

## **Estudo da Liberação Controlada de Clorexidina em Resinas Usadas em Restauração Dentária**

Humberto Masakatsu Miyatake (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Emerson Marcelo Giroto (Orientador), e-mail: humberto.masakatsu@live.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR

**Área: Química Inorgânica**  
**Subárea: Físico Química Inorgânica**

**Palavras-chave:** agente bactericida, derivatizante, cromatografia gasosa.

### **Resumo**

As resinas odontológicas de boa qualidade têm duração de quatro anos e somente algumas marcas importadas cumprem a função de liberação de flúor ou de um agente bactericida. Em meio a isto, a pesquisa por uma tecnologia avançada para as resinas restauradoras deve ser buscada para alcançar o maior número de brasileiros. O objetivo do projeto é sintetizar compósitos que permaneçam no ambiente oral com a liberação controlada da clorexidina, o bactericida em uso, à temperatura ambiente como uma tecnologia nacional de alta qualidade e de preço bem mais acessível à população. O método de detecção da clorexidina contida nas resinas odontológicas é através da cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (CG-ECD). Os estudos experimentais apontam que a clorexidina, agente bactericida em estudo, pode ser detectado com o uso do derivatizante BSA nas condições de aumento do tempo de reação e da temperatura. Além disso, o solvente acetato de etila HPLC também gera sinal que se repete na solução de clorexidina. Foram detectados sinais nessa liberação no período de 24 horas que estão relacionados ao solvente, à composição do polímero, mas não ao agente bactericida.

### **Introdução**

A clorexidina é bastante usada como padrão de prevenção de formação de placa e desenvolvimento de gengivite em enxaguantes bucais. Em 1995, o custo do tratamento odontológico foi de US\$ 45,8 bilhões nos Estados Unidos em que 75% de todo o trabalho operatório é a substituição das restaurações dentárias devido à cárie secundária (PARKER, 2004). Um estudo mostrou que as metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas dependentes de metal aprisionadas na formação do colágeno, atacam as fibras de colágeno com a resina, mas o inibidor específico e bactericida, a clorexidina, pode ser usado incorporado em resinas para aumentar de forma significativa a durabilidade das ligações dentina-resina (KOMORI, 2007). Essa abordagem de estudo do bactericida com a resina pode economizar bilhões de dólares em assistência médica e sofrimento humano.

A cromatografia gasosa (CG) possui alto poder de separação mesmo que a amostra não seja volátil uma vez que as técnicas de derivatização são aplicáveis para volatilizar a molécula e sua reação é rápida. O equipamento tem um limite de temperatura para não danificar a coluna e o detector (GROB, 2004). Estudos revelaram que o BSA é um reagente de silição eficiente com baixa demanda de reagente e com maior rendimento à temperatura ambiente. Os três parâmetros de influência são temperatura, tempo de reação e quantidade. Por meio de uma fonte radioativa para produzir uma corrente contínua de elétrons para colidir com o gás de arraste, o detector de captura de elétrons (ECD) registra o interrompimento do fluxo de elétrons da amostra eluída (MOHD, 2012).

## Materiais e métodos

Os reagentes usados na formulação da fase orgânica das resinas restauradoras foram adquiridos pela Sigma-Aldrich. As clorexidinas utilizadas foram a Aldrich de base 98% e a InLab 99% Confiança da Alamar Tecno-Científica de base 99,5%. As cargas inorgânicas foram a *Fumed Silica* (vidro odontológica) de 0,7  $\mu\text{m}$  e 6% silane MEMO e o Aerosil 0x50 silanizado 10% de 40 nm, MEMO. O solvente utilizado da Honeywell foi o acetato de etila grau HPLC. O meio de liberação das resinas aplicado da Êxodo Científica foi o diclorometano de base 99,5%. O derivatizante foi o Bis-(trimetilsilil)-acetamida – BSA fornecido pela Sigma-Aldrich de grau de síntese  $\geq 99,5\%$ . Em quatro grupos com quantidade do agente bactericida definido, a resina tem constituição em fase orgânica fixa de 70% e em fase orgânica de 30% distribuídos conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Constituição da fase inorgânica e orgânica dos grupos da resina.

Grupo	Fase Orgânica					Fase Inorgânica	
	Bis-GMA*	TEGDMA*	HEMA/10%CHX*	CQ*	DMAEMA*	Aerosil 0x50 Silanizado 10% 40 nm	Fumed Silica 0,7 $\mu\text{m}$
I	70%	30%	0%	0,5%	0,5%	15%	85%
II	63%	30%	7%	0,5%	0,5%	15%	85%
III	56%	30%	14%	0,5%	0,5%	15%	85%
IV	49%	30%	21%	0,5%	0,5%	15%	85%

\*A distribuição da composição da resina confere exclusivamente ao BISGMA, TEGDMA e HEMA/10%CHX uma vez que CQ e DMAEMA são fixos para formar a fase orgânica por isso a soma resulta em 101%.

Para a preparação dos corpos de prova (CP's) que são os discos de resina dentária já polimerizados, foi usado o equipamento manual para a cura dos monômeros usado com funcionamento LED (*light emission diode*) SDI/Austrália modelo Radii-e. A polimerização será equivalente a 3 pulsos de 60 segundos consecutivos. Para o estudo da liberação da clorexidina, foi usada a temperatura controlada de 30°C e agitação constante em diclorometano. Após a rotoevaporação desse solvente, será colocado acetato de etila e o derivatizante BSA na temperatura de 50°C para a reação de silição por 3 horas. Após 24 horas em temperatura ambiente, será feita

a identificação dos compostos orgânicos halogenados. Foi injetada 1,00 µL no injetor automático, o gás utilizado no detector de ECD foi o nitrogênio, com pureza de 99,995%. Como gás de arraste foi utilizado o gás hélio, com pureza de 99,995%, com fluxo de 1,04 mL/min, pressão de 63,3 kPa, fluxo total de 24,8 mL/min. As injeções foram realizadas no modo Split na razão de 1:20. A coluna utilizada foi da marca Agilent, HP5-MS (95% Dimethyl Polysiloxane, (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane), com 30,0 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm ID e espessura do filme de 0,25 µm. A temperatura inicial do forno foi de 120°C, aumentando em uma taxa de aquecimento de 8°C/min, até 240°C e, permanecendo nessa temperatura por 5 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240°C e 250°C, respectivamente.

## Resultados e Discussão

Os testes realizados no CG-ECD nas concentrações de 0,2072 mg/L, 0,5180 mg/L e 1,036 mg/L com 0,5 µL de BSA e o acetato de etila como solvente para identificar os tempos de retenção estão representados conforme a Figura 1.

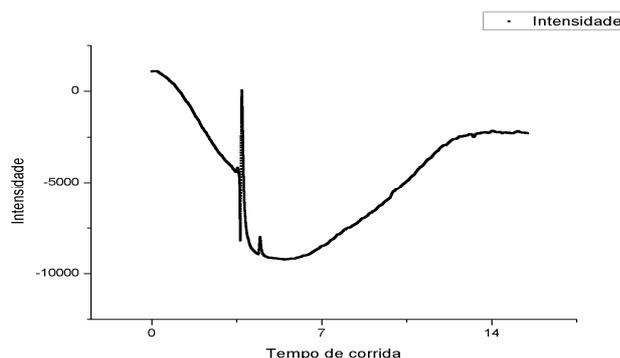
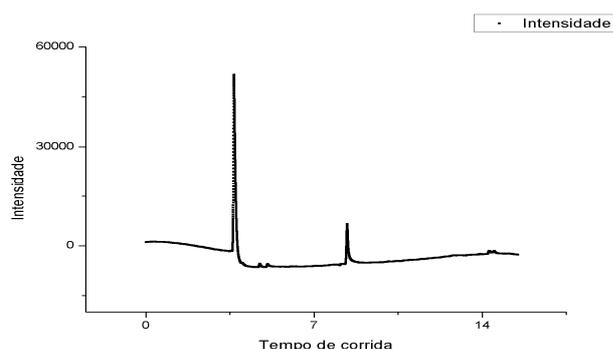


Figura 1 – Cromatograma da amostra de 0,2072 mg/L.

O tempo de derivatização de 3 horas à temperatura de 50°C e 24 horas à temperatura ambiente no volume de 0,5 µL se mostrou mais eficiente após sucessivos testes. A replicação das amostras antes e após a amostra aponta que no tempo de 3,722 minutos se refere ao solvente acetato de etila HPLC. Com alterações dos parâmetros para o CG-ECD e aumento da pressão e do fluxo dos gases, o tempo de retenção da clorexidina derivatizada inferida foi de 4,472 minutos. Nas análises de liberação das resinas, tem-se o cromatograma conforme a Figura 2.



## Figura 2 – Cromatograma da resina do Grupo II no período de 24 horas.

Em relação ao exemplo da resina do Grupo II, os tempos de retenção de 3,720 min e 8,372 min se repetiam em todos os grupos, correlacionando ao tempo de solvente e de uma possível liberação de um componente do polímero respectivamente. Em relação ao tempo de 5,082 min, esse sinal não aparecia na resina do Grupo I sem a clorexidina, mas apresentava e aumentava nos grupos II ao IV. Pelo tempo de retenção, não correlaciona ao tempo do agente bactericida.

## Conclusões

Os estudos experimentais indicam que a clorexidina, o agente bactericida em estudo, tem sua liberação e aplicação na Cromatografia Gasosa com detector ECD e com o uso do derivatizante BSA nas condições de aumento do tempo de reação e da temperatura para a reação de silição. Os tempos de retenção do solvente e da clorexidina são apontadas respectivamente como 3,722 min e 4,472 min, pela replicabilidade dos resultados. Nas análises de liberação da resina, os tempos de retenção do solvente e de 8,372 min se repetiam em todas, sendo indício de uma possível liberação de um componente do polímero. Em relação ao tempo de 5,082 min, nada se pode afirmar.

## Agradecimentos

Agradecemos ao financiamento da CNPQ.

## Referências

- GROB, R., Barry, E., **Modern Practice of Gas Chromatography**. 4. Edição, Wiley-Interscience. New Jersey, 2004. p. 40-41, 305-307.
- KOMORI, P. C. **Efeito do digluconato de clorexidina na estabilidade da união de sistemas adesivos e dentina sadia ou afetada por cárie**. 2007. 86f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2007.
- MIRIBEL, L., Brazie, J.L., Comet, F., *Journal of Chromatography* 268 (Elsevier Science Publishers B.V.). **Gas-liquid chromatographic determination of chlorhexidine in pharmaceutical formulations**. Amsterdam, 1983, p.321-328.
- MOHD, M. A., **Advanced Gas Chromatography – Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications**, InTech. Rijeka, 2012. p. 84, 90-92, 2012.
- PARKER. J., Parker. P., **Chlorhexidine: A Medical Dictionary, Bibliography and annotated research guide to internet references**, ICON Group International. San Diego, 2004. p. 3-5, 8-10, 15-16.