



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102020024483-3

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102020024483-3

(22) Data do Depósito: 30/11/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 07/06/2022

(51) Classificação Internacional: A61K 6/20; A61K 6/54; A61K 8/98; A61Q 11/00.

(52) Classificação CPC: A61K 6/20; A61K 6/54; A61K 8/988; A61Q 11/00.

(54) Título: ADESIVO DENTAL FOTOPOLIMERIZÁVEL À BASE DE METACRILATOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOCINTETIZADAS COM PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: ISABEL CRISTINA CELERINO DE MORAES PORTO; TICIANO GOMES DO NASCIMENTO; CAMILA BRAGA DORNELAS; JOSÉ MARCOS DOS SANTOS OLIVEIRA; TERESA DE LISIEUX GUEDES FERREIRA LÔBO; RODRIGO JOSÉ NUNES CALUMBY; JENIFFER MCLAIN DUARTE DE FREITAS; JOSEALDO TONHOLO; JOHNNATAN DUARTE DE FREITAS; SARAH LERNER HORA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 30/11/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 08/04/2025

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

RELATÓRIO DESCRITIVO DA PATENTE DE INVENÇÃO PARA
“Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos com nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas.”

[001] A presente invenção compreende um dispositivo de adesivo dentinário experimental de fabricação laboratorial, cuja composição é hidroxietilmetacrilato (HEMA); 2,2 - bis [4-(2-hidroxi-3-metacrilaxipropoxi) fenil]-propano (Bis GMA); Canforoquinona; 4-dimetilaminobenzoato de etila (EDMAB); difenil iodônio hexafluorofosfato e um solvente (etanol), no qual foi incorporado, separadamente, nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas (PVA) na concentração de 250µg/ml. Obtendo-se, assim, um adesivo dentinário com 250µg/ml nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas.

[002] Dentre os efeitos técnicos da presente invenção, destacam-se a obtenção de atividade antioxidante, que lhe confere ação inibidora de metaloproteinases de matriz, contribuindo com a longevidade das restaurações adesivas.

[003] O produto proporciona uma melhor adaptação e selamento marginal da restauração adesiva.

[004] O produto possui atividade antimicrobiana, impedindo assim que novas bactérias proliferem e deem início ou continuidade ao processo cariogênico.

[005] Os objetos da presente invenção desse produto são: BisGMA; HEMA; Etanol; Fotoiniciadores.

[006] Nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas.

[007] Em uma realização preferencial, o adesivo utilizado é do tipo convencional de dois passos, ou *total etch*.

[008] Esse adesivo é ativado com presença de luz no comprimento de onda de 470 nm $\pm$ 20 nm.

[009] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPÕE A RESOLVER

[010] A presente invenção compreende um dispositivo de adesivo dentinário experimental de fabricação laboratorial, cuja composição é a mistura dos monômeros hidroxietilmetacrilato (HEMA) e 2,2-bis [4- (2-hidroxi-3- metacriloxipropoxi) fenil] - propano (BisGMA) 40/60 (m/m), canforoquinona (0.5%) e etil 4-(dimetilamino) benzoato (0.5%).

[011] A presente invenção trata-se de um produto laboratorial, com aplicação na área de odontologia visando aumentar a longevidade de restaurações adesivas e ajudar no fortalecimento da união dente-restauração pela presença de compostos que ajudam no aumento da longevidade do dente e do material.

[012] Atualmente as tecnologias nas áreas de biomateriais odontológicos enfrentam problemas em relação a durabilidade da área adesiva entre materiais restauradores e substrato dental, em especial na dentina, pela degradação hidrolítica do polímero e pela degradação enzimática do colágeno da dentina, causando falhas nas restaurações adesivas ao longo do tempo.

[013] Como efeitos técnicos da presente invenção, destacam-se a atividade antioxidante das nanopartículas de prata biossintetizadas com própolis vermelha de Alagoas, que indica o seu uso como inibidor das metaloproteinases da matriz (MMPs), contribuindo assim com a redução da ação de MMPs na dentina.

[014] A presente invenção também possui atividade antimicrobiana, inativando as bactérias que permanecem dentro dos túbulos dentinários após o preparo cavitário, e impedindo que novas bactérias proliferem e iniciem o processo de cárie secundária nas margens das restaurações.

[015] A presente invenção contempla um adesivo odontológico do tipo convencional de dois passos, ou *total-etch*, fotoativado em um comprimento de onda de 470nm $\pm$ 20nm.

[016] A presente invenção contempla empresas e profissionais da área odontológica e será descrito a seguir em detalhes para sua reprodução.

[017] Os sistemas adesivos atuais atuam como membranas semi-permeáveis que atraem água pois são hidrofílicos, o que favorece a degradação do polímero formado.

[018] A degradação da camada híbrida é a principal causa da limitada durabilidade das restaurações de resina e é resultado da degradação hidrolítica da resina adesiva e da proteólise das fibrilas de colágeno.

[019] A degradação da camada híbrida por consequência favorece a passagem e colonização de microorganismos no substrato dental, favorecendo o início e aparecimento de cáries secundárias.

[020] Há produtos com nanopartículas de prata puras no mercado, sintetizadas de modo convencional, porém não há evidências de um adesivo dentinário com nanopartículas biossintetizadas com própolis vermelha de Alagoas, com ação da própolis vermelha somada à atividade da prata, para inibição de MMPs da dentina, com atividade antioxidante e antimicrobiana.

[021] A metodologia desta presente invenção é inovadora, pois possui componentes únicos, que inibem as enzimas metaloproteinases da matriz e possui atividade antimicrobiana e antioxidante.

[022] A utilização de inibidores de MMPs é bem aceita, como uma estratégia efetiva para aumentar a durabilidade da interface adesiva.

[023] Além de uma metodologia inovadora, as nanopartículas biossintetizadas com própolis vermelha de Alagoas, mostraram atividade antioxidante superior as nanopartículas de prata convencional, indicando assim a melhor atividade antioxidante destas nanopartículas no sequestro de radicais livres, e por isso, tem potencial para inibir as metaloproteinases da matriz (MMPs).

[024] A própolis vermelha de Alagoas tem ação antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, que são bactérias responsáveis pelo início e progressão da cárie dentária, respectivamente.

[025] O dente afetado devido a desmineralização e cárie, deve ser restaurado com um material que tenha durabilidade e resistência e para isso utiliza-se um adesivo, que é um material intermediário entre o substrato dental e o material restaurador direto (restaurações feitas diretamente na boca) ou indireto (material usado em coroas, facetas e outras restaurações dentárias preparadas fora da boca e depois “coladas” no elemento dental).

[026] Um sistema adesivo consiste essencialmente em um componente monomérico, um componente de carga (opcional) e um iniciador de polimerização.

[027] O adesivo dentinário deve ser resistente ao estresse externo pelo contato com a resina e interno na interface do dente, pelo contato com a matriz de colágeno.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[028] A presente invenção se situa no campo da produção de biomateriais odontológicos. Mais especificamente, a presente invenção proporciona um adesivo dental que se utiliza de nanopartículas de prata obtidas através de síntese verde, que se utiliza de extratos hidroalcoólicos de plantas, para redução das macromoléculas da prata para nanopartículas.

[029] Esses compostos quando utilizados possuem alta capacidade antimicrobiana e antioxidante, favorecendo positivamente a durabilidade das restaurações em resina composta.

[030] O processo da invenção compreende que esses materiais adicionados ao adesivo experimental, inibem a formação de caries secundárias e metaloproteínases de matriz, que degradam o colágeno no dente, assim nosso adesivo contribui positivamente para o fortalecimento da união do material restaurador ao dente, impedindo a degradação, e aumentando a durabilidade das restaurações adesivas.

ESTADO DA TÉCNICA

[031] Bactérias podem permanecer dentro dos túbulos dentinários, mesmo após a realização do preparo cavitário (YU *et al.*, 2017) e também podem penetrar na interface dente restauração através das fendas marginais (CHEN *et al.*, 2014; SU *et al.*, 2018). No entanto, uma vez bloqueado o acesso exógeno de nutrientes para a microbiota através do selamento hermético da cavidade, o procedimento restaurador é eficaz (BITELLO-FIRMINO *et al.*, 2018). Mas esse selamento pode ser prejudicado pela contração do material restaurador ou devido a falhas no processo de adesão. Por isso, é importante que novos materiais com atividade antimicrobiana sejam produzidos, visando a diminuição de cáries secundárias e, conseqüentemente, o aumento da longevidade das restaurações adesivas (DENG *et al.*, 2016).

[032] As nanopartículas metálicas têm sido destacadas como agente promissores, com atividades antibacterianas em concentrações baixas. (ZHU *et al.*, 2017). As nanopartículas de prata excepcionalmente, apresentam destaque pelas suas atividades antimicrobianas, associadas a uma alta efetividade e baixa resistência dos microrganismos (ZHANG *et al.*, 2013).

[033] A adição de prata demonstrou atividade antibacteriana específica na interface dente-restauração (ZHANG *et al.*, 2013). A prata é capaz de melhorar a estrutura e estabilidade do colágeno na dentina desmineralizada (OSORIO *et al.*, 2016).

[034] As nanopartículas de prata, possuem um amplo espectro bacteriano e atividade antiviral em baixas concentrações relacionadas com os múltiplos mecanismos da prata, o mecanismo de ação das nanopartículas de prata mais comumente aceito, está relacionado pela ruptura da membrana celular ao entrar em contato com a superfície da partícula, e a formação de espécies reativas de oxigênio após a absorção de NPAg, ou pela penetração de íons no núcleo e a interação com células reprodutoras de DNA (DUTRA-CORREA *et al.*, 2018) e a inativação das enzimas vitais bacterianas, levando a morte celular (RAI *et al.*, 2012).

[035] A própolis vermelha de Alagoas, tem componentes únicos que a diferenciam de outras própolis produzidas no Brasil e em todo o mundo, dentre os compostos já conhecidos, isoflavonóides, propolonas/gutiferonas, terpenos, e compostos fenólicos, são umas das principais classes de metabólitos secundários presentes na própolis vermelha (MENDONÇA *et al.*, 2015; MACHADO *et al.*, 2016; RUFATTO *et al.*, 2017).

[036] Além desses componentes únicos a própolis vermelha de Alagoas tem uma potente atividade antimicrobiana contra bactérias orais, com valores de <10 µg/mL para *Streptococcus mutans* (DAUGSCH, 2017), as aplicações tópicas do EPV foram eficazes na redução da incidência e severidade de lesões de cáries em animais (KOO *et al.*, 1999; HAYACIBARA *et al.*, 2005; DUARTE *et al.*, 2006).

[037] Vários estudos têm provado a ação antimicrobiana efetiva da própolis vermelha de Alagoas contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* (BUENO-SILVA *et al.*, 2013; ANAUATE *et al.*, 2013; ASAWAHAME *et al.*, 2015) que é atribuída à alta

concentração de flavonoides e compostos fenólicos na própolis vermelha brasileira (BUENO-SILVA *et al.*, 2017).

[038] Com isso, a busca por novos métodos e desenvolvimento de biomateriais com atividades antimicrobianas, antioxidantes são relevantes para a odontologia restauradora, para avaliar os efeitos benéficos ou não, que esse material pode promover para adesão dentinária, sem comprometer as estruturas circunvizinhas.

[039] Várias patentes já foram depositadas visando melhorar a condição bucal, evitando a proliferação de bactérias, aumentando a resistência da dentina com aplicações de outros materiais, fortalecimento de resinas e materiais dentários, elevando nível do grau de conversão da dentina com outros tipos de materiais. Mas não houve registros de estudos com esses flavonóides em adesivo dentinário.

[040] O documento US 20180008553 A1, revela uma nova forma de micropartículas solúveis de flavonoides, e sua síntese. A invenção também inclui novas formulações de tais flavonoides. Além disso, a invenção inclui novos métodos de fabricação das formulações de flavonoides. A invenção também se refere a uma ampla variedade de aplicações das formulações flavonoides.

[041] O documento WO 2017/049617 A1, fornece composições orais para o tratamento de várias doenças dentárias comuns, como cárie dentária, gengivite e periodontite. Além disso, a invenção fornece composições que permanecem na cavidade oral por períodos prolongados de tempo, em comparação com as composições aceitáveis por via oral atualmente disponíveis usadas na prevenção ou tratamento de distúrbios e doenças da cavidade oral, incluindo aquelas que envolvem dentes e gengiva. Além disso, a invenção fornece composições que penetram nos dentes através de fendas, túbulos dentinários, cárie e junção cimento-esmalte. São fornecidas outras composições que facilitam ou aprimoram a entrega de cálcio, zinco e outros elementos aos dentes para a prevenção ou tratamento de vários distúrbios e doenças dentárias. Além disso, a invenção fornece métodos de uso e métodos de fabricação, as composições da invenção (bem como kits compreendendo as composições).

[042] O documento US009889098B2, refere-se a novas formas microparticuladas e solúveis de flavonóides e sua síntese. A invenção também inclui novas formulações de tais flavonóides. Além disso, a invenção inclui novos métodos de fabricação das formulações de flavonoides. A invenção também se refere a uma ampla variedade de aplicações das formulações flavonoides.

[043] O documento de número BR1020180036663 (A2), referindo-se a um colutório contendo própolis vermelha para combate de infecções da cavidade oral.

[044] O documento de número BR102013013996 (A2), referindo-se a uma formulação antisséptica contendo nanopartículas de prata para uso odontológico, onde trata-se de uma composição com nanopartículas associadas ou não a compostos químicos, como potencial bactericida e ou bacteriostático, aplicado na odontologia (endodontia e/ou periodontia) no combate a diferentes tipos de bactérias que contaminam e que são causadoras das principais periapicopatias endodônticas, objetivando a antisepsia do canal radicular.

[045] O documento de número BR102012027335 (A2), referindo-se a uma composição envolvendo nanopartículas de prata, quitosana e antibióticos com potencial antibacteriano combinado. Onde a referida patente diz respeito a uma confecção de um material que possui atividade antibacteriana e um potencial de aplicação no controle a bactérias Gram positivas e Gram negativas, resistentes ou que apresentem sensibilidade diminuída a antibióticos.

[046] Do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta, aos olhos dos inventores, possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO

[047] A desmineralização dentinária nas lesões cariosas, é promovida pelos ácidos bacterianos, porém os microrganismos não são os únicos responsáveis pela degradação do colágeno presente.

[048] As metaloproteinases da matriz (MMPs) são enzimas endógenas que desempenham um papel na progressão da lesão cariosa, destruindo assim a matriz

orgânica da dentina, essas enzimas são ativadas pela redução do pH e promovem a degradação do tecido dentário (TJÄDERHANE *et al.*, 1998).

[049] Uma boa adesão ao substrato dental, deve ser proporcionada por um material com capacidade para inibir as atividades das proteases próprias do tecido, preservando assim a matriz colágena, além de contribuir uma melhoria nas propriedades mecânicas do substrato (BEDRAN RUSSO *et al.*, 2010; BEDRAN RUSSO *et al.*, 2011; LEME-KRAUS *et al.*, 2017).

[050] Vários compostos antimicrobianos e com outras atividades diversas são propostos na forma de nanopartículas, pois possuem elevada relação área-superfície e maior atividade biológica (ALAKER *et al.*, 2010), mesmo quando utilizadas em baixas concentrações (DUTRA-CORREA *et al.*, 2018).

[051] Existem estudos com formulações de adesivos dentinários contendo diversos aditivos em sua composição, tais como, compostos minerais (XIE, *et al.*, 2017), extratos de plantas (YU *et al.*, 2017, FONSECA, 2015; ROY *et al.*, 2010), nanopartículas de quaternário de amônia (CHEN *et al.*, 2014), nanopartículas de prata (OSORIO *et al.*, 2015; DUTRA-CORREA *et al.*, 2018), fungos (ROSHMI *et al.*, 2018), quercetina, resveratrol e própolis vermelha (ROCHA *et al.*, 2020) dentre outros, com o objetivo de investigar os efeitos dessas substâncias na resistência de união a dentina (CHEN *et al.*, 2014), atuação antimicrobiana e antibiofilme dental *in vitro* contra bactérias cariogênicas (ROSHMI *et al.*, 2018), atividade antioxidante (ROCHA *et al.*, 2020) e resistência de união (DUTRA-CORREA *et al.*, 2018).

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[052] A **Figura 1** apresenta o gráfico com os resultados do grau de conversão (%) dos adesivos sintetizados e controle.

[053] A **Figura 2** apresenta o gráfico comparativo dos resultados da atividade antioxidante (%) do extrato bruto de própolis vermelha de Alagoas, das nanopartículas de prata obtidas pela síntese biogênica e pela síntese convencional.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

Síntese do adesivo base

[054] Um adesivo experimental de dois passos foi preparado misturando-se os monômeros hidroxietilmetacrilato (HEMA) e 2,2-bis [4-(2-hidroxi-3-metacriloxipropoxi)fenil]-propano (BisGMA) com uma razão de massas de 40:60 (m/m). O etanol foi utilizado como solvente na concentração de 30% (m/m) e o sistema fotoiniciador de três componentes: canforoquinona (0.5%, n/n), etil (4dimetilamino) benzoato (0.5%, n/n) e difeniliodonium hexafluorofosfato (1.0%, m/m) foi acrescentado. O produto resultante é um líquido de cor amarela límpida e baixa viscosidade, que é fotoativado com luz no comprimento de onda de 470 nm + 20.

Tabela 01. Composição química do adesivo dentinário

<i>Nome</i>	<i>Fórmula química</i>	
BisGMA	2,2-bis[4-(2-hidroxi-3metacriloxipropoxi) fenil] -propano	$(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{OH})_2$
HEMA	2- hidroxietilmetacrilato	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$
Etanol	Etanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Canforoquinon a	Camphoroquinona 97%	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$
EDMAB	Etil 4-(dimetilamino)benzoato	$(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$
DPIHFP	Difeniliodonium hexafluorofosfato	$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{I}(\text{PF}_6)$
Prata	Nitrato de prata	AgNO_3
Própolis Vermelha de Alagoas	Componentes: Daidzeina Liquiritigenina Isoliquiritigenina Formonetina Pinocembrina	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$ $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$

Preparo do extrato etanólico de própolis vermelha de Alagoas (EEP) e sua fração hexânica.

[055] A matéria-prima da própolis vermelha brasileira foi coletada da cidade de Marechal Deodoro, estado de Alagoas, Brasil, do apiário da Ilha do Porto (coordenadas geográficas 9° 44.555' S, 35° 52.080' W e 18.1m acima do nível do mar).

[056] Foi realizada a extração por maceração com uso de etanol 80%. A própolis bruta (250g) foi manualmente moída e colocada em um balão com 600mL de etanol 80%, depois colocado em um agitador (Thornton, Modelo T14, Thornton Inpec Eletrônica Ltda., Vinhedo, Brasil) por 48 horas.

[057] O macerado (a porção líquida) foi removido com uma pipeta, e a porção sólida (cera) foi descartada. A maceração foi misturada novamente com 600mL de etanol 80% em um balão de vidro e agitada durante 24 horas. A maceração resultante foi misturada mais uma vez com 600mL de etanol 80% e deixada durante 24 horas sem agitação.

[058] Em seguida, a maceração foi removida com uma pipeta, filtrada através de papel de filtro e submetida à destilação sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (modelo 801/802; Fisatom, São Paulo, Brasil) em banho-maria a 80-90°C (pressão 650mmHg e velocidade 80rpm) para remover o solvente.

[059] O extrato de própolis vermelha foi então colocado em um recipiente de vidro e deixado durante aproximadamente 3 dias para evaporar o solvente residual. Foi obtido 162g de extrato etanólico de própolis vermelha (EEP).

[060] Extrato etanólico de própolis vermelha (10g) foi fracionado por meio de partição líquido-líquido. Para esse efeito, o extrato foi dissolvido em metanol e água na proporção de 8:2 (volume v/v em 50mL). Adicionou-se 15mL de água após agitação vigorosa e deixou-se em repouso durante alguns minutos.

[061] A fase metanol/água foi utilizada como base para a partição, utilizando 100mL de hexano. Neste procedimento, utilizou-se uma agitação suave para evitar a emergência de emulsões e retirou-se a fase hexânica do funil de separação, resultando na fração hexânica.

[062] O volume da fração hexânica foi submetido à destilação sob pressão reduzida num evaporador rotativo semelhante ao procedimento do extrato etanólico de própolis vermelha. Obteve-se uma massa sólida de fração hexânica após evaporação total de solventes.

[063] A massa da fração hexânica foi diluída em uma solução etanol/água (80:20 v/v), sob aquecimento a $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e agitação em 200 rpm, em placa

agitadora/aquecedora (Quimis® Q261M23, Brasil), para se obter uma concentração final de 25 µg/mL de própolis.

[064] O pH da síntese de NPAgB, foi ajustado para 10,6 através da adição de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, o resultado foi obtido através de mensuração em um medidor de pH de bancada – mPA - 210 (MS TecnoPON, São Paulo, Brasil).

[065] A síntese de NPAgB, foi levada novamente para agitação e adicionou-se uma solução de nitrato de prata (AgNO₃) com 500 µM por gotejamento, aguardou-se um período de 30 minutos e a síntese foi armazenada no escuro por 24 horas, sem agitação.

[066] Após o período de 24 horas, levou-se essa suspensão a tubos do tipo Falcon® de 50 mL que foram centrifugados a 15000 rpm por 20 minutos. A seguir, retirou-se o sobrenadante e uniu-se os precipitados em um único tubo (Falcon® de 50mL).

[067] Após isso o sobrenadante residual foi novamente centrifugado nas mesmas condições acima, os precipitados residuais foram unidos.

[068] Depois procedeu-se a lavagem dos precipitados, que foram colocados em tubos do tipo Falcon® centrifugados e lavados por 3 vezes com água deionizada, o precipitado foi removido com auxílio de um dispositivo do tipo conta gotas (pipeta de Pasteur®) e posto em placas de vidro e levados a estufa a 50°C por 24 horas.

[069] Após esse processo as nanopartículas foram raspadas e acondicionadas em microtubos do tipo Eppendorfs® de 1,5 mL e guardadas no escuro.

[070] O adesivo experimental foi preparado a partir de uma mistura na razão de 40/60 (m/m) dos monômeros hidroxietil metacrilato (HEMA) e *bisfenol A-glicidil* metacrilato (BisGMA). Após essa fase, adicionou-se, canforoquinona e 4-dimetil amina benzoato de etila –EDMAB, sob agitação, que foi o sistema fotoiniciador utilizado. Por fim, levou-se a mistura ao agitador até adquirir um caráter homogêneo e uma coloração amarelo límpida. O adesivo experimental puro foi armazenado em frasco plástico de cor âmbar a 4°C.

[071] As nanopartículas em pó foram incorporadas de ao adesivo experimental puro para formular um adesivo com nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas na concentração de 250 µg/mL.

[072] O adesivo experimental puro, adesivo experimental com etanol (diluyente) e o adesivo comercial Single Bond 2 (3M/ESPE) foram usados como controles.

RESULTADOS OBTIDOS

Grau de Conversão

[073] A **Figura 1** apresenta o percentual médio do grau de conversão do adesivo odontológico contendo nanopartículas de prata bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas na concentração de 250 µg/mL e controles. Não houve diferença estatística significativa entre os adesivos ($p=0,185$). O grau de conversão do adesivo com nanopartículas bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas foi de 71,19%, o adesivo experimental puro e a mistura adesivo experimental com etanol alcançaram 79,58% e 77,63% de conversão. O adesivo comercial SingleBond 2 (3M/ESPE) foi utilizado como comparação e apresentou 76,82% de grau de conversão. Assim, os resultados estão de acordo com a literatura, O adesivo produzido nesse experimento tem a mesma base monomérica do adesivo comercial 3M-Single Bond 2 (3M, Saint Paul, MN, USA) e apresentou valor médio de GC semelhante (77,63%) àqueles registrados nos estudos de Almeida et al. (Almeida, GS et al. ZnCl₂ Incorporated into Experimental Adhesives: Selected Physicochemical Properties and Resin-Dentin Bonding Stability. **Biomed Research International**, 2017) e Brianezzi et al. (Brianezzi, LFF et al. Does laser diode irradiation improve the degree of conversion of simplified dentin bonding systems? **Journal Of Applied Oral Science**, 2017), que obtiveram, respectivamente, os valores de 73,50% e 73,00%. Isso mostra que o adesivo produzido com nanopartículas bio sintetizadas com própolis vermelha de Alagoas apresentou grau de conversão adequado para esse tipo de material.

Atividade antimicrobiana

Concentração inibitória mínima – CIM

[074] Comparando-se com as nanopartículas de prata pura (síntese convencional), as nanopartículas biossintetizadas com própolis mostraram maior atividade antibacteriana e também bactericida, exceto para a atividade antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, onde podemos observar a CIM foi de 2,5 µg/mL para os dois tipos de NPs (Tabela 1).

Tabela 2. Valores de CIM das nanopartículas, frente a bactérias testadas.

Nanopartículas Microorganismos

	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
NPsAgC	20 µg/mL	2,5 µg /mL	>20 µg/mL	5 µg/mL
NPsAgB	10 µg/mL	2,5 µg /mL	20 µg/mL	2,5 µg/mL

[075] **NPsAgC:** Nanopartículas de prata (síntese convencional). **NPsAgB:** Nanopartículas de prata (síntese biológica, com própolis vermelha de Alagoas).
Fonte: O autor (2020)

Concentração bactericida mínima – CBM

[076] Os valores de CBM (Tabela 2) foram determinados pela concentração mínima das nanopartículas que impedia o crescimento bacteriano. Obteve-se um ótimo efeito bactericida em baixas concentrações de nanopartículas frente aos *Streptococcus mutans* (10 µg/mL para as NPsAgB e > 20 µg/mL para NPsAgC). Com relação a *Enterococcus faecalis* foram obtidos resultados muito bons (5 µg /mL para os dois tipos de nanopartículas) sugerindo efetividade bactericida frente a esse microorganismo.

Tabela 3. Valores de CBM, frente as bactérias testadas.

Nanopartículas Microorganismos

	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
NPsAgC	>20 µg/mL	5 µg/mL	>20 µg/mL	10 µg/mL
NPsAgB	10 µg/ML	5 µg/mL	>20 µg/mL	5 µg/mL

[077] **NPsAgC**: Nanopartículas de prata (síntese convencional). **NPsAgB**: Nanopartículas de prata (síntese biológica, com própolis vermelha de Alagoas). Fonte: O autor (2020).

Meio de difusão em disco – MDD

[078] O teste de MDD foi modificado e inserido nesse trabalho. A adição de NPAgC ou NPAgB em qualquer concentração reduziu o crescimento bacteriano, que pode ser evidenciado pela presença de halos de inibição maiores do que o formados pelo adesivo experimental puro e pelo adesivo comercial SB.

[079] O grupo NPAgB, que continha o adesivo experimental puro com 250 µg de NPAgB na sua composição, formou o maior halo de inibição, indicando, assim, que as nanopartículas biossintetizadas possuem atividade bactericida melhor do que as nanopartículas de prata convencionais. Os halos de inibição contendo 250 µg de NPAgC formaram um raio de 2,7mm, comparado à 3,4 mm obtidos através das nanopartículas biossintetizadas, demonstrando superioridade antimicrobiana das NPAgB.

Tabela 4. Valores de halo de inibição dos adesivos testados.

AMOSTRAS	HALO DE INIBIÇÃO (mm)	LEGENDAS
AE	0,00	Adesivo experimental puro
SB	0,00	Adesivo comercial
NPAgB	3,40	NPAgB 250 µg/mL
NPAgC	2,70	NPAgC 250 µg/mL

[080] **AE**: Adesivo puro; **BR**: Adesivo + etanol; **SB**: Adesivo comercial; **NPAgB**: Adesivo com nanopartículas biossintetizadas com própolis vermelha de Alagoas; **NPAgC**: Adesivo com nanopartículas de prata sintetizadas de modo convencional, sem própolis. Fonte: O autor (2020).

Liberação de NPAgB e NPAgC em saliva pH 6,8 e 4,0

[081] Os espectros UV-Vis foram analisados em software Microcal Origin® (Microcal Software Inc., Northampton, MA, EUA), para observar a liberação de nanopartículas ou de compostos do adesivo polimerizado. Embora não tenha sido observado no espectro a liberação de nenhuma substância, nem no pH 6,8 e nem no pH 4,0. Esse resultado confere ao material uma característica desejada, que é a imobilização do

agente bioativo no material e o efeito antimicrobiano por contato, que foi demonstrado no teste de difusão em disco (Tabela 3).

[082] A liberação de agentes antimicrobianos do material resinoso pode resultar em efeitos adversos decorrentes desta liberação e, por consequência, em redução de suas propriedades mecânicas, físico-químicas e biocompatibilidade, devido à liberação concomitante de monômeros livres (Beyth, N. et al. Antibacterial dental resin composites (**Reactive & Functional Polymers**. v.75, p.81-88, 2014; Makvandi, P. et al. Antibacterial quaternary ammonium compounds in dental materials: A systematic review. **Dental Materials**. v.34, p.851-867, 2018).

Atividade antioxidante (AA%)

[083] Na Figura 2 apresenta-se a AA% do Extrato bruto da própolis utilizada (EPV), NPAgB e NPAgC, O melhor efeito sequestrador de radicais livres se deu pelas nanopartículas de prata obtidas por síntese biogênica com própolis vermelha de Alagoas.

VANTAGENS DA PATENTE

[084] De acordo com os achados obtidos deste material, o adesivo com a incorporação de nanopartículas de prata biossintetizadas com o extrato de própolis vermelha, mostram estabilidade do material quando polimerizado, não havendo liberação de prata nos tecidos circundantes, dando uma maior estabilidade e segurança deste material para ser usado, além de sua atividade antimicrobiana e antioxidante.

[085] A prospecção tecnológica demonstrou potencial para elaboração desta patente, pois trata-se de um material inovador, inédito e com propriedades altamente desejadas para aplicação na área odontológica.

REIVINDICAÇÕES

1. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, caracterizado por conter a adição de nanopartículas de prata biossintetizadas com própolis vermelha de Alagoas (PVA).
2. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1, caracterizado por ser utilizado em restaurações adesivas no tratamento de lesões cariosas e não-cariosas e também na adesão de coroas totais e parciais.
3. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1 e 2, caracterizado por ser uma composição líquida contendo BisGMA, HEMA, etanol e um sistema fotoiniciador.
4. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1, 2 e 3, caracterizados por conter PVA.
5. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por apresentar grau de conversão sem alteração após a adição das nanopartículas de prata biossintetizadas com PVA.
6. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por conter nanopartículas de prata biossintetizadas com PVA em sua composição, que possuem ação antimicrobiana efetiva contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacilos*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus epidermidis*.
7. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos**, conforme reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por possuir comprovada atividade antioxidante dos componentes adicionados e reduzir os radicais livres na dentina, apresentando, por isso, potencial para inibir metaloproteinases da dentina.

8. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos** contendo PVA, conforme reivindicação 7, caracterizado por oferecer potencial de proteção às fibrilas de colágeno desprotegidas na camada híbrida e potencial para aumentar a durabilidade da interface adesiva.
9. **Adesivo dental fotopolimerizável à base de metacrilatos** contendo PVA, conforme reivindicações 1 a 8, caracterizado por ser potencialmente capaz de prolongar a meia vida das restaurações adesivas.

DESENHOS

FIGURA 01

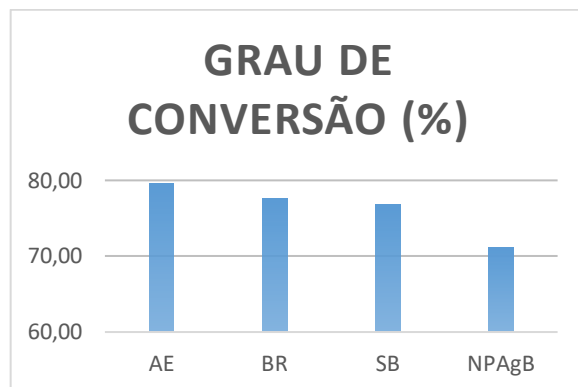


FIGURA 02

