, no equipamento Metter Toledo /SDT851 (figura 16), sob atmosfera de N<sub>2</sub>, no Laboratório de Polímeros e Nanotecnologia do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

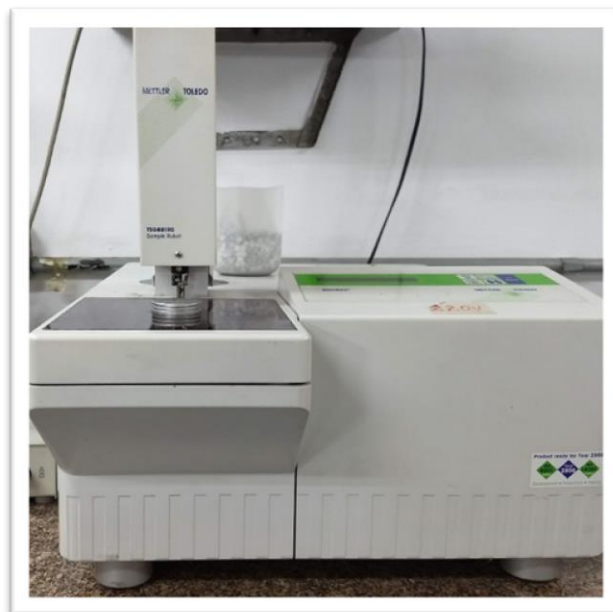
**Figura 16:** Equipamento de análise de termogravimetria.



## 5.7 Calorimetria Exploratória Diferencial- DSC

Por meio da metodologia de Calorimetria Exploratória Diferencial, foi possível monitorar os perfis de cura e pós-cura dos compósitos experimentais. Pela metodologia DSC observou-se a eficácia de polimerização comparando as amostras polimerizadas e não polimerizadas do mesmo grupo. A técnica também foi aplicada a MMT, a AMOX e ao composto de MMT+AMOX em pó. As amostras foram analisadas no aparelho DSC822e Mettler Toledo, como mostra a figura 17. No Laboratório de Polímeros e Nanotecnologia no Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

**Figura 17:** Equipamento de Calorimetria diferencial exploratória.



## 5.8 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

As análises foram realizadas a partir da elaboração da MMT pura+KBr, composto (MMT+AMX)+KBr e AMX+KBr na proporção de 2% de amostra em 98% de KBr. A leitura das amostras foi por transmitância por meio do aparelho ThermoNicolet 6700 – FTIR Espectrometer, com varredura utilizada de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ , no Laboratório de Polímeros e Nanotecnologia no Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

## 5.9 Difração de Raios -X - DRX

As análises de difração de raios - X foram realizadas, a fim de se avaliar uma possível ocorrência de incorporação da AMOX na MMT. Os valores do espaçamento basal “d” apresentados pelas MMT e pela AMOX foram identificados e comparados com a amostra composto (MMT+AMOX), possibilitando observar picos referentes aos dois componentes. As amostras foram colocadas em um porta amostras de quartzo, a leitura foi realizada com varredura de  $3$  à  $30^\circ$  e passo de  $0,01^\circ$  e contagem de tempo de 2 segundos. As análises de Difração de raios-X foram realizadas em um difratômetro de raios X, Rigaku modelo MiniFlex II. A fonte utilizada foi de  $\text{CuK}\alpha$  ( $= 1,54\text{ \AA}$ ) e filtro de Ni. As análises foram realizadas no Centro de Química e Meio Ambientes (CQMA), do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

## 5.10 Espalhamento de raios - X a baixo ângulo - SAXS

A técnica de SAXS foi utilizada para amostras em pó (MMT, AMOX e MMT+AMOX) e as amostras em compósito (controle 1, controle 2 e MMT+AMOX compósito). O objetivo dessa técnica foi observar mudança no perfil de espalhamento das amostras, aferindo a um possível evento de incorporação de AMOX na MMT e intercalação da mesma no compósito.

A estrutura das amostras também foi medida por espalhamento de raios-X de baixo ângulo (SAXS) com o equipamento Xeuss, da Xenocs. Esquemáticamente, o equipamento de SAXS utiliza o sistema Xenocs GeniX, que é formado a partir de uma fonte de raios X de microfoco de ânodo de Cu (comprimento de onda de raios X,  $\lambda = 1,5411 \text{ \AA}$ ), e possui um espelho Xenocs FOX para monocromatização e focalização do feixe, como mostra a figura 18. Possui dois conjuntos de fendas sem dispersão de Xenocs, para postergar a colimação do feixe principal; e um detector Pilatus 300K, da Dectris, para detecção e registro dos padrões de espalhamento bidimensional. O feixe colimado incidente tem seção transversal quadrada de  $0,8 \times 0,8 \text{ mm}$  na posição da amostra. As amostras foram feitas em modo de transmissão. O suporte da amostra e o precursor dos raios X incidentes foram colocados sob vácuo. A distância entre a amostra e o detector central do feixe foi de cerca de 80 cm, o equipamento foi calibrado com uma amostra padrão de behenato de prata.

As amostras foram analisadas diretamente, enquanto que as amostras em pó foram colocadas no meio de duas folhas de Kapton® (poliamida de alta resistência mecânica, alta estabilidade térmica e alta transmitância). As medições foram feitas à temperatura ambiente por 20 e 10 minutos, respectivamente, para os compósitos e amostras de pó.

Cada padrão de dispersão bidimensional medido foi reduzido através de integração azimutal a uma curva de intensidade dispersa em função do módulo de vetor de dispersão  $q = (4\pi \sin\theta) / \lambda$ , onde  $2\theta$  é o ângulo de espalhamento. Estas integrações foram embutidas em um 'software' python. A faixa  $q$  útil da configuração experimental, foi de  $0,0098 < q < 0,45 \text{ \AA}^{-1}$ . (Knudsen, *et al.* 2013;

Ashiotis, *et al.*, 2015). As análises foram realizadas no laboratório o Grupo de Fluidos Complexos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP).

**Figura 18:** Equipamento de Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS).



### 5.11 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiu observar a morfologia e a dispersão de carga superficial dos compósitos experimentais. Uma análise comumente utilizada para o estudo de estruturas superficiais dos materiais pela formação de imagens tridimensionais de alta resolução e profundidade de foco, sem a perda de nitidez. As análises foram realizadas no Microscópio Eletrônico de Varredura da marca PHILIPS, modelo XL-30 no Centro de Ciências e Tecnologia de Materiais (CCTM) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).

### **5.12 Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET**

Por meio da Microscopia Eletrônica de Transmissão foi possível observar a morfologia dos compósitos experimentais adicionados com a MMT e a interação da matriz polimérica em relação à nanopartícula. A partir da técnica foi possível observar se a MMT foi intercalada, esfoliada ou aglomerada no compósito. A microscopia foi realizada por meio do equipamento JEOL Electron Microscope – JEM 1010 do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP).



## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

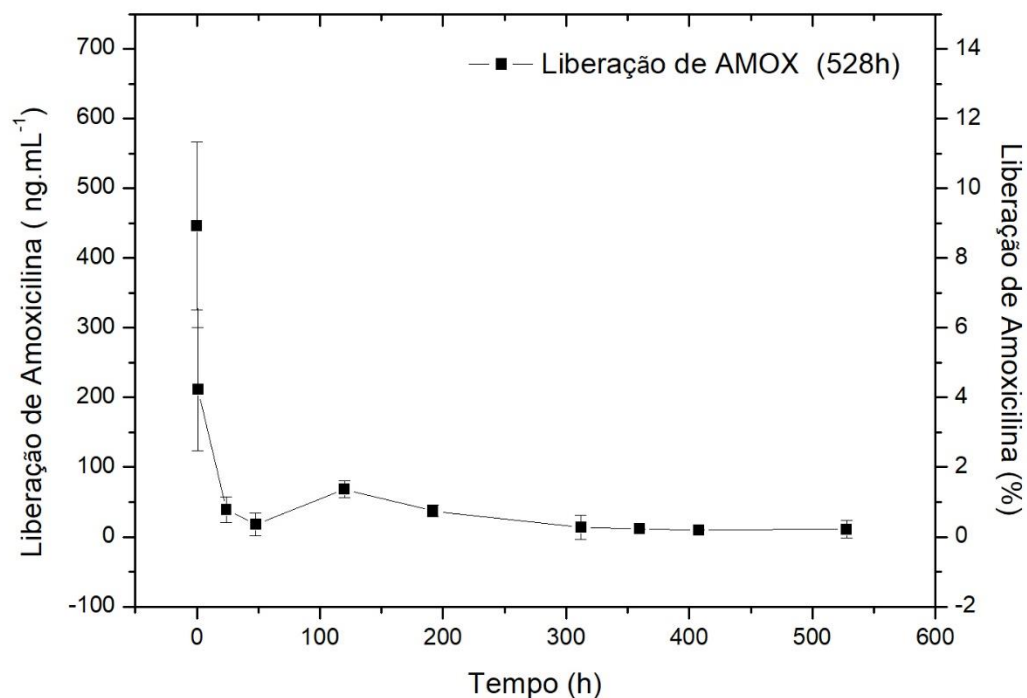
### 6.1 Ensaio de Liberação de Fármaco

#### 6.1.1 Liberação de Fármaco por CLAE - EM/EM

Por meio da técnica de CLAE-EM/EM, foi possível realizar a quantificação de AMOX liberada em meio de solução saliva, o que não foi possível por meio de UV-Vis mediante a interferência da sua composição na detecção a  $\lambda = 273\text{nm}$ .

A partir da técnica de CLAE-EM/EM foi possível calcular a liberação de AMOX, como é mostrada na figura 19, a curva de liberação de amoxicilina em  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  versus tempo (h) versus Porcentagem (%).

**Figura 19:** Curva da liberação de Amoxicilina em  $\text{ng}/\text{mL}$  528 horas.



Foi possível observar com o ensaio de liberação por CLAE-EM/EM que o maior pico de liberação ocorreu na hora 0. Na hora 0 observou-se uma média de  $446\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , (9%) de AMOX. Na hora 1, a média de liberação foi de  $221\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,

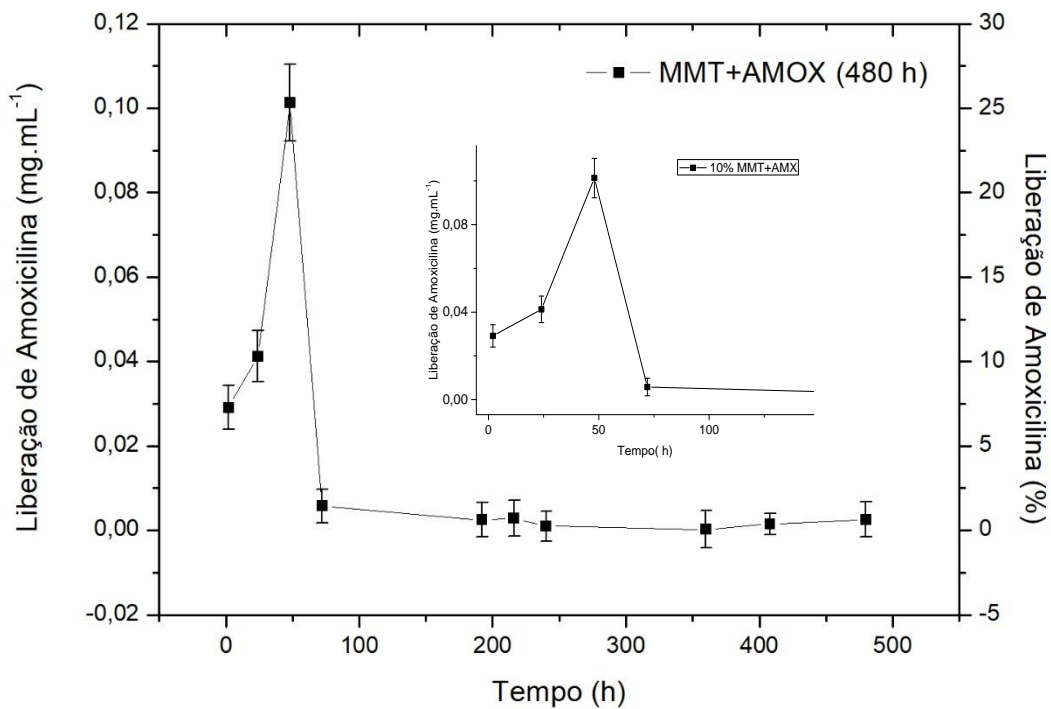
aproximadamente 4% de toda AMOX presente no material. A liberação em 24 horas foi de  $39 \text{ ng.mL}^{-1}$  e 0,2%, na hora 120 a liberação foi de aproximadamente 1,3% de AMOX. Em 192 horas a liberação foi de aproximadamente  $68 \text{ ng.mL}^{-1}$ , (0,7%). Após as 312 horas a liberação se manteve constante e próxima de  $10 \text{ ng.mL}^{-1}$ , (0%). Em 528h de experimento, pela técnica de CLAE-EM/EM, a liberação total foi em torno de  $868 \text{ ng.mL}^{-1}$ , 15,2% de fármaco.

A literatura reporta alguns trabalhos experimentais que registraram a liberação de fármacos e/ou substâncias antimicrobianas em resinas experimentais odontológicas, (Nhung, *et al.*, 2007; Meng, *et al.*, 2009; Boaro *et al.*, 2019). Seguindo a mesma linha de pesquisa, o intuito deste trabalho foi avaliar o perfil de liberação de amoxicilina a partir de uma nanopartícula que também servirá como reforço mecânico (Yu *et al.* 2017; Wang *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2014). Nas primeiras horas de liberação, foram notados os maiores valores de liberação de fármaco, que podem estar associados à AMOX que estava na superfície da amostra e quando em contato com o meio de saliva artificial se dissociou para a solução, como mostra a figura 19.

### 6.1.2 Liberação de Fármaco por UV - Vis

A liberação da AMOX em meio de solução salina tampão pH = 7 foi analisada por este método. A figura 20, mostra a curva de liberação de amoxicilina em  $\text{mg.mL}^{-1}$ , feita com a técnica de UV - Vis em função do tempo e porcentagem (%).

**Figura 20:** Curva da liberação de Amoxicilina em  $\text{mg.mL}^{-1}$  e porcentagem em um intervalo de tempo de 0 a 480 horas.



Na fase inicial do ensaio de liberação, em 0 horas, observou-se uma média de  $0,02 \text{ mg.mL}^{-1}$  de AMOX (7% do total inserido nos corpos de prova), correspondente ao fármaco localizado na superfície da amostra. Ao atingir 24 horas, a média de liberação foi de  $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ , correspondente a 10%. Após as 48 horas, houve um aumento repentino de liberação, de  $0,10 \text{ mg.mL}^{-1}$ , correspondente a 25%, liberando aproximadamente  $\frac{1}{4}$  de todo fármaco presente nos corpos de prova. A liberação de 72 até 216 horas, foi de aproximadamente

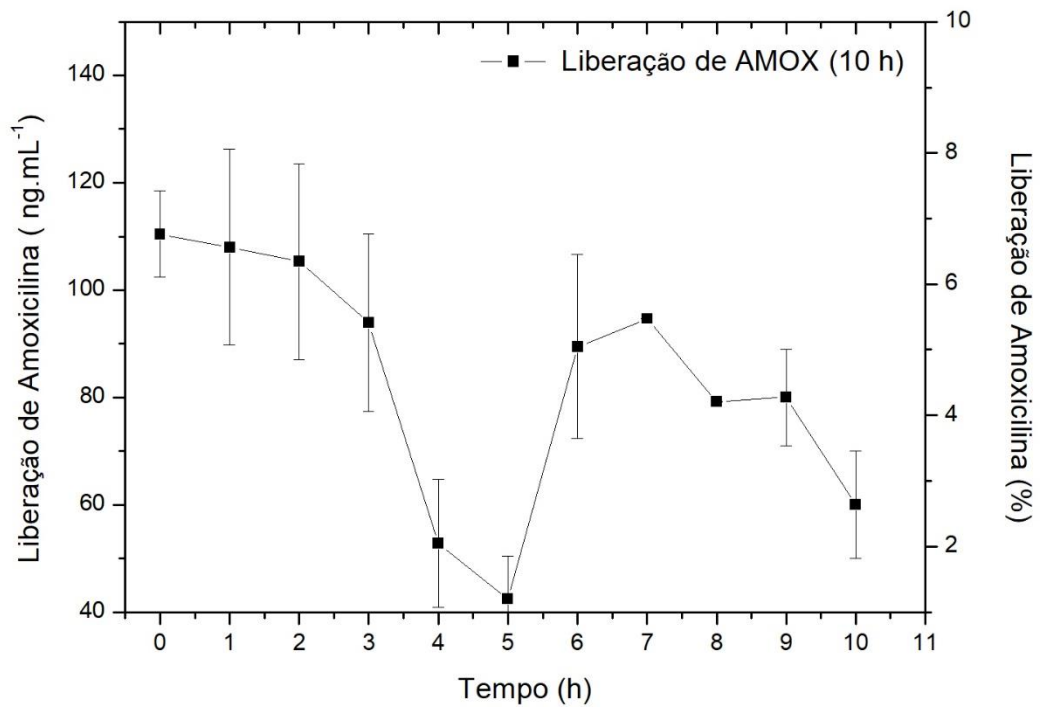
0,003 mg.mL<sup>-1</sup> correspondente a 1,4%. Após as 216 horas a liberação foi aumentando de forma lenta e gradativa até atingir 480 horas, onde a média de liberação foi de 0,001 mg.mL<sup>-1</sup> (0,68%). Após o término do experimento a média total de liberação de fármaco foi de 0,19 mg.mL<sup>-1</sup>, correspondente a 46%, indicando um forte potencial de liberação.

A liberação acelerada de fármaco em alguns materiais foi relatada em estudos. Um dos principais objetivos dos materiais carregados com fármacos é o controle do processo de liberação. Quando a AMOX é adicionada a nanopartículas de MMT o seu processo de liberação é de sobremodo controlado, assim como relataram Yu *et al.*, (2017), que em 75 horas de experimento observaram que foi liberado 45% de toda a Amoxicilina inserida na nanopartícula de MMT. Os autores atribuíram ainda o resultado às moléculas de AMOX que foram dissociadas das lamelas da MMT para a matriz sólida de poliuretano no caso.

No estudo de Boaro *et al.*, (2019), foram encontrados valores semelhantes de liberação total em um grupo com 2,5% de MMT+Cloroxidina utilizando os mesmos componentes para formação da matriz polimérica (BisGMA+TEGDMA), o valor total de liberação após 28 dias de liberação de fármaco em solução tampão foi cerca de 45% do montante total, valor semelhante ao de liberação total no presente estudo (46%), como mostra o gráfico 19.

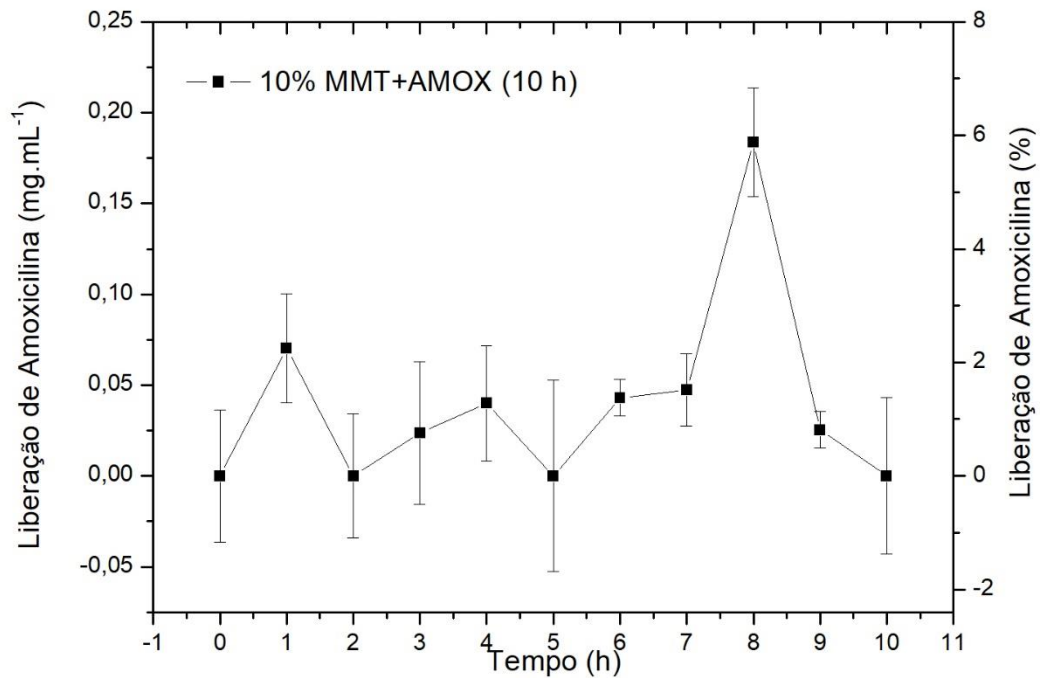
Comparando as duas técnicas, CLAE - EM/EM e UV - Vis, feitas em meios diferentes, em solução de saliva e solução tampão respectivamente, foram observados valores quantitativos diferentes, porém o perfil de liberação semelhante, dado pelo “burst” inicial nas primeiras horas observado nas duas técnicas. Para entender a cinética de liberação inicial, foram feitas novas liberações de 0 a 10 horas para avaliação do perfil de liberação “burst” inicial observado nas técnicas de CLAE-EM/EM e UV - Vis. A principal diferença dos dois experimentos foi devido ao meio de solução em que os corpos de prova foram imersos em solução saliva, como mostram as figuras 21 e 22 respectivamente.

**Figura 21:** Curva da liberação de Amoxicilina em  $\text{ng.mL}^{-1}$  em um intervalo de tempo de 0 a 10 horas por CLAE-EM/EM (solução de saliva).



Para a liberação de AMOX em 0 a 10 horas por avaliada por meio da técnica de CLAE - EM/EM, foi possível observar um perfil de liberação decrescente até 5 horas, liberando aproximadamente 29 % de toda amostra. Passadas as 5h de liberação observou-se nas horas 6 e 7 uma liberação aproximadamente 9%. Após 7 horas de experimento, houve uma segunda queda na liberação, liberando aproximadamente 12% de toda amostra. O valor total de liberação para esse experimento foi de aproximadamente  $916 \text{ ng.mL}^{-1}$  (50%).

**Figura 22:** Curva da liberação de Amoxicilina em  $\text{mg.mL}^{-1}$  em um intervalo de tempo de 0 a 10 horas, por UV - Vis (solução tampão).



Para a curva de liberação de AMOX de 0 a 10 horas avaliadas por UV-Vis, foi possível observar oscilações de liberação, variando de 0% até aproximadamente 6%. Observou-se nas horas 0, 2, 5 e 10 que o perfil de liberação de AMOX foi nulo. Porém horas 1, 3, 4, 6, 7, o perfil de liberação não ultrapassou 1, 5%. O “burst” de liberação foi observado em 8 horas de experimento, liberando  $0,183 \text{ mg.mL}^{-1}$ , em torno de 6%, como mostra a figura 22. O valor total de liberação para esse experimento, no período de 10 h foi de aproximadamente  $0,802 \text{ mg.mL}^{-1}$  (13%).

O processo de liberação controlada pode variar de acordo com a variação da quantidade de AMOX e MMT na matriz polimérica. O processo de liberação de fármaco em tempo maior pode estar relacionado ao fármaco intercalado dentre as lamelas da nanopartícula de MMT, porém o tipo de matriz também pode interferir

no perfil de liberação. (Yu, *et al.* 2017; Wang, *et al.*, 2008; Zheng, *et al.*, 2013; Boaro *et al.*, 2019).

A partir de todas as curvas de liberação de AMOX, foi observado que tanto na técnica de CLAE - EM/EM e na técnica de UV-Vis, o perfil de liberação de fármaco indica a capacidade da solução saliva em liberar a AMOX de maneira mais rápida da superfície da MMT enquanto que na solução tampão a liberação ocorre com uma cinética mais lenta, corroborando com a literatura e relacionando a liberação do fármaco com a maneira em que foi intercalado e o meio em que o composto/compósito foi imerso.

Os valores de liberação de fármaco foram próximos ou semelhantes aos valores que foram encontrados na literatura (Yu, *et al.* 2017; Wang, *et al.*, 2008; Zheng, *et al.*, 2013; Boaro *et al.*, 2019). De acordo com os autores, a variação na liberação está relacionada à quantidade de fármaco presente nos corpos de prova e também quantidade de fármaco que foram intercalados nas galerias da MMT. Um fator decisivo no processo de liberação de fármaco da resina, é o ambiente em que a mesma fará sua liberação, como meios líquidos ou sólidos. Em meio líquidos, como soluções tamponadas, as mesmas podem retardar o processo de liberação quando comparadas a solução de saliva artificial, como foi observado no presente trabalho. Ressalte-se que as liberações feitas em CLAE - EM/EM sendo em meio de saliva artificial e as liberações por UV - Vis em solução tampão apresentaram diferenças no perfil de liberação.

## **6.2 Perda de Massa e Intumescimento**

Os resultados são referentes as amostras submersas em solução de saliva (saliform) e solução tampão. As tabelas 4 e 5 mostram a perda de massa média, intumescimento e desvio padrão de ambos. Foram feitos ensaios para os grupos com o composto MMT+AMOX, bem como para o grupo formado apenas matriz polimérica e para o grupo adicionado apenas com MMT.

**Tabela 4:** Resultados referentes à perda de massa e intumescimento dos corpos de prova adicionados com o composto MMT+AMOX e dos grupos controles em solução de saliva artificial (saliform).

	<b>MMT+ AMOX</b>	<b>MMT</b>	<b>Matriz</b>
<b>Perda de massa (%)</b>	5,9 ( $\pm$ 2,1)	5,4 ( $\pm$ 1,6)	5,2 ( $\pm$ 1,2)
<b>Intumescimento (%)</b>	4,7 ( $\pm$ 1,4)	5,5 ( $\pm$ 0,4)	7,5 ( $\pm$ 2,5)

**Tabela 5:** Resultados referentes à perda de massa e intumescimento dos corpos de prova adicionados com o composto MMT+AMOX e dos grupos controles em solução tampão.

	<b>MMT+ AMOX</b>	<b>MMT</b>	<b>Matriz</b>
<b>Perda de massa (%)</b>	3,6 ( $\pm$ 1,2)	2,5 ( $\pm$ 0,5)	4,1 ( $\pm$ 0,09)
<b>Intumescimento (%)</b>	1,5 ( $\pm$ 0,3)	1,1 ( $\pm$ 0,5)	5,5 ( $\pm$ 0,3)

Em termos de perda de massa, os compósitos experimentais adicionados com o composto MMT+AMOX apresentaram média de perda de massa de  $3,6 \pm 1,2\%$  em solução tampão, já em solução de saliva os resultados foram  $5,9 (\pm 2,1)$ . O grupo adicionado com MMT pura, apresentou perda de massa média de  $2,5 (\pm 0,5\%)$  em solução tampão, já em solução de saliva foram de  $5,4 (\pm 1,6)$ . Para o grupo formado apenas com matriz (sem carga), a perda de massa apresentada foi de  $4,1 (\pm 0,09\%)$  em solução tampão, já em solução de saliva foi de  $5,2 (\pm 1,2)$ . De acordo com Cattani-Lorente, *et al.*, (1999) resinas compostas podem apresentar degradação química como resultado das propriedades de difusão de moléculas e íons dos monômeros residuais. Os valores observados nesse estudo corroboraram com um estudo prévio Cattani-Lorente, *et al.*, (1999), onde o grupo controle foi que apresentou os maiores valores referentes a perda massa, e isso pode ser justificado pela ausência de carga inorgânica. Em relação aos grupos adicionados com MMT pura e o composto MMT+AMOX em solução tampão, os valores para perda de massa foram menores, comparados ao grupo controle, revelando uma maior integridade e estabilidade da estrutura dos compósitos com carga. Já os valores observados em solução de saliva artificial, reforçam a ideia que a mesma interferiu diretamente na integridade de todos os grupos, apresentando valores próximos de perda de massa.

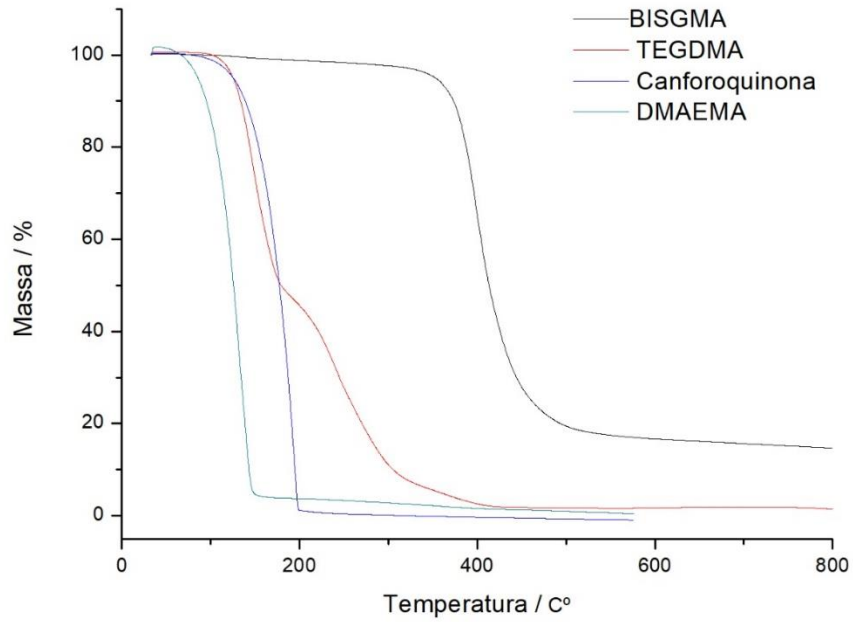


O índice de intumescimento obtido para o compósito adicionado com o composto MMT+AMOX foi de 1,5 ( $\pm 0,3\%$ ) em solução tampão, e em solução de saliva foram 4,7 ( $\pm 1,4$ ). Para o grupo adicionado com MMT pura, o grau de intumescimento foi de 1,1 ( $\pm 0,5\%$ ) em solução tampão, já em solução de saliva foi de 5,5 ( $\pm 0,4$ ). Para o grupo formado apenas com matriz (sem carga) o valor obtido de intumescimento foi de 5,5 ( $\pm 0,3\%$ ) em solução tampão e em solução de saliva, foi de 7,5 ( $\pm 2,5$ ). O grupo adicionado com MMT+AMOX e MMT pura, revelaram baixo perfil de intumescimento, valores essenciais para aplicações dentárias. O resultado obtido no estudo com solução também, confirmam os dados encontrados na literatura, indicando uma ligação estável entre as cadeias poliméricas, o que não permitiu à água intumescer as amostras. Esses resultados corroboraram com um estudo anterior que apresentou valores de intumescimento de 3,14 % ( $\pm 0,26$ ) até 5,19 % ( $\pm 0,93$ ) em resinas a base de BisGMA e TEGDMA, depois de imerso em água (Franke, *et al.*, 2009). O grupo formado apenas com matriz obteve maior valor de intumescimento quando comparado aos demais grupos, o que evidencia que a carga também interfere no índice de intumescimento, corroborando com as análises de perda de massa. De acordo com Santos, *et al.*, (2002), a absorção de água se dá principalmente pela matriz polimérica, afetando a sua estrutura. Para o grupo com saliva artificial, foi observado um valor maior de perda de massa e intumescimento quando comparado ao experimento realizado em solução tampão, esses valores foram associados às enzimas amilases presentes na solução.

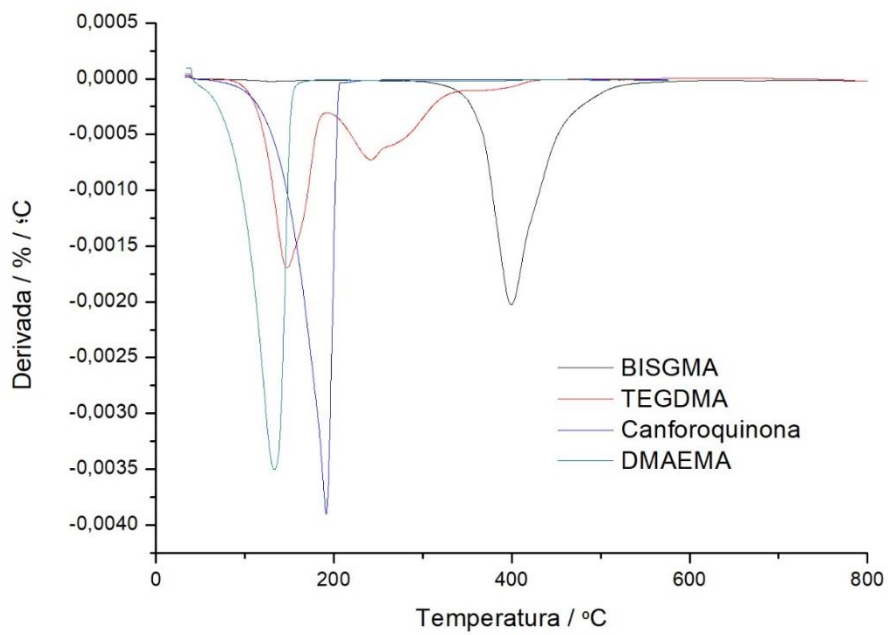
### **6.3 Análise de Termogravimetria - TG**

A análise de Termogravimetria foi utilizada para observar o perfil de decomposição dos reagentes individuais e do compósito como um todo. Na figura 23 foi possível observar um termograma referente aos componentes da matriz polimérica, monômero base, co-monômero, fotoiniciador e propagador de reação. A figura 24 é referente a derivada do gráfico anterior (figura 23). Na tabela 6, estão descritas as temperaturas de perda de massa e a porcentagem que representa cada perda.

**Figura 23:** Termograma dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA.



**Figura 24:** Derivada dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA.

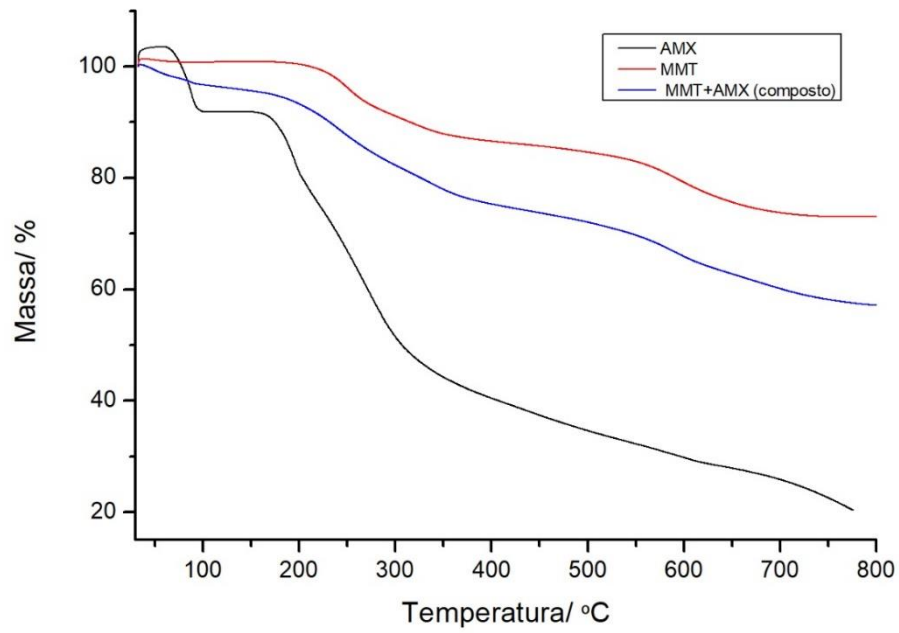
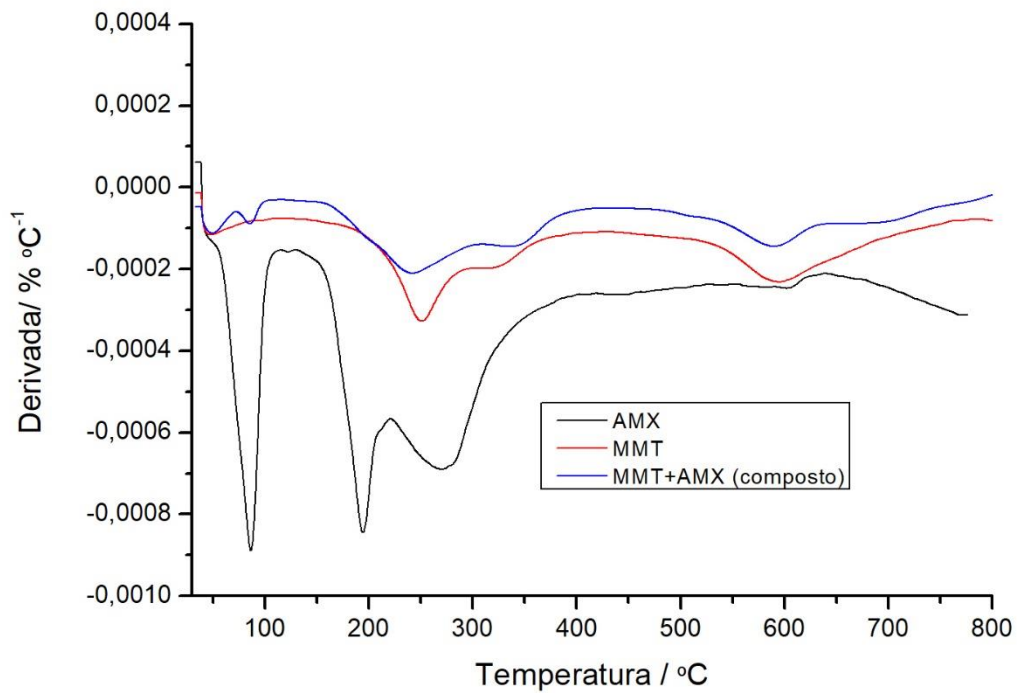


**Tabela 6:** Perfil de decomposição dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, Canforoquinona, DMAEMA.

<b>Componentes da matriz polimérica</b>				
<b>Componentes</b>	<b>T1</b>	<b>Perda de Massa (%)</b>	<b>T2</b>	<b>Perda de Massa (%)</b>
	<b>(°C)</b>		<b>(°C)</b>	
<b>BisGMA</b>	300 - 532	80	--	--
<b>TEGDMA</b>	150 - 200	53	200 - 420	45
<b>Canforoquinona</b>	200 - 205	100	--	--
<b>DMAEMA</b>	130 - 160	98	--	--

Pelo fato de o TEGDMA ser um monômero mais fluido, devido às cadeias alifáticas CH<sub>2</sub>, os seus átomos de carbono entraram decomposição, em uma faixa de temperatura mais baixa quando comparados os BisGMA. O BisGMA é um monômero mais viscoso, por conta da presença de grupos aromáticos, sua temperatura de degradação é mais alta que a dos demais componentes da matriz polimérica. A perda de massa total da Canforoquinona e do DMAEMA não ultrapassou 205°C por conta da estrutura, pelo tamanho de cadeia da complexidade das mesmas, (Discacciati, *et al.*, 2007).

A técnica de TG também foi utilizada para estudo sobre o perfil de decomposição da MMT, da AMOX e do composto. Na figura 25, pode-se observar um perfil de decomposição distinto para os três materiais, a figura 26 é referente a derivada da figura 25. Na tabela 7 estão descritos todos os eventos de decomposição, como também a porcentagem de perda.

**Figura 25:** Termograma da nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX.**Figura 26:** Derivada das curvas da nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX.

**Tabela 7:** Eventos de decomposição das amostras em pó: temperaturas e perda de massa percentual

Amostra em pó								
Componentes	T1 (°C)	Perda de Massa (%)	T2 (°C)	Perda de Massa (%)	T3 (°C)	Perda de Massa (%)	T4 (°C)	Perda de Massa (%)
<b>AMOX</b>	73/ 108	9	148/ 221	13	221/ 770	53	-	-
<b>MMT</b>	186/ 297	9	297/ 385	5	517/ 763	12	-	-
<b>MMT+AMOX</b>	50/ 101	4	163/ 303	14	303/ 390	6	510/ 653	9

O processo de intercalação também pode ser identificado pelo resultado do TG. O perfil de degradação do composto AMOX e da MMT foram bem distintos, como mostra a figura 25. O processo de intercalação pode ser observado pelo perfil de degradação do composto MMT+AMOX. Tanto para a MMT, AMOX e o composto MMT+AMOX, houveram perda de massa entre 50 a 108 °C, valor devido à volatilização da água livre contida no material.

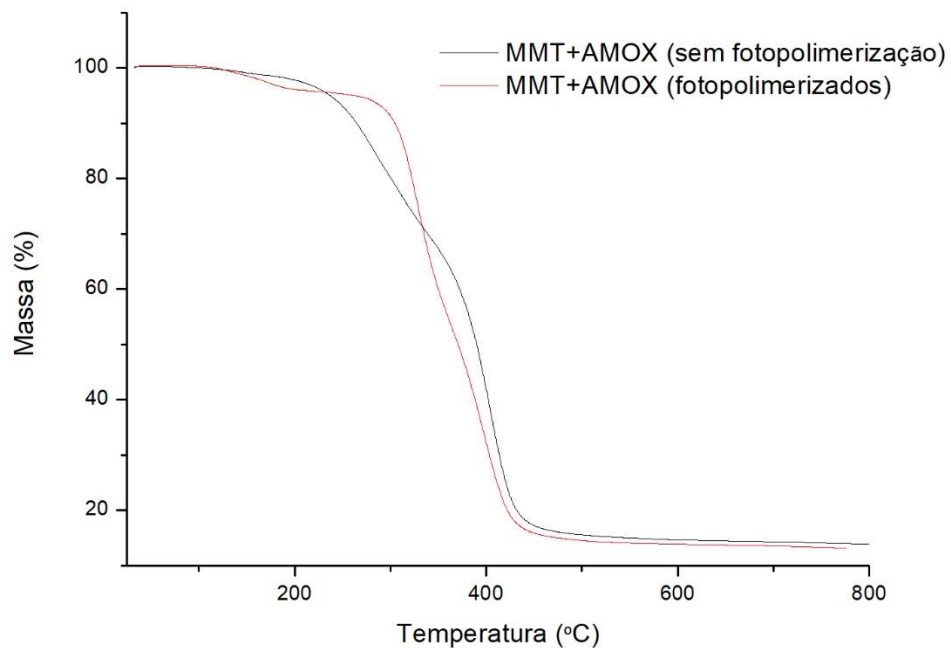
Os valores de perda de massa da MMT entre 297-385 °C, são referentes à decomposição do sal quaternário de amônio (organofilizado). No intervalo de temperatura de 517-768 °C ocorreu a decomposição correspondente à desidroxilação do aluminossilicato. (Santos 1989; Xie *et al.*, 2001).

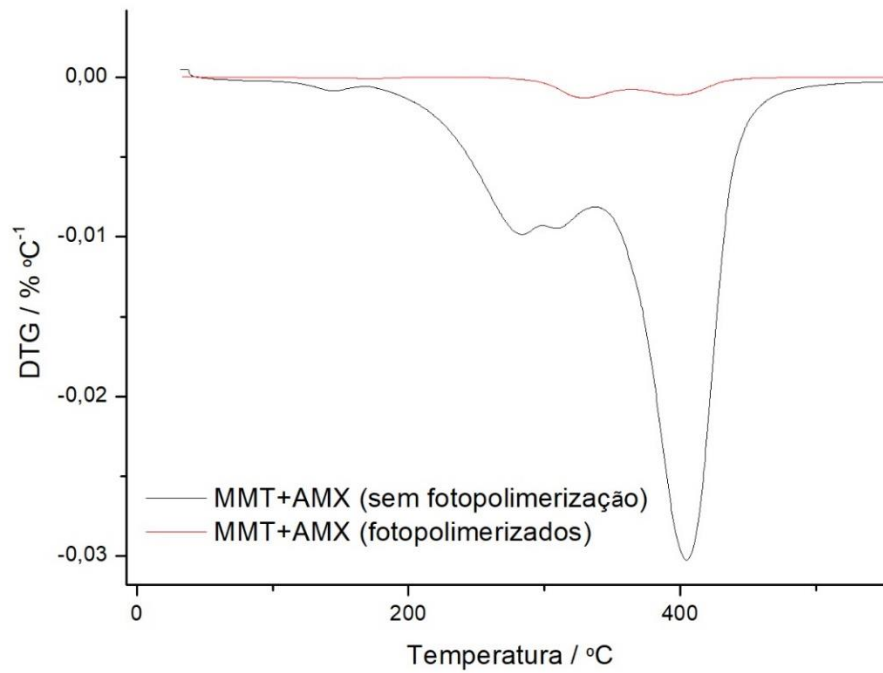
Para a AMOX, no intervalo de 73-108 °C refere-se à perda de água e o segundo evento de perda de massa, de 148-221 °C, foi referente à liberação de dióxido de carbono e o terceiro foi referente a liberação de amônia. No composto MMT+AMOX foi observado o surgimento de um novo evento de perda de massa entre 303-390 °C, que pode estar associado a intercalação da AMOX nas

nanopartículas de MMT uma vez que retarda a decomposição da AMOX. A molécula de AMOX pode ter sido protegida dentro das galerias da MMT, retardando a queima da AMOX (Yu, *et al.* 2017).

Foram feitas análises de TG para o compósito elaborado com todos os componentes já avaliados para observar o perfil de degradação da resina fotopolimerizada e da resina sem fotopolimerização. A figura 27 é referente ao gráfico da resina fotopolimerizada e sem fotopolimerização, e a figura 28 é referente à derivada DTG, da figura 27. Na tabela 8, estão todos os eventos de decomposição, igualmente com suas perdas.

**Figura 27:** Termograma das amostras fotopolimerizadas e sem fotopolimerização.



**Figura 28:** dTG das amostras fotopolimerizadas e sem fotopolimerização.**Tabela 8:** Valores dos eventos de perda de massa percentual e respectivas temperaturas.**Amostras Fotopolimerizadas e Não fotopolimerizadas**

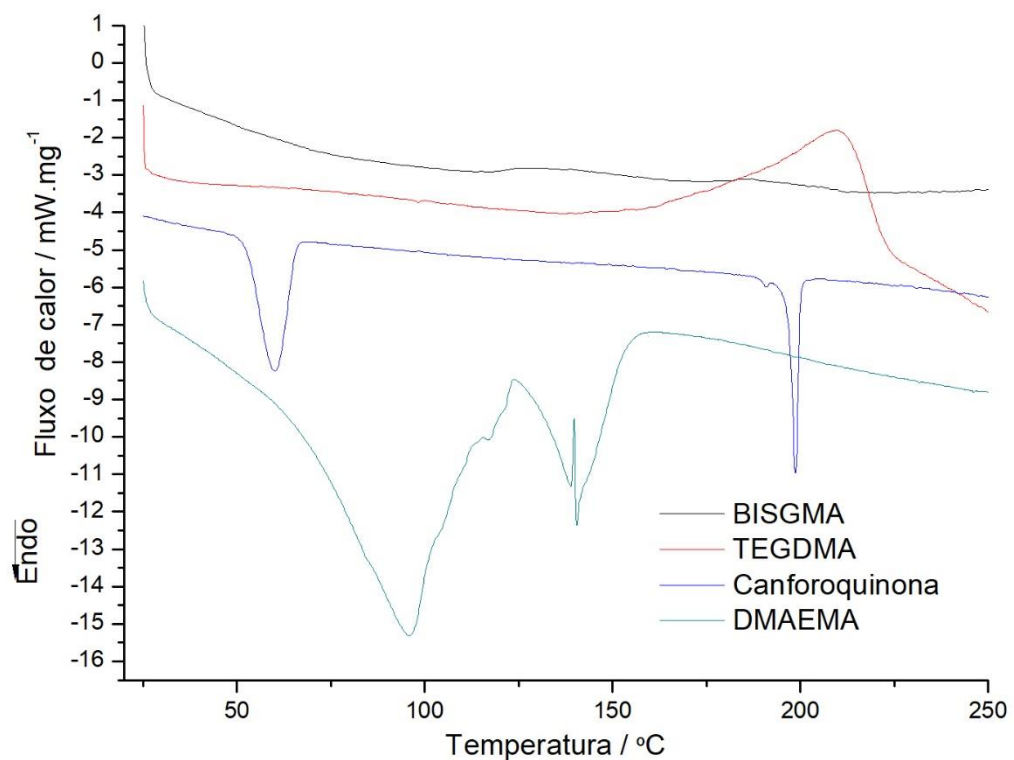
Amostras	T1 (°C)	Perda de Massa (%)	T2 (°C)	Perda de Massa (%)	T3 (°C)	Perda de Massa (%)	T4 (°C)	Perda de Massa (%)
<b>Não foto- polimerizada</b>	145/ 166	2	273/ 298	18	298/ 337	11	337/ 522	5
<b>Foto- polimerizada</b>	133/ 223	10	273/ 364	43	364/ 472	38	-- --	-- --

Para os compósitos fotopolimerizados e sem fotopolimerização adicionados com MMT+AMOX, a decomposição entre 145- 166 °C foi associada ao DMAEMA e canforoquinona. Todas as decomposições foram relacionadas à matriz orgânica (BisGMA e TEGDMA). Para o grupo fotopolimerizado o resíduo de decomposição foi de 15%, mostrando ainda restar matriz polimérica para decompor. Para o grupo não fotopolimerizado, foi possível observar resíduo de 9% valor coerente com a quantidade de MMT adicionada no compósito.

#### 6.4 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

Por meio da presente metodologia foi possível observar eventos entálpicos dos componentes analisados. Foram realizados DSC de todos os componentes da matriz polimérica experimental, como mostra a figura 29.

**Figura 29:** Curva de DSC dos componentes da matriz polimérica, BisGMA, TEGDMA, canforoquinina, DMAEMA.

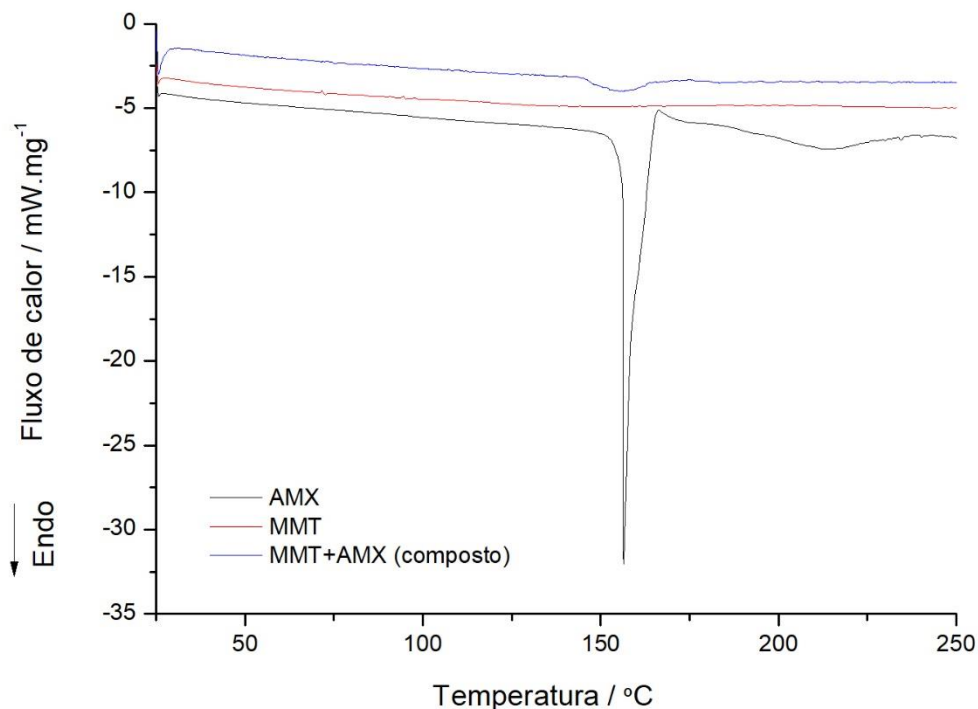




Observou-se um comportamento muito distinto para cada componente da matriz. Para o BisGMA foi observado pico exotérmico em 125-150 °C relacionado a reação de polimerização térmica do mesmo. Para o TEGDMA não foram observados eventos entálpicos até 250 °C. Observou-se para o DEMAEMA eventos endotérmicos em 95, 141 °C, que foram relacionados a perdas voláteis. Foi observado para a canforoquinona, eventos endotérmicos em 62, 200 °C, relacionados a fusão, perda voláteis e perda de massa por decomposição (Alarcon, *et al.*, 2017).

Foram feitas DSC para a MMT, AMOX e para o composto, o intuito dessa análise foi confirmar a presença da AMOX no composto, como mostra a figura 30.

**Figura 30:** Curva de DSC nanopartícula de MMT, AMOX e do composto MMT+AMOX.

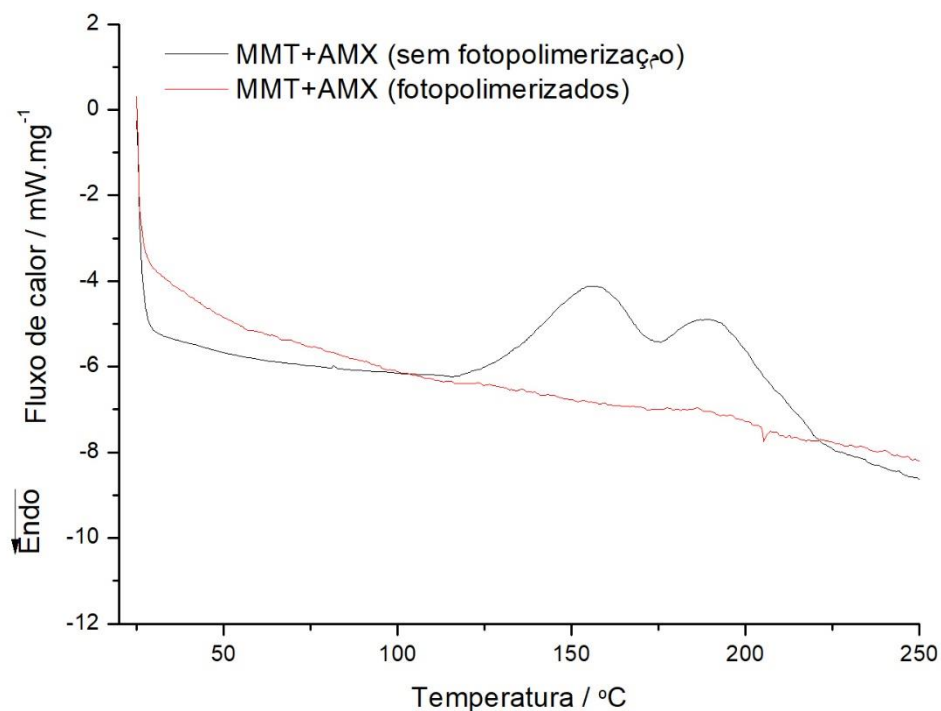


Na figura 30 foi possível observar que a Amoxicilina isolada mostrou pico endotérmico de fusão cristalina à 155° C. Já para a MMT, não foi observado nenhum evento. No composto MMT+AMOX, foi observado o evento de fusão cristalina da AMOX em torno de 155 °C, como foi observado na amostra pura. O

evento endotérmico confirma a presença da AMOX no composto, corroborando com a literatura (Yu, *et al.* 2017). Os resultados observados na técnica de DSC corroboram com os resultados obtidos através da técnica de TG, confirmando mais uma vez o possível evento de intercalação de fármaco nas nanopartículas de MMT.

A técnica de DSC também foi utilizada para o composto contendo todos os componentes já avaliados pela técnica de DSC. A figura 31 é referente aos compósitos experimentais fotopolimerizado e sem fotopolimerização.

**Figura 31:** Curva de DSC do compósito com MMT+AMOX fotopolimerizado e sem fotopolimerização.

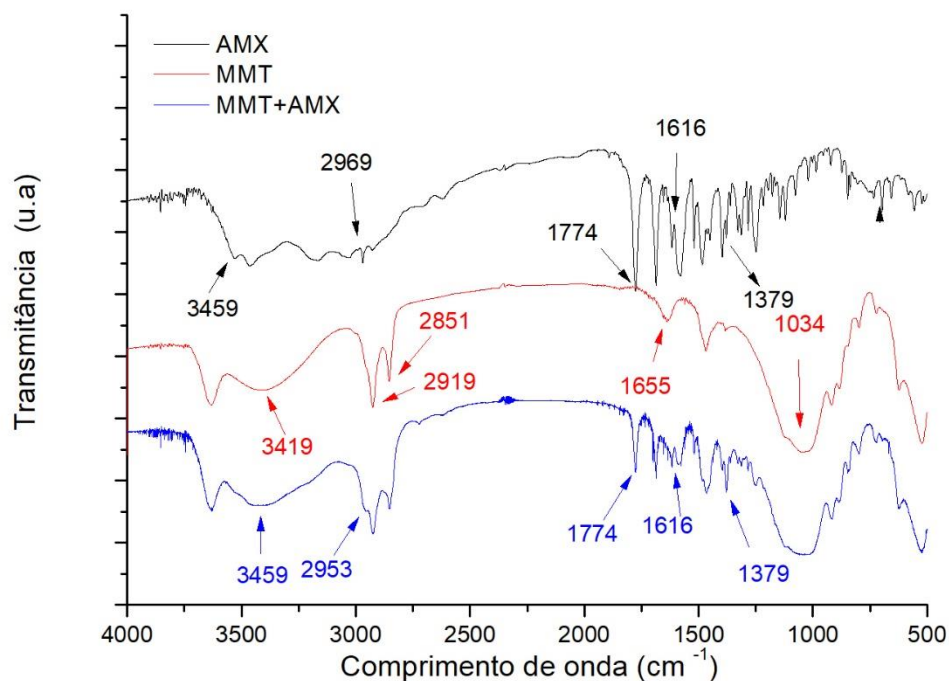


Quando comparadas as amostras fotopolimerizada com a amostra não fotopolimerizada, observou-se nas amostras fotopolimerizada a ausência dos picos exotérmicos entre 156-190 °C, que estão relacionados aos monômeros a serem curados. (Alarcon, *et al.*, 2017).

## 6.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

Foram realizadas espectrografias em transmitância por infravermelho da MMT, da AMOX e do composto, com o objetivo de mais uma vez comprovar a presença da AMOX na nanopartícula de MMT, conforme demonstra a figura 32.

**Figura 32:** Espectrografia em transmitância das nanopartículas de MMT pura, Amoxicilina e composto MMT+AMOX.



Na espectrografia por infravermelho foram observados picos característicos das nanopartículas de MMT, do fármaco AMOX e do composto MMT+AMOX. Pode-se observar para a MMT pura o pico 3419 cm<sup>-1</sup>, que representa a vibração de alongamento (OH). Os picos 2919, 2851 cm<sup>-1</sup>, referente às vibrações de estiramento de (CH), são referentes ao surfactante responsável pela organofilização, representando a estrutura (CH<sub>2</sub>) e (CH<sub>3</sub>). (Yu, *et al.* 2017; Wang *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2009).

Observaram-se nos gráficos os picos característicos da AMOX, sendo o pico 3459 cm<sup>-1</sup> atribuído ao estiramento do grupo OH e o pico 2969 cm<sup>-1</sup> referente

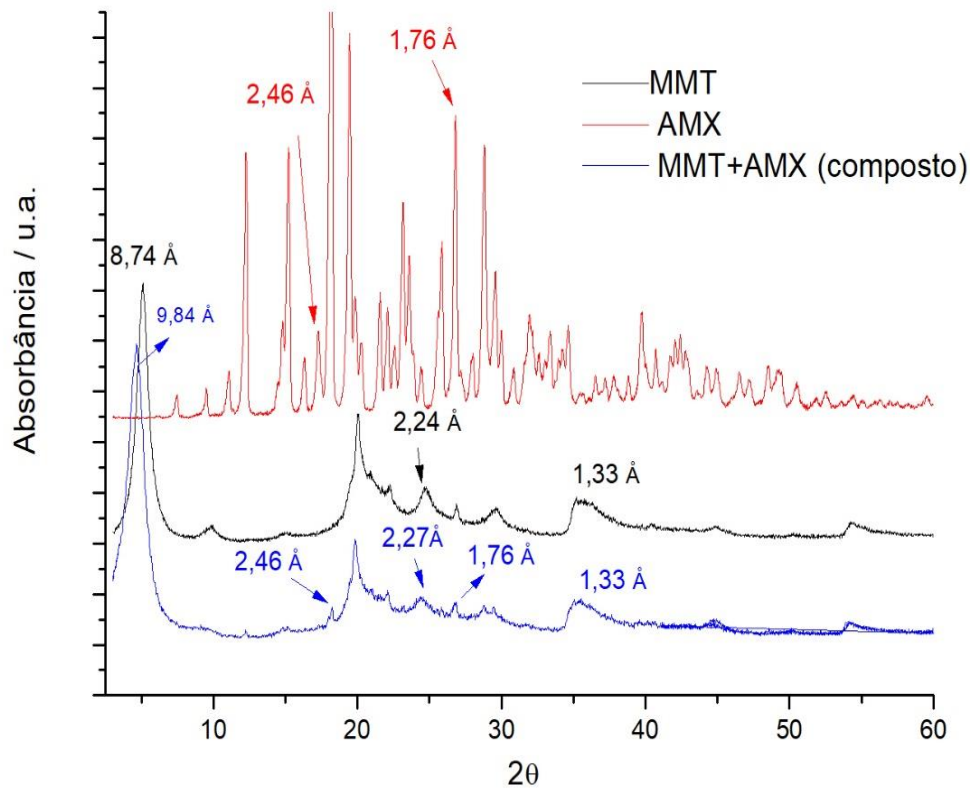
às vibrações de estiramento de (CH). Foram observados também os picos 1774  $\text{cm}^{-1}$  e 1616  $\text{cm}^{-1}$ , que podem ser atribuídos à banda de absorção do anel de benzeno, à vibração do grupo carboxila e à vibração de alongamento do grupo C-S da AMOX.

Para o composto MMT+AMOX foi observado um deslocamento do pico 2969  $\text{cm}^{-1}$ , para o pico 2953  $\text{cm}^{-1}$ , isso pode ser atribuído a interação da AMOX com a MMT. Foi notada a presença do pico 1774,1616 e 1379  $\text{cm}^{-1}$ , mais uma vez reforçando a presença da AMOX na MMT. No composto MMT+AMOX a curva adquiriu aspectos característicos tanto da MMT, quanto da AMOX, o perfil de curva está relacionado aos materiais presentes (Yu, *et al.* 2017; Zheng *et al.*, 2009).

## 6.7 Difração de Raios - X

Por meio da metodologia DRX foi realizado inicialmente a curva de raios - x da nanopartícula de MMT, seguido da AMOX e do composto, formado pela MMT e AMOX, como mostra a figura 33. Os ensaios foram feitos em uma angulação de 3° a 60 °, o resultado da caracterização por DRX foram obtidos através da equação de Bragg, onde:  $y = 2d \sin \theta$ , dentro da faixa de ângulo  $2\theta$ .

**Figura 33:** Curva de raios X da MMT, AMOX e MMT+AMOX (pó).



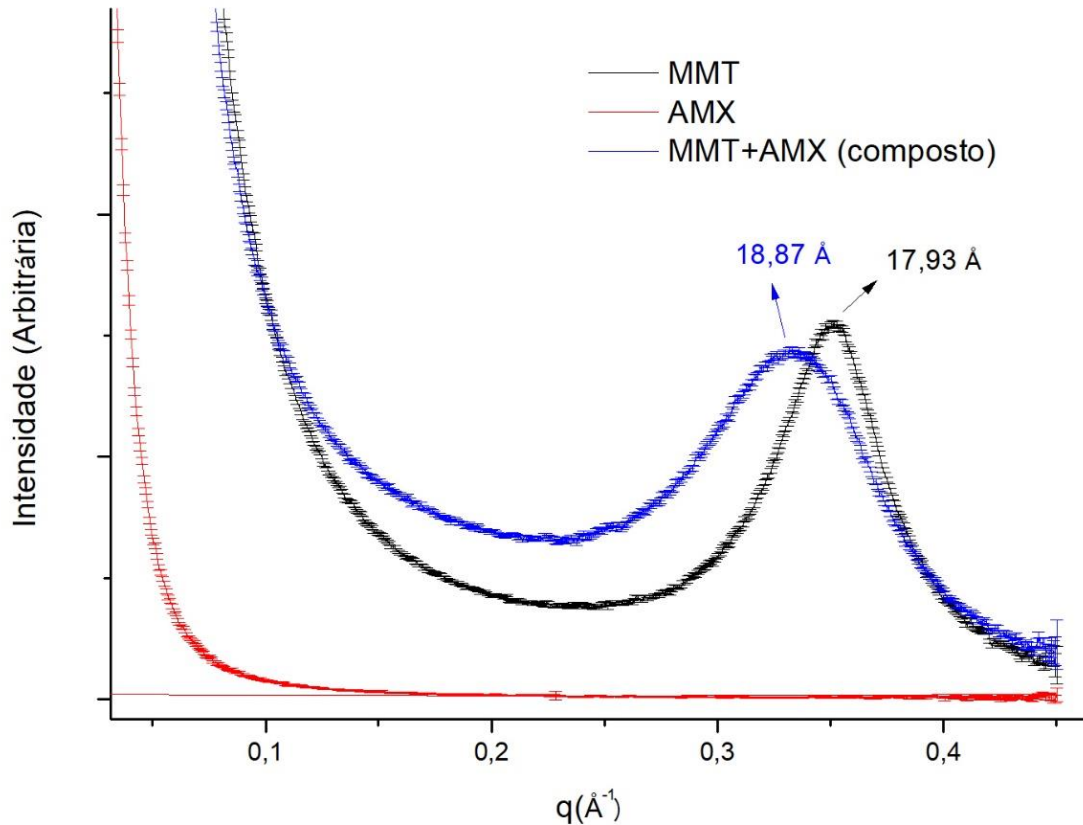
A curva de raios - x demonstrou picos de difração para a MMT em 8,74, 2,24 e 1,33 Å. Foram observados no presente estudo valores que são semelhantes aos valores encontrados na literatura e valores informados pelo fabricante. Para o grupo MMT+AMOX, foram notados valores de espaçamento basal de 9,84, 2,24 e 1,33 Å, e também picos de difração referente ao da molécula de amoxicilina, picos em 2,46 e 1,76 Å, referentes a AMOX. O composto apresentou maior espaçamento basal, valor de 9,84, enquanto a MMT pura apresentou valor de 8,74 Å, valor associado ao fármaco incorporado dentro das galerias de MMT. Também foi possível observar no grupo MMT+AMOX, picos referentes a AMOX, picos em 2,46 e 1,76 Å, comprovando mais uma vez a presença da AMOX nas galerias da MMT. Devido a interferência da matriz polimérica, não foi possível realizar análise do composto, porém a literatura demonstra que a nanopartículas de MMT apresentaram intercalação ou esfoliação

no composto a base de BisGMA e TEGDMA, fato mostrado pelo aumento do espaçamento basal (intercalação ou esfoliação da MMT no polímero), mesmo com a presença do fármaco Clorexidina. (Boaro *et al.*, 2019; Campos *et al.*, 2017)

## 6.8 Espalhamento de Raios - X a Baixo Ângulo - SAXS

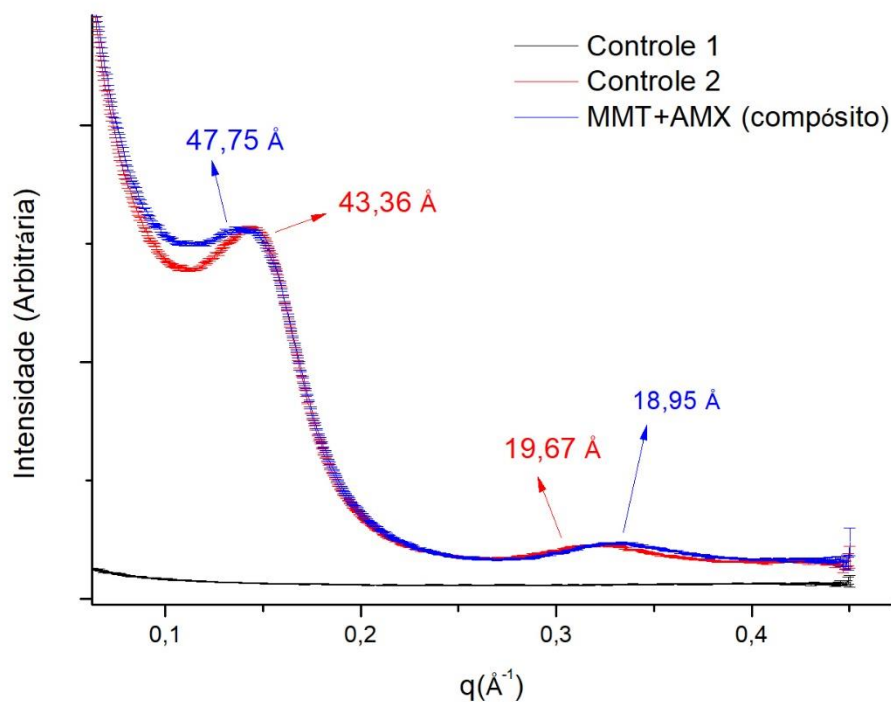
Com a técnica de SAXS, foi possível observar a incorporação de AMOX na MMT e intercalação da mesma no polímero. As distâncias “d”, entre regiões do material com densidades eletrônicas diferentes, foram determinadas em função do valor  $q = 2\pi/d$ . Os picos de espalhamento podem ser observados nas figuras 34 e 35.

**Figura 34:** Gráfico de Espalhamento da MMT, AMOX e MMT+AMOX.



Na figura 34 podem-se observar três curvas referentes ao fármaco, a MMT, AMOX e ao composto MMT+AMOX. A AMOX não apresentou espalhamento. A MMT apresentou um pico de espalhamento em  $q \sim 0,35 \text{ \AA}^{-1}$ , que correspondem a uma distância “d” de  $\sim 17,93 \text{ \AA}$  para o grupo com MMT+AMOX foi observado um pico de espalhamento por volta de  $q \sim 0,33 \text{ \AA}^{-1}$ , correspondente a “d” de  $\sim 18,87 \text{ \AA}$ .

**Figura 35:** Gráfico de espalhamento do controle 1 (matriz), controle 2 (MMT+Matriz) e MMT+AMOX (Compósito).



Pode-se observar na figura 35 foi possível observar que a matriz polimérica, não interferiu na técnica (efeito de matriz). Para a matriz polimérica com MMT, foi possível observar 2 picos de espalhamento, o primeiro pico foi em  $q \sim 0,14 \text{ \AA}^{-1}$ , com “d” de  $\sim 43,36 \text{ \AA}$  e o segundo em  $q \sim 0,31 \text{ \AA}^{-1}$ , com “d” de  $\sim 19,67 \text{ \AA}$ . Para o grupo MMT+AMOX (compósito), foi observado dois picos de espalhamento, o primeiro em  $q \sim 0,1 \text{ \AA}^{-1}$ , com o “d” de  $\sim 47,75 \text{ \AA}$ , e o segundo em  $q \sim 0,33 \text{ \AA}^{-1}$ , com “d” de  $\sim 18,95 \text{ \AA}$ .

A técnica de espalhamento de raios - X a baixo ângulo (SAXS), é muito utilizada para caracterização de argilas. Indica alterações de morfologia como

mudança de fase em função da composição, química dos sistemas, intercalação, esfoliação ou aglomeração. (Discacciati, 2005; Tolle e Anderson, 2002; Chin *et al.*, 2001; Song *et al.*, 2005).

Foi possível observar um padrão do espalhamento da MMT quando foi intercalada com o fármaco, houve um alargamento do pico, de  $\sim 17,93 \text{ \AA}$  para  $\sim 18,87 \text{ \AA}$ , esse evento foi associado ao sucesso da incorporação de AMOX nas galerias da MMT.

Para o controle 1 não foi observado qualquer evento de espalhamento, o mesmo não gerou efeito de matriz sobre a MMT e a MMT+AMOX. O controle 2 e MMT+AMOX (compósito), foram observados dois picos de espalhamento para ambas amostras, a diferença entre os ambos é de 1% de AMOX no compósito como um todo. Então as diferenças entre os picos de espalhamentos podem ser associadas a presença de AMOX. O primeiro pico observado para o controle 2 e para o grupo com MMT+AMOX foi de  $\sim 43,36 \text{ \AA}$  e  $\sim 47,75 \text{ \AA}$ . Observou-se que a AMOX foi capaz de aumentar a distância interlamelar da MMT no polímero. O segundo evento notado foi em  $\sim 19,67 \text{ \AA}$  para o controle 2 e para a MMT+AMOX (compósito), foi  $\sim 18,95 \text{ \AA}$ .

Foi observado nesse segundo pico de espalhamento um maior valor interlamelar para o grupo sem AMOX, esse resultado pode ser associado a espatulação do compósito, vale ressaltar que em resinas odontológicas com concentrações abaixo de 9% são capazes de esfoliar-se no polímero. (Discacciati, 2005; Discacciati, 2007).

Através dos resultados obtidos por meio das caracterizações de DSC, FTIR, DRX e SAXS, foi possível afirmar que houve intercalação da AMOX nas nanopartículas de MMT. Os resultados corroboraram entre si, mostrando por meio do surgimento de um evento que foi associado a intercalação da AMOX, no DSC foi possível observar o evento entálpico da AMOX no composto. No FTIR foi possível observar deslocamento e picos referente a AMX no composto. Para o DRX e o SAXS, foi possível observar a diferença e o deslocamento dos picos, mostrando mais uma vez o sucesso de intercalação da AMOX na MMT, bem como classificar a MMT em uma categoria de compósitos nanoestruturados como

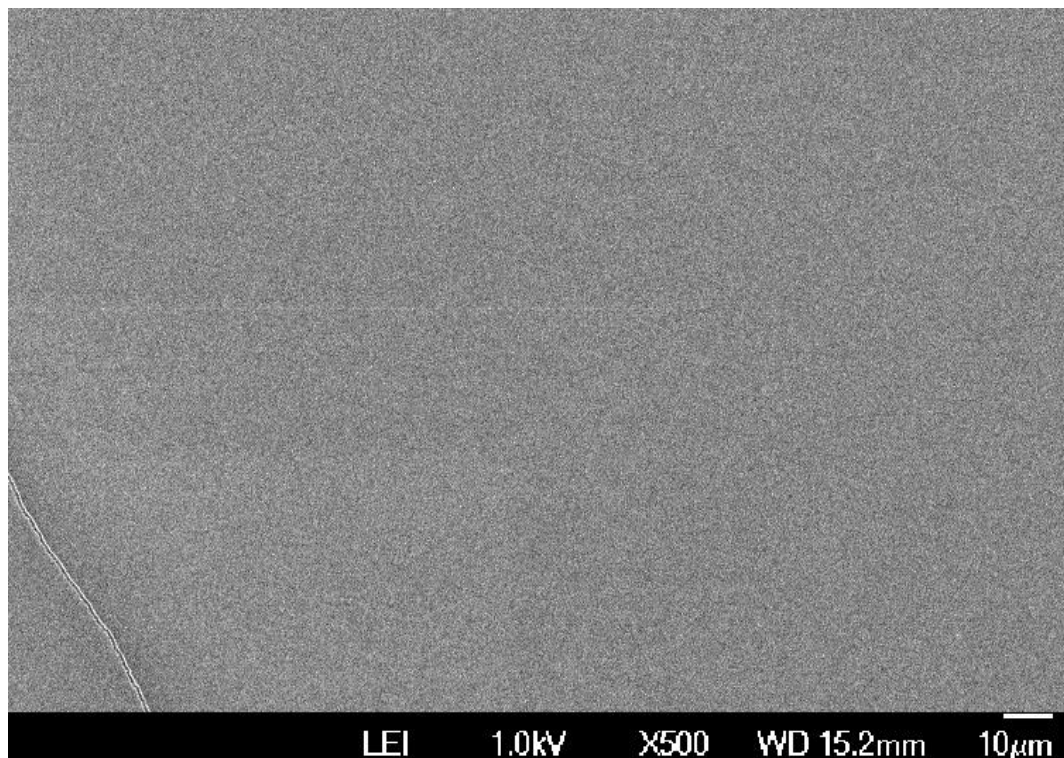


mostram as figuras 38, 39, 40 e 41. Dessa forma, através das análises decorridas no presente estudo, foi possível afirmar que as liberações são de fato da AMOX.

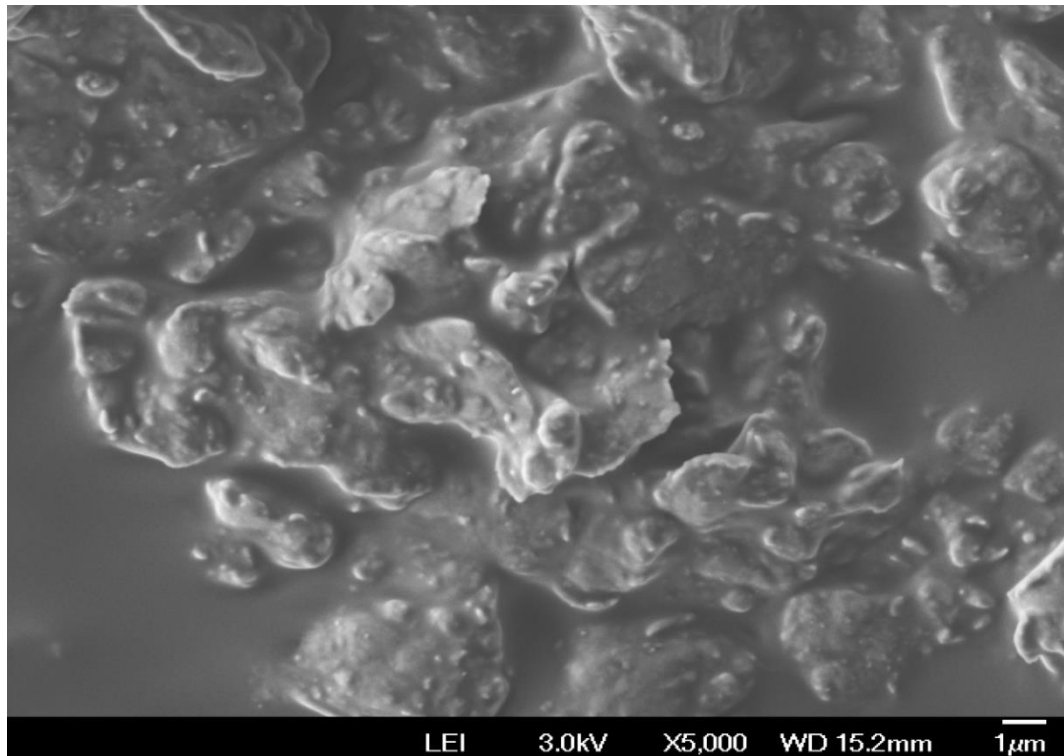
## 6.6 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

Por meio das micrografias foi possível avaliar as características e a morfologia da matriz experimental e das nanopartículas de MMT. Foram feitas micrografias da matriz sem carga (MMT) e da matriz com a MMT. As amostras foram dispersadas manualmente, porém foi possível observar aproximadamente o tamanho da partícula bem como a sua interação no polímero. A figura 36 é referente à matriz polimérica sem MMT. Já na figura 37 é possível observar partículas de MMT associadas à matriz polimérica.

**Figura 36:** Micrografia da matriz Polimérica sem carga com X500 de aumento.



**Figura 37:** Micrografia de mostrando a dispersão da nanopartícula de MMT na matriz com X 500 de aumento.



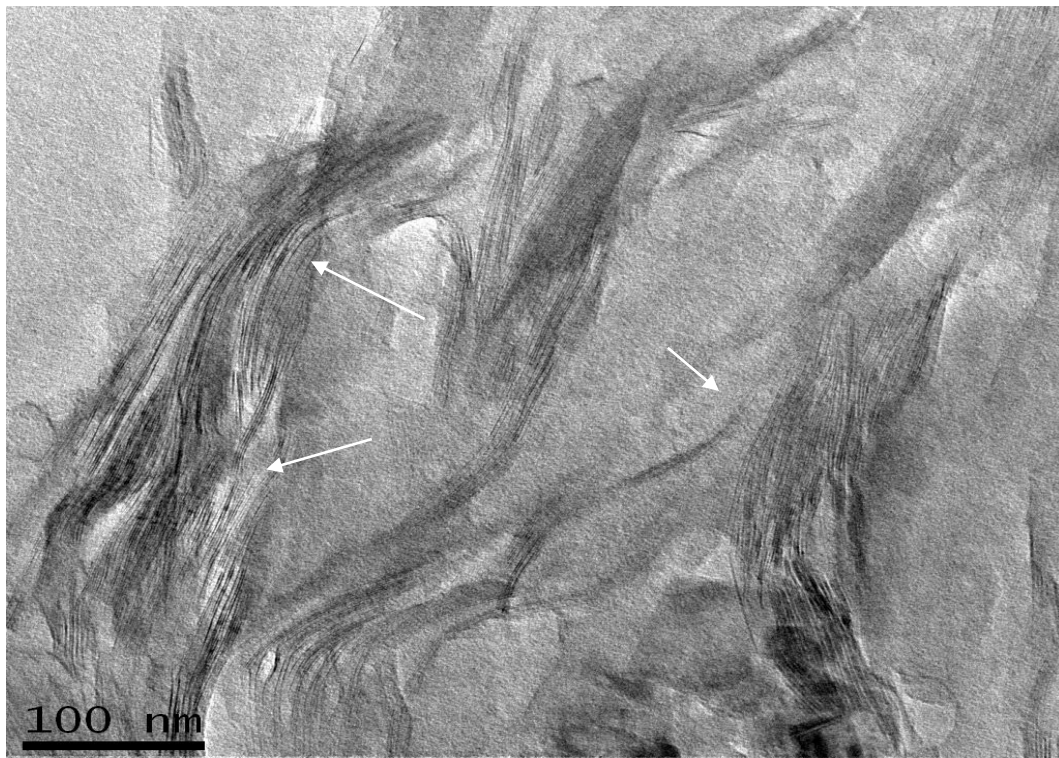
Através da técnica de MEV, foi possível observar a morfologia da MMT no polímero, com um aumento de 5.000X notou-se a característica de aglomerados, atribuído à MMT.

O tamanho da partícula inorgânica interfere diretamente na cinética da intercalação das partículas primárias. A velocidade da intercalação também depende do tamanho da partícula (Vaia, 1995). Apesar dos compósitos terem sido manipulados manualmente, foi possível observar uma boa interação como mostra, figura 36. Agrupamentos de partículas são notados, mostrando que a MMT tem tendência para aglomerações. Estudos anteriores relatam a formação de tactóides em compósito com carga superior 16 % de MMT em massa. Estudos sugerem que essa aglomeração está associada a espatulação dos compósitos. (Discacciati, *et al.*, 2007; Campos, *et al.* 2016).

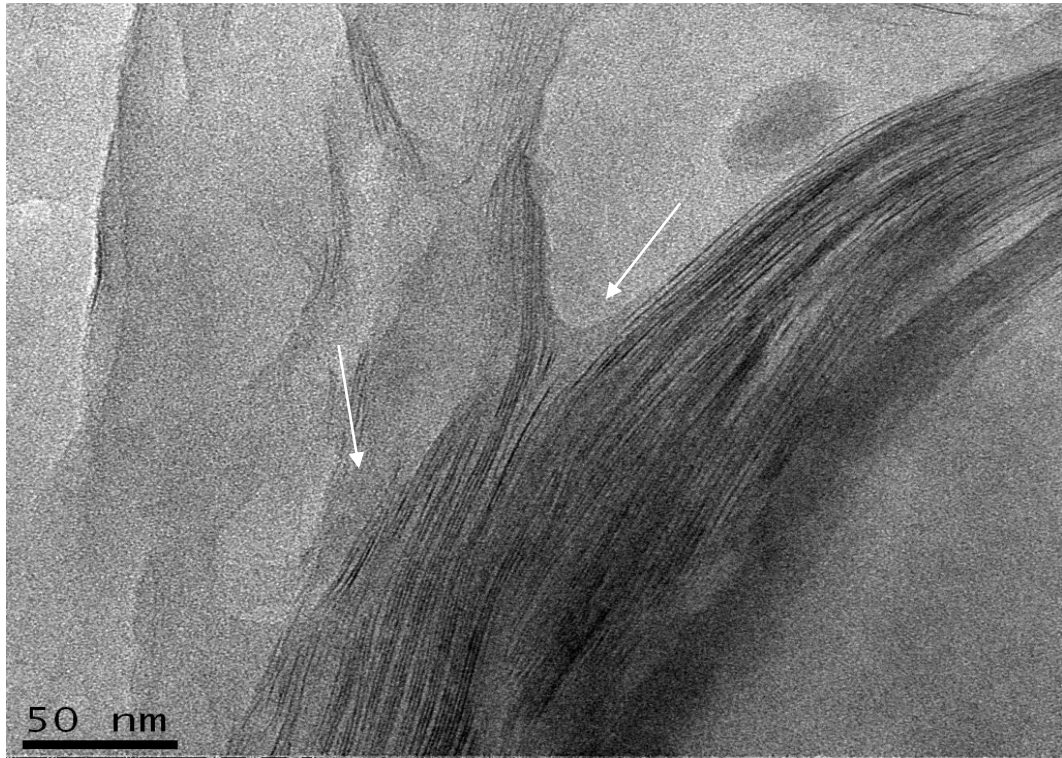
## 6.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET

O fenômeno de intercalação, pode ser observado por meio da Microscopia Eletrônica de Transmissão. Nas micrografias de MET pode-se observar partes da matriz polimérica entre as galerias da MMT, como mostram as figuras 38, 39, 40 e 41. As flechas indicam intercalação/esfoliação da MMT+AMOX na resina.

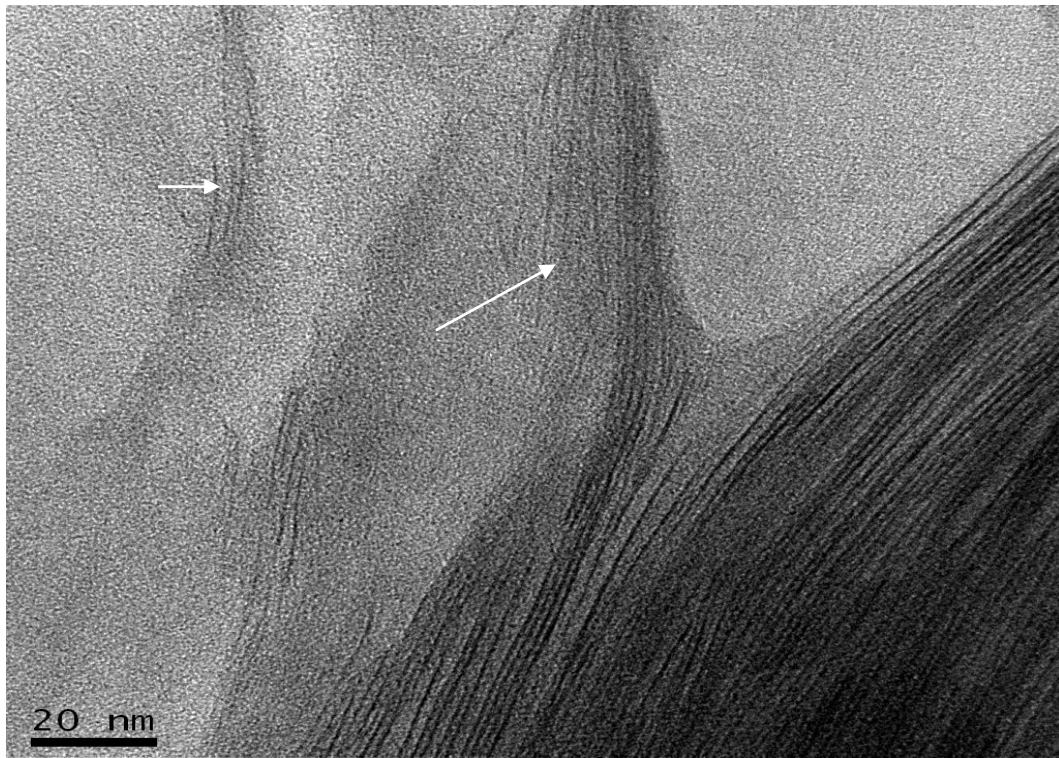
**Figura 38:** Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX em massa, em 100 nm.



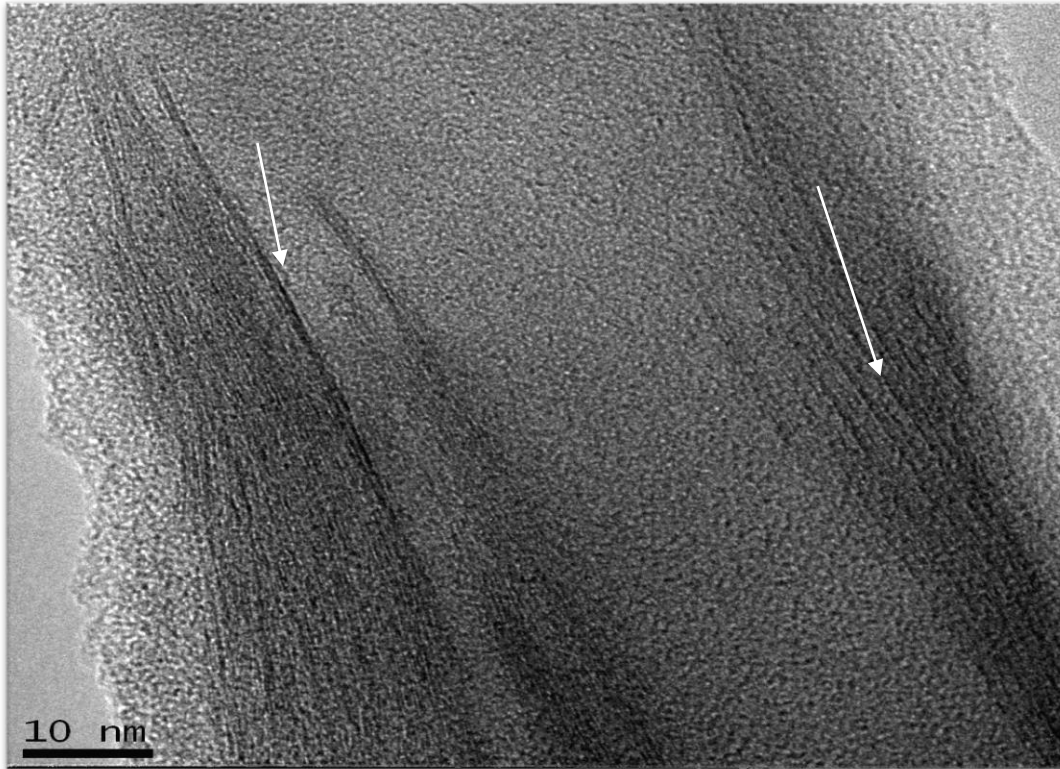
**Figura 39:** Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX em massa, com 50 nm em escala.



**Figura 40:** Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX em massa, com 20 nm em escala.



**Figura 41:** Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão do compósito experimental 10% de MMT+AMOX em massa, com 10 nm em escala.



O processo de organofilização da MMT é o que torna a mesma compatível com o polímero. O processo de mistura da MMT ao polímero está diretamente ligado à capacidade de intercalação da mesma no polímero. As imagens de TEM do presente trabalho corroboram com estudos realizados anteriormente, comprovando o processo de intercalação da argila no polímero, mostrando que o material é nanoestruturado. (Discacciati *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2016).

## 7 CONCLUSÕES

A avaliação da liberação de amoxicilina incorporada em nanopartículas de montmorilonita em compósitos à base de bisgma/tegDMA foi realizada em meio de solução de saliva artificial e solução tampão pH7. A liberação em solução de saliva possui uma cinética mais rápida que em solução de tampão salina. Os resultados podem ser atribuídos às moléculas de AMOX intercaladas nas galerias da MMT e que são liberadas em um tempo mais longo por dissociação dos espaços interlamelares da MMT na matriz polimérica. A solução de saliva artificial pode conter enzimas que aceleraram o processo de liberação de fármaco por degradação da matriz, resultado confirmado com a avaliação de perda de massa e intumescimento. Os resultados encontrados no presente trabalho corroboraram com os valores da literatura e os mesmos apresentam pouca variação de liberação. A liberação de AMOX está relacionada à quantidade de fármaco presente nos corpos de prova, à quantidade de fármaco intercalado nas galerias da MMT, a resina experimental e ao meio de liberação.

Os valores de perda de massa e intumescimento mostraram que a quantidade de carga inorgânica está diretamente relacionada à propriedade de perda de massa e de intumescimento, pois quanto maior a quantidade de carga, menor perda de massa e menor intumescimento, indicando uma interação positiva da MMT+AMOX com a matriz polimérica. O grupo matriz (sem carga / controle 1) foi o que apresentou a maior quantidade de perda de massa e o maior valor para intumescimento. Dessa forma, foi possível associar que a MMT tem capacidade de diminuir a perda de massa, e também de melhorar as propriedades de intumescimento do material promovendo a integridade. Também foi possível observar que os resultados obtidos em solução tampão demonstram maior perda de massa e maior intumescimento, resultado atribuído ao ataque das enzimas amilases ao material.

Por meio das análises de TG foi possível observar a temperatura de degradação de cada componente da matriz polimérica, da nanopartícula de MMT, do fármaco AMOX e do composto MMT+AMOX, e concluiu-se que os perfis de

degradação dos componentes da matriz polimérica estão diretamente relacionados à complexidade e ao tamanho das cadeias. O grupo MMT+AMOX, quando comparado à curva de decomposição da MMT e da AMOX, mostrou um perfil de decomposição intermediário entre a AMOX e a MMT, porém foi possível observar que a MMT estabiliza a degradação do fármaco em razão do surgimento de um novo evento (303 - 390°C), sugerindo que o fármaco esteja intercalado nas galerias da MMT. Para o composto já com todos os componentes, foram feitos TG do grupo fotopolimerizado e do grupo sem fotopolimerização, foi observado coerência com os resultados obtidos dos termogramas de todos os componentes feitos de maneira individual.

Por meio do FTIR foi possível observar um deslocamento do pico  $2969\text{ cm}^{-1}$ , para o pico  $2953\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído mais uma vez à intercalação da AMOX na MMT. A presença dos picos  $1774, 1616$  e  $1379\text{ cm}^{-1}$  no composto, reforçam a presença da AMOX na MMT.

Por meio da análise de DRX de SAXS foi possível observar os valores de espaçamento basal da MMT e da MMT+AMOX, podendo aferir que a AMOX foi incorporada nas galerias da MMT. As duas técnicas foram complementares uma a outra, confirmando o mesmo resultado de incorporação de AMOX. No DRX, também foi possível observar picos referentes aos da molécula de AMOX, confirmando mais uma vez o sucesso de incorporação de fármaco.

Por meio do MEV que houve a formação de pequenos aglomerados de MMT na superfície da amostra e isso pode ser associado à manipulação dos compósitos. No entanto as imagens de TEM demonstram locais de intercalação e esfoliação da MMT no nanocompósito.

Através das técnicas de TG, DSC, FTIR, DRX e SAXS, foi possível estabelecer a efetiva a intercalação da AMOX na nanopartícula de MMT. Por adição os resultados obtidos através das liberações feitas por UV - Vis e por GC - MS indicam perfis de liberação semelhantes pelas as duas técnicas, porém com cinética diferenciada em razão do meio em que ocorreu a liberação. O compósito como um todo foi avaliado por meio da técnica de TG, intumescimento, perda de massa, SAXS, MEV e TEM, mostrando como se comportou o fármaco quando

presente no compósito, quando possível visualização dos efeitos do mesmo, como indicou o SAXS, a ocorrência de maior espaçamento basal da MMT+AMOX quando no compósito.

Concluiu-se que o fármaco foi intercalado de maneira eficaz na MMT e que a potencial aplicação para o composto MMT+AMOX seria interna como para aplicação endodônticas, onde o fármaco não tem contato com a biota oral, liberando fármaco de maneira constante por um curto período de tempo, evitando possíveis implicações futuras.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARCON, R. T.; HOLANDA, B. B. C.; RINALDO, D.; CAIRES, F. C.; ALMEIDA, M. V.; BANNACHA, G. Synthesis, thermal studies and conversion degree of dimethacrylate polymers using new non-toxic co-initiators. *Química Nova*, v.40, n.4, 2017.

ALEXANDRE M.; DUBOIS P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials, *Materials Science and Engineering*, v. 28, p. 1-63, 2000.

ANUSAVICE, K.J; SHEN, C; RAWLS, H.R. - Phillips Materiais Dentários. Rio de Janeiro: *Elsevier* v.12, 2013.

ASHIOTIS, G.; DESCHILDRE, A.; NAWAZ, Z.; WRIGHT, J.P.; KARKOULIS, D.; PICCA, F.E.; KIEFFER, J. The fast azimuthal integration Python library: py FAI. *Journal of Applied Crystallography*, v. 4, p. 510-519, 2015.

ATAI, M.; WATTS, D.C. A new kinetic model for the photopolymerization shrinkage-strain of dental composites and resin-monomers. *Dental Materials*, v. 22, p. 785-791, 2006.

BAGGALEY, K.H., BROWN, A.G., SCHOFIELD, C.J. Chemistry and biosynthesis of clavulanic acid and others clavams. *Natural Product Reports*, v.14, n. 4, p.309-333, 1997.

BALL, P., The clinical development and launch of amoxicillin/clavulanate for the treatment of a range of community-acquired infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v. 30, p. 113-117, 2007.

BEYTH, N.; DOMB, A.J.; WEISS, E.I. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *Journal of Dentistry*, v.35, n.3, p.201-6, 2007.

BHARADWAJ, R. K. Modeling the barrier properties of polymer layered silicate nanocomposites. *Macromolecules*, v.34, p. 9189-9192, 2001.

BOARO, L, CAMPOS, L., VARCA, G. H. C., SANTOS, T., MARQUES, P., SUGII, M., SALDANHA, N., COGO-MÜLLER, K., BRANDT, W., BRAGA, R., PARRA, D.

Antibacterial resin-based composite containing chlorhexidine for dental applications, *Dental Materials*, in press, 2019.

BOWMAN, C.N.; CRAMER, N.B.; STANSBURY, J.W. Recent Advances and Developments in Composite Dental Restorative Materials. *Journal of Dental Research*, v.90, p. 402–416, 2011.

BRAMBILLA, E.; IONESCU, A.; GAGLIANI, M.; COCHIS, A.; ARCIOLA, C.R.; RIMONDINI, L. Biofilm formation on composite resins for dental restorations: an in situ study on the effect of chlorhexidine mouth rinses. *The International Journal of Artificial Organs*, v.35, n.10, p. 792-799, 2012.

CAMPOS, L. M. P.; BOARO, L. C.; FERREIRA, H. P.; SANTOS, L. K. G.; SANTOS, T.M.R.; PARRA, D.F. Evaluation of polymerization shrinkage in dental restorative experimental composites based: BisGMA/TEGDMA, filled with MM. *J. Journal of Applied Polymer Science*, v.133, p.43543, 2016.

CAMPOS, L. M. P. C.; LUGÃO, A. B.; VASCONCELOS, M. R.; PARRA, D. F. Polymerization shrinkage evaluation on nanoscale-layered silicates: Bis-GMA/TEGMA nanocomposites, in photo-activated polymeric matrices. *Journal of Applied Polymer Science*, v.131, n. 6, 2014.

CATTANI-LORENTE, A. M. A.; DUPUISB, V.; PAYANC, J.; MOYAC, F.; MEYERA, J. M. Effect of water on the physical properties of resin-modified glass ionomer cements. *Dental Materials*, v.15, p.71 -78, 1999.

CHEN, M.H. Update on dental nanocomposites. *Journal of Dental Research*, v.89, n.6), p. 549-60, 2010.

CHIN, I.J., THURN-ALBRECHT, T., KIM, H. RUSSELL, T. P., WANG, J. On exfoliation of montmorillonite in epoxy. *Polymer*, v. 42, p, 5947, 2001.

COHEN, S.; BURNS, R. C. Caminhos da polpa. 70. ed. Rio de Janeiro: **Ed. Guanabara Koogan S.A.**, 1998.

COELHO, G.L.N.; DORNELAS, C.B.; SOARES, K.C.C.; SANTOS, E.P.; VERGNANINI, A.L.; SANTOS, T.C.; RODRIGUES, C.R.; CASTRO, H.C.; DIAS, L.R.S.; CABRAL, L.M. Preparation and Evaluation of Inclusion Complexes of

Commercial Sunscreens in Cyclodextrins and Montmorillonites: Performance and Substantivity Studies. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. v. 34, p. 536-546, 2008.

DATTA, N., KONTOMICHALOU, P., Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae, *Nature*, v. 208 p. 239-241, 1968.

DEWAELE, M.; TRUFFIER-BOUTRY, D.; DEVAUX, J.; LELOUP, G. Volume contraction in photocured dental resins: the shrinkage-conversion relationship revisited. *Dental Materials*, v.22, p.359-365, 2006.

DISCACCIATI, J.A.C; ORÉFICE, R.L. Structural analysis on photopolymerized dental resins containing nanocomponents. *Journal of Materials Science*, v. 42, p. 3883-3893, 2007.

DISCACCIATI JAC, NEVES AD, ORÉFICE RL, PIMENTA FJGS, SANDER HH. Effect of light intensity and irradiation time on the polymerization process of a dental composite resin. *Materials Research*, v. 2, p. 313-318, 2004;

DRITS, V. A. Structural and chemical heterogeneity of layer silicates and clay minerals. *Clay Minerals*, v. 38, p.403-432, 2003.

FARRELL, I., BROOKES, G. R., The laboratory efficacy of amoxicillin and clavulanic acid combinations, Augmentin, clavulanate-potentiated amoxicillin: Proceedings of the First Symposium, 3-4 July, *Princeton: Excerpta Medica*, Amsterdam, Oxford p. 54-57, 1980.

FERRACANE, J.L. Resin composite-state of the art. *Dental Materials*, v.27, n.1, p. 29-38, 2011.

FRANKE, M.; BARRA, G. M. O.; FREDEL, M. C. Desenvolvimento de um compósito de BisGMA/TEGDMA e vidro de sílica dopado com prata como material de restauração dental com propriedades antibacterianas, *Anais Do 10º Congresso Brasileiro De Polímeros-CBPol*, Foz Do Iguaçu, 2009.

HEINZ, H.; VAIA, R. A.; KRISHNAMOORTI, R.; FARMER, B. L. Self-Assembly of Alkylammonium Chains on Montmorillonite: Effect of Chain Length, Head Group

Structure, and Cation Exchange Capacity. **Chemistry of Materials**, v. 19, p.59-68, 2007.

GAIKWAD, A.; GAVALI, S.; NARENDIRAN; KATALE, D.; BONDE, S.; BHADANE, R. P. An LC-MS-MS method for the simultaneous quantification of amoxicillin and clavulanic acid in human plasma and its pharmacokinetic application. **Journal of pharmacy research**, v.6, p.804-812, 2013.

GEDDES, A, M., KLUGMAN, K. P., ROLINSON, G, N, Introduction: historical perspective and development of amoxicillin/clavulanate, **Agents**, v. 30, p. 109-112, 2007.

GU S, REN J, WANG QF. Rheology of poly(propylene)/clay nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 9, p. 2427-2434, 2004.

HEFFELFINGER, J.D.; DOWELL, S.F.; JORGENSEN, J.H.; KLUGMAN, K.P.; MABRY, L.R.; MUSHER, D.M.; PLOUFFE, J.F.; RAKOWSKY, A.; SCHUCHAT, A.; WHITNEY, C.G. Management of community acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the Drug Resistant Streptococcus pneumoniae Therapeutic Working Group. **JAMA Internal Medicine**, v. 22, n.160, p.1399-408, 2000.

JANEK, M.; LAGALY, G. Proton Saturation and Rheological Properties of Smectite Dispersions. Appl. **Applied Clay Science**, v. 19, p. 121-130, 2001.

JANDT, K.D.; SIGUSCH, B.W. Future perspectives of resin-based dental materials. **Dental Materials**, v.25, n.8, p.1-6, 2009.

KNUDSEN, E.B.; SORENSEN, H.O.; WRIGHT, J.P.; GORET, G.; KIEFFER, J. FABIO: easy access to two-dimensional X-ray detector images in Python. **Journal of Applied Crystallography**, v. 46, p.537-539, 2013.

KLEVERLAAN, C.J.; FEILZER, A.J. Polymerization shrinkage and contraction stress of dental resin composites. **Dental Materials**, v. 21, p.1150–1157, 2005.

KONWARH, R.; KARAK, N.; MISRA, M. Electro spun cellulose acetate nanofibers: the present status and gamut of biotechnological applications. **Journal of Biotechnology**, v.31, p.421-437, 2013.

LEE, Y; KUO, T.; CHEN, B.; FENG, Y.; WEN, Y.; LIN, W.; LIN, F. H. Toxicity Assessment of Montmorillonite as a Drug Carrier for Pharmaceutical Applications: Yeast and Rats Model. **Research on Biomedical Engineering**, v. 17, p.72-78, 2005.

LEONARDO, M. R. Endodontia: tratamento de canais radiculares. Princípios técnicos e biológicos. **Artes Médicas**, São Paulo, 2008.

LEROUX, F. Organo-modified anionic clays into polymer compared to smectitetype nanofiller: potential applications of the nanocomposites. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 6, p.303-315, 2006.

LEVENSTEIN, J.H., KRITZINGER, N. A. A general practitioner trial on the efficacy and tolerability of Augmentin in the treatment of common bacterial infections. Augmentin,(clavulanate-potentiated amoxicillin: Proceedings of an International Symposium Montreux, Switzerland, 17 July, **Princeton: Excerpta Medica**, Amsterdam, Oxford p. 113-124, 1981.

LIU L, QI Z, ZHU X. Studies on nylon-6-nanoclay nanocomposites by melt intercalation process. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 71:p. 1133-1138, 1999.

MATSUDA, S. Augmentin treatment in obstetrics and gynaecology, D.A. Leigh, O.P.W. Robinson (Eds.), Augmentin (clavulanate-potentiated amoxicillin: Proceedings of an International Symposium Montreux, Switzerland, 17 July, **Princeton: Excerpta Medica**, Amsterdam, Oxford p. 179-191, 1981.

MENG. N., ZHOU N.L., ZHANG S.Q., SHEN J., Synthesis and antimicrobial activities of polymer/montmorillonite–chlorhexidine acetate nanocomposite films. **Applied Clay Science**, v. 42, p. 667-670, 2009.

MICHELOTTO, A. L. C, ANDRADE, B. M. A, JUNIOR, J. A, S, SYDNEY, G,. B., Clorexidina na terapia endodôntica Chlorhexidine in endodontic therapy. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, p.1806-7727, 2008.

MUNHOZ, T.; FREDHOLM, Y.; RIVORY, P.; BALVAY, S.; HARTMANN, D.; SILVA, P.; CHENAL, J.M. Effect of Nano clay addition on physical, chemical,

optical and biological properties of experimental dental resin composites. **Dental Materials**, v.33, p. 271–279, 2017.

NHUNG, D. T. T., FREYDIERE, A., CONSTANT, H., FALSON, F., PIROT, F. Sustained antibacterial effect of a hand rub gel incorporating chlorhexidine-load, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 334, p.166-72, 2007.

PAIVA, L.B, MORALES, A. R., DÍAZ, F. R.Z. Organophilic clays: characteristics, preparation methods, intercalation compounds and characterization techniques. **Cerâmica**, v. 54, p.213-226, 2008.

PETERSON, L.J., ELLIS E., HUPP J.R., TUCKER M.R. Cirurgia oral e maxilofacial Contemporânea. 3ª ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; 2000.

SALAHUDIN N, SHEHATA M. Polymethylmethacrylate-montmorillonite composites: preparation, characterization and properties. **Polymers**, v.42, p. 8379-8385. 2001.

SANTOS, P. S. **Ciência e tecnologia de argilas**: Editora Edgard Blucher. São Paulo, 1989.

SANTOS, C.; CLARKE, R.; BRADEN, M.; GUITIAN, F.; DAVY, K. Water absorption characteristics of dental composites incorporating hydroxyapatite filler. **Biomaterials**, v.23, p.1897-1904, 2002.

SARRETT, D.C. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. **Dental Materials**, v.21, n.9, p.9-20, 2005.

SEABRA, F.R.G, SEABRA, B.G.M., SEABRA, E.G. Antibioticoterapia profilática em cirurgias periodontais. **Odontologia Clínica e Científica**. v.3, p.11-16, 2004.

SIDERIDOU I, TSERKI V, PAPANASTASIOU G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. **Biomaterials**, v.23, p. 1819-29, 2002.

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M.M. e TERENCEI. H. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

- SOLHI L, ATAI M, NODEHI A, IMANI M. A novel dentin bonding system containing poly(methacrylic acid) grafted nanoclay: Synthesis, characterization and properties. ***Dental Materials***, v. 28, p.1041-1050, 2012
- SONG, M., XIA, H.S., YAO, K.J., DJ DE HOURSTON. A study on phase morphology and surface properties of polyurethane/organoclay nanocomposite. ***European Polymer Journal***, v. 41, p. 259, 2005.
- STANSBURY, J.W.; TRUJILLO-LEMON, M. L.U. H.; DING, X.; LIN, Y.; GE, J. Conversion-dependent shrinkage stress and strain in dental resins and composites. ***Dental Materials***, v.21, p. 56-67, 2005.
- TANAKA, K.; TAIRA, M., SHINTANI, H., WAKASA, K., YAMAKI, M. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. ***Journal of Oral Rehabilitation***, v.18, n.4, p.353-62, 1991.
- TOUATI N, KACI M, AHOUARI H, BRUZAUD S, GROHENS Y. The Effect of Gama Irradiation on the Structure and Properties of Poly(propylene)/Clay Nanocomposites. ***Macromolecular Materials and Engineering***, v. 292, p.1271-1279, 2007.
- UDDIN, F. Clays, Nanoclays, and Montmorillonite Minerals. ***Metallurgical and Materials Transactions*** v. 39, p. 2804-2812, 2008.
- UTRACKI, L. A. Clay containing polymeric nanocomposites. ***Smithers Rapra Technology***, v. 1, 2009.
- VAIA, R. A.; JANDT, K. D.; KRAMER, E. J.; GIANNELIS, E. P. Kinetics of Polymer Melt Intercalation. ***Macromolecules***, v. 28, p.8080-8085, 1995.
- VALAREZO E.; TAMMARO, L.; GONZÁLEZ, S.; MALAGÓN, O.; VITTORIA, V. Fabrication and sustained release properties of poly-caprolactone) electro spun fibers loaded with layered double hydroxide nanoparticles intercalated with amoxicillin. ***Applied Clay Science***, v.72, p.104–109, 2013.

VENHOVEN, B.A, DE GEE, A.J.; DAVIDSON, C.L. Polymerization contraction and conversion of light-curing Resina epoxídica-based methacrylate resins. ***Biomaterials***, v. 14, p. 871-5, 1993.

VISERAS, C. P.; CEREZO, R.; SANCHEZ, I.; SALCEDO, C.; AGUZZI.; Current challenges in clay minerals for drug delivery. ***Applied Clay Science***, v. 48, n. 3 p, 291-295, 2010.

WANG, X.Y.; DU, Y.M.; LUO, J.W. Biopolymer/montmorillonite nanocomposite: preparation, drug-controlled release property and cytotoxicity. ***Nanotechnology***, v.19, n.6, 2008.

WANG, C.; YAN, K.W.; LIN, Y.D.; HSIEH, P.C.H. Biodegradable core/shell fibers by coaxial electrospinning: processing, fiber characterization, and its application in sustained drug release. ***Macromolecules***, v.43, p. 6389–6397, 2010.

WILKE, M. S.; LOVERING, A. L.; STRYNADKA, N. C. J. Beta-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. ***Current Opinion in Microbiology***, v. 8, p. 525- 533, 2005.

WHITE, A.R., KAYE, C., POUPARD, J., PYPSTRA, R. WOODNUTT, G, WYNNE, B. Augmentin® (amoxicillin/clavulanate) in the treatment of community-acquired respiratory tract infection: a review of the continuing development of an innovative antimicrobial agent, ***Journal of Antimicrobial Chemotherapy***, v. 53, p. 3-20, 2004.

XIE, W.; GAO, Z.; LIU, K.; PAN, W.; VAIA, R.; HUNTER, D.; SINGH, A. Thermal characterization of organically modified montmorillonite. ***Thermochemical Acta***, v. 367-368, p. 339-340, 2001.

YIH, T. C.; AL-FANDI, M. engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. ***Journal of Cellular Biochemistry***, v. 97, p. 1184-1190, 2006.

YU, K.; ZHU, T.; WU, Y.; ZHOU, X.; YANG, X.; WANG, J.; FANG, J.; EL-HAMSHARY, H.; AL-DEYAB, S.; MO, X. Incorporation of amoxicillin-loaded organic montmorillonite indolyl(ester-urethane) urea nanofibers as a functional tissue engineering scaffold. ***Colloids and Surfaces B: Bio interfaces***, v.151 p.314–323, 2017.



ZANETTI, M.; COSTA, L. Polyamide 6/organoclay nanocomposites: effect of matrix molecular weight on structure and mechanical and thermal-mechanical properties. *Polymers*, v.45, p. 4367-4373, 2004.

ZHANG, J.F.; WU, R.; FAN, Y.; LIAO, S.; WANG, Y.; WEN, Z.T.; Antibacterial dental composites with chlorhexidine and mesoporous silica. *Journal of dental research*, v.93, n.12, p.1283-1289, 2014.

ZHENG, F.; WANG, S.; WEN, S.; SHEN, M.; ZHU, M.; SHI, X. Characterization and antibacterial activity of amoxicillin-loaded electro spun nano-hydroxyapatite/poly (lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers. *Biomaterials*, v. 34, n.4 p.1402-1412, 2013.

ZHENG, Y., ZAOUI, A. How water and counterions diffuse into the hydrated montmorillonite. *Solid State Ionics*, v. 203, p. 80-85, 2013.

---

---

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000  
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908  
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil  
<http://www.ipen.br>

**O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.**

---

---