



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0904752-2 B1



(22) Data do Depósito: 06/11/2009

(45) Data de Concessão: 16/07/2019

(54) Título: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO, A PARTIR DE CIMENTO RESINOSO, PRODUTO E USO

(51) Int.Cl.: A61K 9/18; A61K 8/73; A61K 31/155; A61Q 11/00.

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS.

(72) Inventor(es): RUBEN DARIO SINISTERRA MILLAN; MARIA ESPERANZA CORTEZ; ELIETE MARÇAL GUIMARÃES RASO.

(57) Resumo: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO, A PARTIR DE CIMENTO RESINOSO, PRODUTO E USO A presente invenção descreve um sistema de liberação controlada baseado na sílica porosa (S) nanoparticulada contendo clorexidina e seus sais, e seus compostos de inclusão ou associação com ciclodextrinas, a partir de um cimento resinoso polimerizável (O), e produto para uso odontológico. O sistema, ora proposto, permite levar o agente antimicrobiano diretamente ao sítio alvo de contaminação, causado por microorganismos, particularmente do gênero *Enterococcus* sp. e *Candida* sp. Em seu aspecto mais geral, a presente invenção descreve sistemas de liberação controlada contendo diacetato dicloridrato e digluconato de clorexidina, OxA, CxD e CxG, respectivamente, puros ou livres e em forma de compostos de inclusão, em ciclodextrina, em proporção molar que pode variar de 1:1 a 4:1(ciclodextrina/digluconato de clorexidina ou diacetato de clorexidina ou dicloridrato de clorexidina), não restrito.

PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO, A PARTIR DE CIMENTO RESINOSO, PRODUTO E USO.

Campo da Invenção

5 A presente invenção descreve um sistema de liberação controlada baseado na sílica porosa (S) nanoparticulada contendo clorexidina e seus sais, e seus compostos de inclusão ou associação com ciclodextrinas, a partir de um cimento resinoso polimerizável (C), e produto para uso odontológico. O sistema, ora proposto, permite levar o agente antimicrobiano diretamente ao
10 sítio alvo de contaminação, causado por microorganismos, particularmente do gênero *Enterococcus sp.* e *Candida sp.*

 Em seu aspecto mais geral, a presente invenção descreve sistemas de liberação controlada contendo diacetato, dicloridrato e digluconato de clorexidina, CxA, CxC e CxG, respectivamente, puros ou livres e em forma de
15 compostos de inclusão, em ciclodextrina, em proporção molar que pode variar de 1:1 a 4:1(ciclodextrina/digluconato de clorexidina ou diacetato de clorexidina ou dicloridrato de clorexidina), não restrito.

Estado da técnica

 A prática da Odontologia abrange uma grande variedade de
20 procedimentos, que podem incluir desde um simples exame até uma cirurgia mais complexa. Após esses procedimentos, infecções remanescentes são uma grande preocupação, independente do tipo de intervenção realizada. Um exemplo específico é o reaparecimento de bactérias, após o tratamento de um canal radicular (tratamento endodôntico), que podem levar ao desenvolvimento
25 de lesões periapicais (ZENG, P. et al. Concentration dependent aggregation properties of chlorhexidine salts. *Int J Pharm*, 367, 1-2, 73-78, 2009).

 A assepsia do canal radicular contaminado é o foco primordial do tratamento endodôntico, e a persistência de microorganismos compromete o seu sucesso. O tratamento endodôntico começa pela preparação mecânico-
30 química do conduto radicular, que compreende o alargamento e conformação

do conduto através de brocas e limas, removendo mecanicamente uma camada de dentina contaminada, e irrigação simultânea do conduto com soluções antimicrobianas à base de hipoclorito de sódio. O conduto, então, é preenchido com uma medicação intracanal, geralmente hidróxido de cálcio, até o momento do fechamento final (obturação). Durante a obturação final, o conduto é preenchido com finos cones de guta-percha, que são levados ao canal junto com um agente cimentante à base de óxido de zinco e eugenol, com o objetivo de selar o conduto.

Apesar das propriedades antimicrobianas da preparação mecânico-química e da medicação intracanal entre as consultas, a eliminação dos microorganismos pode não ser completa devido à diferença entre a vulnerabilidade das espécies envolvidas, bem como devido à complexa anatomia dos canais e, a permanência de microorganismos viáveis no conduto contribui significativamente para o insucesso do tratamento (KOMOROWSKI, R., GRAD, H., WU, X.Y., FRIEDMANN, S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treateds bovine root dentin. *J Endod*, 26, 6, 315-317, 2000; GOMES, B.P.F.A. et al. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. *J Dent*, 31, 1, 76-81, 2009; DAMETTO, F.R. et al. *Source: Oral surgery oral medicine oral pathology oral radiology and endodontics*, 99, 6, 768-772, 2005).

Os canais radiculares podem ser colonizados, por no mínimo 150 espécies de microorganismos e alguns deles são responsáveis por lesões endodônticas associadas à necrose pulpar. Esses microorganismos também são encontrados dentro dos túbulos dentinários dos canais e podem reinfetar o canal após o tratamento, se não forem eliminados. Dentre esses microorganismos destaca-se o *Enterococcus faecalis*, que penetra facilmente nos túbulos dentinários, resistindo às soluções irrigadoras do canal. Além do *Enterococcus faecalis*, a *Candida albicans* também é frequentemente observada nas lesões periapicais refratárias, e tem fatores de virulência importantes, que podem contribuir para o desenvolvimento dessas lesões, sendo consideradas as espécies mais resistentes (CARDOSO, M.G. et al. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*,

and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105, 3, 85-91, 2008).

Diversos autores identificaram o *Enterococcus faecalis* como a espécie predominante encontrada em lesões periapicais persistentes em canais previamente tratados. A eliminação completa do *Enterococcus faecalis* é difícil devido a sua inerente resistência frente aos agentes antibacterianos, aliada à sua habilidade em sobreviver no ambiente inóspido do canal, durante a preparação mecânico-química. Quando o ambiente torna-se propício novamente, a bactéria retoma sua função normal podendo formar biofilme (KISHEN, A. et al. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. *J Endod*, 34, 7, 850-854, 2008; LEE, J-K. et al. Chlorhexidine gluconate attenuates the ability of lipoteichoic acid from *Enterococcus faecalis* to stimulate toll-like receptor 2. *J Endod*, 35, 2, 212-215, 2009; WILLIAMSON, A.E., CARDON, J.W., DRAKE, D.R. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 35, 1, 95-97, 2009).

O protocolo convencional de preparação mecânico-química e de medicação intracanal, entre as consultas, tem se mostrado ineficaz na eliminação do *Enterococcus faecalis* e da *Candida albicans*. Rosenthal S. e colaboradores demonstraram que a utilização da solução irrigante hipoclorito de sódio, e do hidróxido de cálcio como medicação intracanal não foram capazes de eliminar esses microorganismos, e também não apresentaram substantividade. Os autores propuseram então, diversas formas de associação entre esses agentes antimicrobianos e a clorexidina obtendo resultados satisfatórios, tanto como solução irrigadora, como para medicação intracanal (ROSENTHAL, S., SP NGBERG, L., SAFAVI, K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 98, 4, 488-492, 2004). Outros autores também relataram a ineficácia da utilização apenas de soluções irrigantes para descontaminação do conduto radicular (BASRANI, B., GHANEM, A., TJÄDERHANE, L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod*, 30, 6, 413-417, 2004; SCHÄFER, E., BÖSSMANN, K. Antimicrobial

efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 31, 1, 53-56, 2005; DAMETTO, F. R et al. Source: ORAL SURGERY ORAL MEDICINE ORAL PATHOLOGY ORAL RADIOLOGY AND ENDODONTICS, 99, 6, 768-772, 2005; ERCAN, E., DALLI, M., DÜLGERGIL, Ç.T. In vitro assessment of effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102, 2, 27-31, 2006; PAQUETTE, L. et al. Antibacterial efficacy of chlorhexidine gluconate intracanal medication in vivo. *J Endod*, 33, 7, 788-795, 2007).

Recentemente, a clorexidina tem sido recomendada para os tratamentos radiculares devido à sua ação antimicrobiana, alta substantividade, ou seja, após sua adsorção aos tecidos dentários sua liberação ocorre em níveis terapêuticos de forma lenta e prolongada. Além disso, estudos in vitro demonstraram que a clorexidina produz menos efeitos adversos que o hipoclorito de sódio, podendo ser utilizada em baixas concentrações (LENET, B.J. et al. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod*, 26, 11, 652-655, 2000). Entretanto, para atingir a substantividade com efeito antimicrobiano, por tempo mais prolongado, a exposição da dentina infectada à clorexidina precisa ocorrer por um tempo maior, tornando necessário o desenvolvimento de dispositivos intracanal que possibilitem essa exposição prolongada.

A substância quimioterápica mais efetiva contra o *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *S. mutans* tem sido a clorexidina. Sua efetividade antimicrobiana deve-se à adsorção devido à grande afinidade entre a parede aniônica do microorganismo e a forte carga catiônica da molécula. Essa adsorção aumenta a permeabilidade da membrana bacteriana, permitindo a penetração da substância no citoplasma, causando-lhe a morte (HUGO, W.B., LONGWORTH, A.R. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J*, 16, 10, 655-662, 1964).

Uma das tentativas para levar e manter a clorexidina no conduto foi o desenvolvimento de quatro protótipos para liberação controlada de clorexidina intracanal, utilizando cone de papel absorvente contendo clorexidina não

revestidos, e revestidos com a quitosana, o PLGA (ácido poli-láctico glicólico) e o PMMA (poli-metil-metacrilato) (LEE, D-Y. et al. The sustained effect of three polymers on the release of chlorhexidine from a controlled release drug device for root canal disinfection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 100, 2, 105-111, 2005). O dispositivo não revestido apresentou liberação mais rápida (duas horas) se comparado àqueles revestidos pela quitosana, PLGA e PMMA respectivamente, mostrando que o recobrimento com o polímero pode controlar a liberação do fármaco. A efetividade antibacteriana desses mesmos dispositivos recobertos com PMMA foi avaliada frente ao *E. faecalis* inoculados em dentina radicular de dentes humanos. Os dispositivos foram comparados a uma solução salina (controle positivo), uma solução salina de hidróxido de cálcio, a dispositivos de PMMA sem clorexidina e a uma solução 0,2% de clorexidina. Os resultados mostraram que a efetividade antimicrobiana foi mantida pelo dispositivo contendo clorexidina recoberto com PMMA durante o período experimental (1 semana), e foi superior à irrigação com solução de clorexidina 0,2% (LEE, Y. et al. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. *J Endod*, 34, 7, 855-858, 2008).

A finalidade básica do agente cimentante é promover a união entre o pino e as paredes do conduto radicular, e preencher os espaços existentes entre esses substratos (ROSENSTIEL, S. F., LAND, M. F., CRISPIN, B. J. Dental luting agents: a review of current literature. *J Prosthet Dent*, 80, 3, 280-301, 1998). Classicamente, têm sido descritos quatro tipos de agentes cimentantes: cimento fosfato de zinco, cimento de policarboxilato de zinco, cimento de ionômero de vidro e, mais recentemente, os cimentos resinosos que apresentaram uma significativa evolução em relação aos seus antecessores, por serem insolúveis no meio bucal e, compatíveis com os sistemas adesivos modernos. Estudos comparativos entre as propriedades físicas e mecânicas de cimentos convencionais e resinosos mostraram que os cimentos resinosos possuem a melhor combinação dessas propriedades (UY, J. N. et al. Load fatigue performance of gold crowns luted with resin cements. *J Prosthet Dent*, 95, 4, 315-322; ATTAR, N., TAM, L. E., McCOMB, D.

Mechanical and physical properties of contemporary dental luting agents. *J Prosthet Dent*, 89, 2, 127-134, 2003; IRIE, M., SUZUKI, K., WATTS, D. C. Marginal and flexural integrity of three classes of luting cement, with early finishing and water storage. *Dent Mater*, 20, 1, 3-11, 2004).

- 5 Os cimentos resinosos podem ser classificados em três categorias de acordo com a forma de iniciação de sua reação de polimerização: a) os autopolimerizáveis, que possuem sistema de indução por peróxido de benzoíla (pasta base) e uma amina terciária (pasta catalisadora) que entram em contato após a manipulação das duas pastas, e são indicados para a cimentação de
- 10 restaurações de grande espessura e pinos intraradiculares, nos quais a luz para fotopolimerização não consegue penetrar satisfatoriamente; b) os fotopolimerizáveis (pasta única), nos quais o iniciador da polimerização é a canforoquinona ativada por uma fonte de luz externa, indicados para restaurações delgadas; c) e os cimentos com duplo sistema de polimerização
- 15 ou dual, nos quais ocorre tanto a polimerização ativada pela luz quanto aquela iniciada pelo peróxido de benzoíla (PAGANI, D. F. et al. Resin cements: actuality. *J Prosthet Dent*, 70, 5, 503-511, 2000).

Em uma revisão sobre as propriedades antimicrobianas de diversos compostos resinosos, concluiu-se que a maioria dos produtos disponíveis

20 comercialmente não tinha propriedades antimicrobianas significativas. A efetividade demonstrada por alguns materiais não apresentou relevância clínica. Esses resultados não foram surpreendentes, pois os componentes fundamentais destes compostos apresentam pouco ou nenhum efeito bacteriostático/bactericida (IMAZATO S. Antibacterial properties of resin

25 composites and dentin bondin systems. *Dent Mater*, 19, 6, 449-457, 2003). A carga de preenchimento, que em geral é a sílica, é inerte, e os monômeros constituintes da matriz bis-GMA (bisfenol-A glicidilmetacrilato), TEGDMA (tri-etileno-glicol dimetacrilato) ou UDMA (uretano dimetacrilato) também não são ativos frente ao *S. mutans* e o catalisador nesses compostos em geral, é uma

30 amina terciária, que só tem efeito antimicrobiano em altas concentrações.

Visto que as propriedades antimicrobianas dos materiais resinosos, incluindo os agentes cimentantes, não se mostraram relevantes clinicamente, a

incorporação de várias classes de antimicrobianos, em variadas concentrações, mostrou-se um caminho viável para superar o problema. Uma das primeiras tentativas de associação material resinoso/antimicrobiano avaliou a adição da clorexidina a resinas compostas restauradoras. Os resultados

5 mostraram que a atividade antimicrobiana frente ao *S. mutans* aumentou sensivelmente, sem alterações significativas das propriedades mecânicas da resina (JEDRYCHOWSKI, J.R., CAPUTO, A.A., KERPER, S. Antibacterial and machanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil*, 10, 5, 373-381, 1983).

10 A incorporação de diacetato de clorexidina a dois tipos de cimentos resinosos diferentes, um autopolimerizável e outro dual, mostrou efetividade antimicrobiana frente ao *S.mutans*, e alteração das propriedades mecânicas, havendo diminuição na microdureza Knoop (AKAKI, E. et al. SEM/EDX and FTIR characterization of a dental resin cement with antibacterial agents

15 incorporated. *Key Engin. Mat.*, 284-286, 391-394, 2005).

MEHDAWI, I. e colaboradores propuseram a incorporação de monofosfato de cálcio hidratado (MCPM), β -tricálcio fosfato e diacetato de clorexidina a compostos resinosos à base de metacrilatos, produzindo um material com propriedades antimicrobianas e remineralizantes. A hipótese dos

20 autores era que o MCPM solúvel aumentaria a sorção de água pela resina, aumentando a liberação de clorexidina e de fosfato de cálcio. Os resultados mostraram que a liberação de clorexidina foi proporcional à raiz quadrada do tempo por quatro semanas, como esperado para um processo de liberação controlado por difusão. Após esse período, a liberação diminuiu

25 significativamente, possivelmente devido à precipitação de cristais de fosfato de dicálcio dihidratado. Outra razão, poderia ser a natureza catiônica da clorexidina, que poderia se ligar a íons fosfato ou cloreto, formando sais de baixa solubilidade. Todas as amostras contendo clorexidina mostraram atividade antimicrobiana tanto no teste de difusão em ágar, quanto nos estudos

30 com biofilmes, quando comparadas ao controle (MEHDAWI, I. et al. Development of remineralizing, antibacterial dental materials. *Acta Biomater.*, 5, 7, 2525-2539, 2009).

Em outro aspecto, diversos sistemas carreadores têm surgido nos últimos anos, visando melhorar o padrão de administração dos fármacos diminuindo a frequência de dosagem, a toxicidade e melhorando a eficiência terapêutica. Dentre estes sistemas podemos citar as microesferas com polímeros orgânicos, as micelas, lipossomas, nanoesferas encapsuladas, sistemas baseados na formação de compostos de inclusão com as ciclodextrinas e sistemas baseados na sílica porosa em suas variadas apresentações.

Dispositivos de liberação controlada têm como princípio básico a liberação lenta de certa quantidade de um princípio ativo, com alvo específico, por determinado intervalo de tempo, de forma eficiente e precisa. Cumprindo esses requisitos, surgem as ciclodextrinas, que são oligossacarídeos cíclicos, contendo uma cavidade hidrofóbica e superfície externa hidrofílica.

A configuração tridimensional mais estável para as ciclodextrinas é o formato de um cone truncado. Ambas as bordas do cone estão ocupadas por hidroxilas que lhe conferem solubilidade em água.

A presença dessa cavidade hidrofóbica faz com que as ciclodextrinas sejam capazes de alojar uma molécula convidada, formando assim compostos de inclusão. A principal propriedade das ciclodextrinas é sua habilidade em alterar as propriedades físico-químicas e biológicas de princípios ativos, tais como solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. A capacidade das ciclodextrinas de formar compostos de inclusão baseia-se na versatilidade de suas propriedades físicas e químicas, as quais possibilitam a formação de interações intermoleculares do tipo hóspede-hospedeiro com outras moléculas sendo que, ligações covalentes não são estabelecidas entre as espécies. A formação de compostos de inclusão está baseada nos princípios da química supramolecular, na qual as interações entre dois ou mais componentes em um arranjo organizado são feitas por forças intermoleculares fracas, tipo van der Waals, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas ou interações hidrofóbicas (DUCHÊNE, D., WOUESSIDJEW, D., PONCHEL, G. Cyclodextrins and carrier systems. *J Control Release*, 62, 1-2, 262-268, 1999;

UEKEAMA, K., IRIE, T. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J Pharm Sci*, 86, 2, 147-162, 1997).

As interações que ocorrem entre o diacetato de clorexidina e a β -ciclodextrina foram relatadas por QI, H. e colaboradores (QI, H., NISHIHATA, T., RYTTING, J.H. Study of the interactions between β -cyclodextrin and chlorhexidine. *Pharm Res*, 11, 8, 1207-1210, 1994). A caracterização e avaliação do composto de inclusão entre o cloridrato de clorexidina e a β -ciclodextrina foram relatadas por Cortés, M. e colaboradores (CORTÉS, M. E. et al. The chlorhexidine: β -cyclodextrin inclusion compound: Preparation, characterization and microbiological evaluation. *J Inclusion Phenom* 40, 4, 297-302, 2001). O complexo molecular clorexidina: β -ciclodextrina é considerado de alta substantividade, ou seja, permanece em contato com o sistema biológico por tempo prolongado, pois pode se ligar a grupos hidroxila de diversas estruturas, aumentando o nível de ação da clorexidina. (DENADAI, A.M.L. et al. Supramolecular self-assembly of β -cyclodextrin: an effective carrier of antimicrobial agent chlorhexidine. *Carbohydr Res*, 342, 15, 2286-2296, 2007).

A sílica porosa constitui-se de um retículo tridimensional de partículas e poros, formando uma rede de túneis interligados, produzindo um sólido altamente poroso. A estrutura das paredes dos poros é uma cadeia de pontes de siloxanos e grupos silanóis livres capazes de reagir com moléculas hóspedes capazes de formar ligações químicas, físicas ou interações intermoleculares, comportando-se como uma matriz para adsorção e liberação controlada. Devido à sua porosidade, tem sido muito utilizada como carreador de diversas classes de fármacos (FIDALGO, A., ILHARCO, L.M. Correlation between physical properties and structure of silica xerogels. *J Non-Crystalline Solids*, 347, 1-3, 128-137, 2004; VALLET-REGÍ, M. et al. Hexagonal ordered mesoporous material as a matrix for the controlled release of amoxilin. *Solid State Ionics*, 172, 1-3, 435-439, 2004; LI, Z. Z. et al. Fabrication of porous hollow silica nano particles and their applications in drug release control. *J Control Release*, 98, 2, 245-254, 2004). A sílica porosa, na forma de aerogéis e xerogéis, tem atraído muita atenção devido às suas características e propriedades: baixa densidade, alta estabilidade química, baixa constante

dielétrica e alta resistência térmica. É inorgânica, amorfa, biodegradável, compatível com a maioria das moléculas, biocompatível e bioativa, e apresenta ainda grande área superficial específica, e suas propriedades de superfície e morfológicas podem ser controladas durante a síntese (KORTESUO, P. et al.

- 5 Silica xerogel as an implantable carrier for controlled drug delivery- Evaluation of drug distribution and tissue effects after implantation. *Biomater*, 21, 2, 193-198, 2000; CHEN, J.F. et al. Preparation and characterization of porous hollow silica nanoparticles for drug delivery application. *Biomater*, 25, 4, 723-727, 2004).

- 10 A incorporação do fármaco à sílica pode ser feita diretamente por meio da embebição do gel seco em uma solução concentrada do fármaco, com ou sem pressão, ou incorporando-o ao sol durante a síntese. O segundo processo leva a uma distribuição heterogênea do fármaco no gel, o que pode afetar a taxa de liberação, embora em geral, a taxa de incorporação seja maior nesse
- 15 processo (WANG, S. Ordered mesoporous materials for drug delivery. *Micropor Mesopor Mat*, 117, 1-2, 1-9, 2009).

- A natureza físico-química das interações fármaco-sílica estabelece o padrão de adsorção e liberação da molécula incorporada. Essas interações dependem da estrutura dos poros (tamanho, presença de grupos silanóis livres
- 20 em suas paredes), dos grupos funcionais presentes na molécula a ser incorporada, e da funcionalização da sílica com outros grupos funcionais de interesse.

- A influência do tamanho do poro das matrizes de sílica na taxa de liberação do ibuprofeno foi estudada por HORCAJADA e colaboradores. Os
- 25 autores observaram que quanto menor o tamanho do poro, menor a taxa de incorporação e de liberação (HORCAJADA, P. et al. Influence of pore size of MCM-41 matrices on drug delivery rate. *Micropor Mesopor Mat*, 68, 1-3, 105-109, 2004). Em relação aos grupos silanóis livres, quanto maior a presença desses grupos, mais interações de hidrogênio poderiam ser formadas entre o
- 30 fármaco e a matriz de sílica. As características da molécula convidada também devem ser consideradas, pois se observa que fármacos neutros são liberados mais rapidamente, enquanto os básicos teriam liberação mais sustentada. Para

aumentar essas interações sílica-fármaco a matriz pode ser funcionalizada, e os grupos funcionais presentes no fármaco são de grande importância para determinar quais os grupos ideais para a funcionalização (WANG, S. Ordered mesoporous materials for drug delivery. *Micropor Mesopor Mat*, 117, 1-2, 1-9, 2009).

Inúmeros trabalhos vêm registrando a biocompatibilidade e bioatividade da sílica porosa, consolidando cada vez mais seu uso em sistemas de liberação implantáveis e reabsorvíveis possibilitando a liberação de compostos. Como exemplo, pode-se citar o uso da sílica porosa com a heparina, facilitando a sua aplicação, pois esses sistemas não precisam ser removidos posteriormente (TEBBE, D., THULL, R., GBURECK, U. Correlation between heparin release and polymerization degree of organically modified silica xerogels from 3-methacryloxypropylpolysilsesquioxane. *Acta Biomater*, 3, 6, 829-837, 2007), o uso de implantes subcutâneos contendo toremifene (KORTESUO, P. et al. Silica xerogel as an implantable carrier for controlled drug delivery- Evaluation of drug distribution and tissue effects after implantation. *Biomater*, 21, 2, 193-198, 2000), recobrimento de pinos de titânio utilizados na fixação de fraturas com um filme fino de sílica xerogel contendo vancomicina (RADIN, S. & DUCHEYNE, P. Controlled release of vancomycin from thin sol-gel films on titanium alloy fracture plate material. *Biomater*, 28, 9, 1721-1729, 2007).

No estado da técnica, o pedido de patente PI 0702738-9 revela um processo de preparação de um dispositivo de liberação controlada de agentes antibióticos ou anti-sépticos incluídos ou associados em ciclodextrina em uma base de guta-percha, bem como seus produtos e os seus usos. A aplicação desta tecnologia abrange o uso clínico do produto como material para a Odontologia (obturação de canais radiculares, medicação intracanal, agente restaurador temporário de cavidades e anti-hemorrágico). O trabalho descreve uma técnica para aumentar a atividade biológica a partir da inclusão ou associação à ciclodextrina, porém o documento não relaciona o seu uso em uma formulação a partir de um cimento resinoso contendo um dispositivo de liberação controlada, a partir de uma base de sílica porosa.

Assim também, o pedido de patente PI 0405347-8 revela um processo de preparação de géis mucoadesivos para prevenção de cárie, usos e produtos derivados. Caracteriza-se por aprimorar o processo de preparação de géis entre polímeros aniônicos, e a clorexidina, e entre os polímeros não-iônicos, e os compostos de inclusão em ciclodextrina tornando-os compatíveis, com a adição de ácido cítrico e/ou antioxidante. O processo descrito melhorou a solubilidade dos sais de acetato, cloridrato e digluconato de clorexidina, e desta forma se obtiveram géis homogêneos, mucoadesivos, com atividade prolongada contra *S. mutans*, *E. faecalis* e *Cândida albicans* em baixas concentrações para a prevenção de cáries dentais, porém o documento não relaciona o seu uso em uma formulação a partir de um cimento resinoso contendo um dispositivo de liberação controlada, baseado na sílica porosa.

O documento WO/2001/074321 diz respeito à aplicação tópica de uma solução de clorexidina seguida pela aplicação de um selante em superfícies radiculares expostas, evitando a destruição do cimento e esmalte exposto associado à junção cimento-esmalte, e evitando a inflamação do tecido gengival. Esse documento reivindica a liberação controlada da clorexidina, porém, ele não apresenta a formulação baseada em sílica porosa, a partir de um cimento resinoso.

A patente US 4,288,355 diz respeito a um cimento cirúrgico compreendendo composições de um concentrado não gelificado de policarboxilatos em uma solução aquosa de ácido clorídrico e uma suspensão aquosa de óxido metálico em pó que quando misturados formam uma massa plástica que é moldável no formato desejado antes que endureça. Também relata a possibilidade de incorporação de agentes bacteriostáticos na pasta, porém, não cita e nem reivindica nada relacionado à liberação controlada de fármacos, onde a invenção destaca a liberação do flúor.

A patente US 6,437,019 fornece um sistema cimento ionomérico de partes múltiplas que compreende uma composição orgânica que é substancialmente isenta de água, e uma composição aquosa compreendendo água. A composição contém pelo menos um componente hidrofílico e um composto de função ácida cujo peso é superior a 1,0% do peso da composição

orgânica. Os ingredientes líquidos das composições são miscíveis, ambos quando em composições distintas e quando misturados. Embora a clorexidina e a sílica poderiam estar presentes, esta invenção não visa à liberação controlada e dá destaque a liberação de flúor.

- 5 A patente US 4,171,544 diz respeito a uma composição consistindo de vidro e cerâmica de alta porosidade com pelo menos cerca de 80% de dióxido de silício (sílica) com grande área superficial específica, capaz de desenvolver fortes laços com o tecido ósseo. Essa composição acrescida de cimento inorgânico forma um forte vínculo com os ossos e implantes quando utilizado
- 10 na fixação de implantes odontológicos e cirúrgicos. Essa invenção não se relaciona à dispositivos de liberação controlada de fármacos.

Problemas do estado da técnica

- A análise do estado da técnica mostra inúmeras tentativas do uso da clorexidina, descrita como o melhor padrão para agentes antimicrobianos, associada a materiais resinosos. Relata também, problemas significativos
- 15 como a redução das propriedades mecânicas das matrizes resinosas, precipitação em presença de íons cloreto formando sais de baixa solubilidade que, mesmo em baixas concentrações reduzem a taxa de liberação, as taxas de incorporação e a biocompatibilidade.

- 20 Por outro lado, a alta incidência da ocorrência de lesão periapical recorrente devido à proliferação de microorganismos após os tratamentos endodônticos reforça a necessidade da presença de agentes antimicrobianos no canal radicular após o tratamento.

Vantagens da invenção

- 25 Uma estratégia para superar os problemas encontrados, seria a utilização da clorexidina na forma de sistemas de liberação controlada, baseados nos princípios da química supramolecular, usando o encapsulamento molecular do tipo hospedeiro:hóspede (fármaco: ciclodextrina), e o posterior encapsulamento em sílica porosa. O estado da técnica atual não descreve um
- 30 processo de preparação de um dispositivo de liberação controlada de agentes

antimicrobianos incluídos ou associados à ciclodextrina em uma base de sílica porosa, a partir de cimentos resinosos polimerizáveis.

Neste sentido a presente invenção propõe uma associação inovadora da nanotecnologia da sílica porosa com a química dos compostos de inclusão e um antimicrobiano. Mais particularmente, propõe o uso de ciclodextrinas associadas à clorexidina como agente antibacteriano com uma das finalidades de preparação de um compósito odontológico para cimentação de pinos intra radiculares, para cimentação de cones de gutapercha na obturação do canal ou cimentação de restaurações, contendo sílica porosa como sistema de liberação controlada.

Outro diferencial da tecnologia ora proposta está relacionada ao caráter antimicrobiano associado ao agente material, uma vez que esta atividade possui um perfil de liberação lenta e gradual mantendo concentrações inibitórias satisfatórias. Assim, é possível obter um maior controle de infecções nos tratamentos odontológicos, com o uso do agente antimicrobiano em menores concentrações. Em outro aspecto, é importante mencionar que a tecnologia ainda pode ser utilizada em fixações de órteses, dispositivos intracorpóreos, reconstruções ósseas, em sítios cirúrgicos e recobrimento de superfícies de implantes.

Breve descrição das Figuras

A **Figura 1** apresenta as curvas de liberação controlada de clorexidina a partir dos sistemas SCxA (sílica porosa, diacetato de clorexidina) e S β cdCxA (sílica porosa, β -ciclodextrina, diacetato de clorexidina), em função do tempo em horas.

A **Figura 2** apresenta as curvas de liberação controlada de clorexidina a partir dos sistemas SCxG (sílica porosa, digluconato de clorexidina) e S β cdCxG (sílica porosa, β -ciclodextrina, digluconato de clorexidina), em função do tempo em horas.

A **Figura 3** apresenta as curvas de liberação controlada de clorexidina a partir dos cimentos modificados obtidos após a incorporação dos sistemas de liberação controlada à base de sílica, CSCxA (cimento, sílica porosa, diacetato

de clorexidina), CSCxG (cimento, sílica porosa, digluconato de clorexidina), CS β cdCxA (cimento, sílica porosa, β -ciclodextrina, diacetato de clorexidina), e CS β cdCxG (cimento, sílica porosa, β -ciclodextrina, digluconato de clorexidina), em função do tempo em horas.

5 A **Figura 4** apresenta as curvas de liberação controlada de clorexidina a partir dos cimentos modificados obtidos após a incorporação dos agentes antimicrobianos sem sílica, CCxA (cimento, diacetato de clorexidina), CCxG (cimento, digluconato de clorexidina), C β cdCxA (cimento, β -ciclodextrina, diacetato de clorexidina), e C β cdCxG (cimento, β -ciclodextrina, digluconato de
10 clorexidina), em função do tempo em horas.

Descrição detalhada da invenção

A presente invenção descreve um sistema de liberação controlada baseado na sílica porosa nanoparticulada contendo clorexidina e seus sais, e seus compostos de inclusão ou associação com ciclodextrinas, a partir de um
15 cimento resinoso polimerizável, e produto para uso odontológico. O sistema, ora proposto, permite levar o agente antimicrobiano diretamente ao sítio alvo de contaminação, causado por microorganismos, particularmente do gênero *Enterococcus sp.* e *Candida sp.*

Em seu aspecto mais geral, a presente invenção descreve sistemas de
20 liberação controlada contendo diacetato, dicloridrato e digluconato de clorexidina puros ou livres e em forma de compostos de inclusão, em ciclodextrina, em proporção molar que pode variar de 1:1 a 4:1(ciclodextrina/digluconato de clorexidina ou diacetato de clorexidina ou dicloridrato de clorexidina), não restrito.

25 A presente invenção, que, pode ser melhor entendida através dos seguintes exemplo, não limitantes:

Exemplo 1 - Obtenção dos compostos de inclusão entre a β -ciclodextrina e a clorexidina

Inicialmente foram dissolvidos 0,6 mmol de β -ciclodextrina em 10 mL de
30 água sob agitação e temperatura entre 40-50°C. Em seguida foram

adicionados 0,3 mmol de diacetato de clorexidina (CxA) dissolvidos em 10 mL de água sobre a solução de β -ciclodextrina (β cd). A mistura permaneceu em agitação, por aproximadamente 24 horas. Após esse período a mistura foi congelada em nitrogênio líquido e submetida ao processo de liofilização por 48 h, obtendo-se assim o composto de inclusão.

O processo foi repetido para a obtenção do composto de inclusão utilizando o digluconato de clorexidina (CxG), nas mesmas proporções molares descritas acima. Assim, foram obtidos os compostos de inclusão: β cdCxA (β -ciclodextrina/diacetato de clorexidina) e β cdCxG (β -ciclodextrina/digluconato de clorexidina), na proporção molar 2:1.

Com o objetivo de comparação, foram preparadas as respectivas misturas mecânicas nas mesmas proporções molares dos compostos de inclusão (2:1) entre a β -ciclodextrina e o diacetato e o digluconato de clorexidina .

15 **Exemplo 2 - Obtenção dos sistemas sílica porosa/clorexidina**

A sílica porosa (S) foi pulverizada e adicionada a uma solução aquosa de diacetato de clorexidina a 2,0% formando uma suspensão numa proporção 2:1 p/p (CxA:S), a qual ficou sob agitação magnética por 60 horas, à temperatura ambiente.

20 Após a centrifugação por 10 minutos a 16000 rpm, o material sedimentado foi lavado com água destilada 3 vezes para remoção da clorexidina não adsorvida e secado em estufa à vácuo a 40°C, por 3 horas.

O processo foi repetido utilizando uma solução a 2% de digluconato de clorexidina, à qual foi misturada a sílica porosa mantendo-se a proporção 2:1 fármaco/sílica, como descrito acima. Assim, foram obtidos 2 sistemas: SCxA (sílica porosa:CxA) e SCxG (sílica porosa:CxG).

Exemplo 3 - Obtenção dos sistemas sílica porosa/compostos de inclusão β -ciclodextrina:clorexidina

30 A preparação foi realizada de acordo com o método supracitado, nas mesmas proporções molares, utilizando os compostos de inclusão

β cd/clorexidina previamente preparados com o diacetato e o digluconato de clorexidina. Foram obtidos os 2 sistemas: S β cdCxA (sílica porosa (S) e β -ciclodextrina (β cd):diacetato de clorexidina (CxA)) e S β cdCxG (sílica porosa e β cd: digluconato de clorexidina (CxG)).

- 5 Tabela 1- Taxa de incorporação (% p/p) de sais de acetato e de gluconato de clorexidina e seus compostos de inclusão em β -ciclodextrina (β cd), na sílica porosa (S).

Sistemas	Incorporação experimental de CxA, CxG, β cdCxA e β cdCxG % (p/p)	Incorporação experimental de Clorexidina % (p/p)
SCxA	22,6	18,3
S β cdCxA	21,7	3,8
SCxG	18,8	10,6
S β cdCxG	15,4	2,5

- 10 Para todos os sistemas a taxa de incorporação obtida foi semelhante aos valores encontrados na literatura para carreadores baseados na sílica porosa. Observa-se que a maior taxa foi obtida para o sistema preparado com CxA (22,6%).

- 15 Como todos os sistemas foram preparados sob as mesmas condições, e nas mesmas proporções molares, as diferenças entre as taxas de incorporação poderiam estar associadas à relação entre o tamanho da molécula do fármaco e dos compostos de inclusão, e o diâmetro do poro da matriz de sílica, pois a taxa de incorporação de um fármaco a uma matriz porosa diminui quando o tamanho da molécula aumenta, bem como com a diferença entre a afinidade físico-química entre o fármaco e a matriz.

- 20 A análise por adsorção/dessorção de N₂, mostrou que o volume total dos poros diminuiu significativamente para todas os sistemas S β cdCxA, S β cdCxG, SCxG e SCxA nesta ordem, em relação a sílica porosa pura, indicando que durante o processo de incorporação do fármaco, os poros antes livres passaram a ficar ocupados pelo fármaco, havendo menor adsorção do N₂.

Concomitante à diminuição do volume dos poros, observou-se uma diminuição no diâmetro dos poros de todas as amostras nesta ordem: $S\beta cdCxG < S\beta cdCxA < SCxG < SCxA$, como esperado após o processo de incorporação do fármaco.

5 **Exemplo 4 - Incorporação dos sistemas SCxA, SCxG, S β cdCxA e S β cdCxG obtidos ao cimento resinoso**

Para os testes de liberação controlada, os cimentos modificados foram preparados usando o cimento Cement-Post (Angelus®)(C) através de método conhecido no estado da técnica. Este cimento compõe-se de uma pasta base
 10 (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA (bis-fenol glicidil dimetacrilato), TEGDMA (tetraetilenoglicol dimetacrilato), BHT, aceleradores de polimerização e pigmentos) e uma pasta catalisadora (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA, TEGDMA, peróxido de benzoíla e estabilizantes) que foram misturadas em proporções
 15 iguais p/p (55 mg de cada pasta). Os sistemas (SCxA, SCxG, S β cdCxA e S β cdCxG), foram pesados de forma a conter cerca de 0,7 μ mol de clorexidina, e posteriormente adicionados à pasta base. Em seguida, os materiais pesados foram misturados à pasta catalisadora com espátula plástica, fazendo-se a manipulação de acordo com as especificações do fabricante. Os cimentos
 20 modificados obtidos, denominados CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG, foram transferidos para um molde, medindo 2 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade, onde ocorreu a polimerização. Para os testes de viabilidade e proliferação celular utilizou-se um molde de 1,5 mm de diâmetro por 2 mm de profundidade, 0,3 μ mol de clorexidina e 25 mg de cada pasta do cimento. Os
 25 discos para os testes antimicrobianos de difusão em ágar foram conformados num molde medindo 5mm de diâmetro por 1mm de profundidade, e foram preparados com 0,05 – 1,5 μ mol de clorexidina para cada 50 mg de cimento (25mg de pasta base e 25mg de pasta catalisadora).

Para efeito de comparação, foram preparados simultaneamente outros
 30 corpos de prova para serem submetidos aos mesmos testes, mantendo as

mesmas proporções molares, contendo os agentes antimicrobianos puros, e foram denominados: CCxA, CCxG, C β cdCxA e C β cdCxG.

Exemplo 5 - Estudo da liberação da clorexidina

5 Inicialmente foram pesados, em triplicata, cerca de 10 mg de cada sistema sílica porosa:clorexidina obtido: sílica porosa:diacetato de clorexidina (SCxA), sílica porosa:digluconato de clorexidina (SCxG), sílica porosa:composto de inclusão com diacetato de clorexidina (S β cdCxA) e sílica porosa:composto de inclusão com digluconato de clorexidina (S β cdCxG).

10 Cada 10 mg de sistema carreador contendo o agente antimicrobiano foi colocado em tubos Eppendorf, contendo 1,5 mL de água destilada e mantidos sob agitação constante de 82 rpm, à temperatura de 37°C. Após a primeira hora, os tubos foram centrifugados e coletados 1,5 mL de cada um e adicionados mais 1,5 mL de água destilada. Este procedimento foi realizado de 1 em 1 hora durante as primeiras oito horas após o início do experimento, e a 15 partir daí a cada 24 horas chegando até 750 horas (cerca de 31 dias). As Figuras 1 e 2 apresentam as curvas de liberação controlada da clorexidina a partir dos sistemas SCxA, S β cdCxA e SCxG, S β cdCxG, respectivamente, em função do tempo em horas.

Os sistemas SCxA e S β cdCxA apresentaram liberação controlada de 20 clorexidina até cerca de 750 horas, sendo que o sistema SCxA apresentou um “efeito explosão” inicial de 7% (0,13 mg) nas primeiras 8 horas, e mais 10% (0,18 mg) de liberação até 400 horas, alcançando patamar de 23% (0,42 mg) até 750 horas. Já o sistema S β cdCxA apresentou um maior efeito “explosão inicial” com 17,5% (0,067 mg) de liberação até 8 horas, com mais 11% (0,041 25 mg) de liberação até 400 horas, alcançando 33% (0,13 mg) até 750 horas.

Os sistemas SCxG e S β cdCxG também apresentaram efeito “explosão 30 inicial” de 11% (0,12 mg) e de 50% (0,125 mg), respectivamente. Após as primeiras 8 horas, a liberação alcançou 17% (0,18mg) para SCxG e 70% (0,18 mg) para S β cdCxG até 360 horas. Os sistemas SCxG e S β cdCxG apresentaram maior efeito “explosão inicial” e liberação mais rápida até 360 horas, o que pode ser atribuído, principalmente, à maior solubilidade do

digluconato de clorexidina em água (é totalmente miscível), quando comparado à solubilidade do diacetato que é 1/55 em água, ou 60 mmol/L (MARTINDALE, W., *The extra Pharmacopeia*, 28 ed, London: The Pharmaceutical Press, 106-110, 1982).

- 5 Os sistemas baseados na sílica porosa foram capazes de manter uma liberação controlada de clorexidina por até 31 dias, tanto na forma livre, como na forma de composto de inclusão.

Exemplo 6 - Liberação controlada da clorexidina a partir dos cimentos modificados

- 10 Cada corpo de prova contendo os sistemas preparados, em triplicata (CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG) foi colocado em tubos Eppendorf, contendo 1,5 mL de água destilada e mantido sob agitação constante de 82 rpm, à temperatura de 37°C. Após a primeira hora, os tubos foram centrifugados e coletados 1,5 mL de cada um e adicionados mais 1,5 mL de
15 água destilada. Este procedimento foi realizado de 1 em 1 hora durante as primeiras oito horas após o início do experimento, e a partir daí a cada 24 horas chegando até 500 horas.

- Para efeito de comparação, o experimento foi realizado simultânea e igualmente em triplicata utilizando corpos de prova contendo os agentes
20 antimicrobianos sem sílica CCxA, CCxG, C β cdCxA e C β cdCxG. As Figuras 3 e 4 apresentam as curvas de liberação controlada de clorexidina a partir dos cimentos modificados obtidos após a incorporação dos sistemas de liberação controlada à base de sílica, CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA, e CS β cdCxG, e obtidos após a incorporação dos agentes antimicrobianos sem sílica, CCxA,
25 CCxG, C β cdCxA, e C β cdCxG, respectivamente, em função do tempo em horas.

- Os cimentos modificados, contendo os sistemas de liberação controlada de clorexidina, baseados na sílica apresentaram efeito “explosão inicial” de
30 45% (0,16 mg) para CSCxA, 55% (0,19 mg) para CS β cdCxA, 55% (0,19 mg) para CSCxG e 62% (0,22 mg) para CS β cdCxG, nas primeiras 8 horas. A partir daí, os cimentos CSCxA, CS β cdCxA, CSCxG e CS β cdCxG mostraram

liberação controlada alcançando 72% (0,25 mg), 92% (0,32mg), 96% (0,34 mg) e 99% (0,35 mg) de massa cumulativa, respectivamente, até 400 horas (cerca de 15 dias). Para os cimentos modificados CSCxG e CS β cdCxG observou-se uma liberação mais rápida.

5 Os cimentos modificados CCxA, C β cdCxA, CCxG e C β cdCxG preparados com os agentes antimicrobianos sem sílica, mostraram liberação de 74% (0,26mg), 63% (0,22mg), 75% (0,26mg e 64% (0,22mg) de clorexidina, respectivamente, nas primeiras 8 horas. A partir daí, até 160 horas, CCxA C β cdCxA, CCxG e C β cdCxG, e alcançaram 81% (0,28mg), 72% (0,25mg),
10 85% (0,3mg) e 78% (0,27mg) de massa cumulativa liberada, respectivamente. Observa-se que todos esses cimentos tiveram pouca liberação (cerca de 10%) após as primeiras 24 horas. As curvas apresentam perfis semelhantes com liberação em dois estágios.

Pode-se dizer que a incorporação do fármaco ao cimento resinoso
15 previamente incorporado à matriz de sílica porosa, modulou a liberação da clorexidina, permitindo a sua liberação de forma lenta e controlada por muito mais tempo. Vale a pena salientar que, esses sistemas apresentaram esses resultados utilizando uma concentração bem mais baixa do agente antimicrobiano, cerca de 0,3% p/p, quando comparado aos valores usualmente
20 relatados na literatura que variam de 1 a 5%.

De fato, pode-se dizer que a incorporação dos sistemas de liberação baseados na sílica porosa é muito promissora, pois sugere solucionar um dos desafios da incorporação da clorexidina a materiais resinosos, que é a sua interação química com a matriz polimérica. Por estar incorporada à sílica, que é
25 compatível com a matriz polimérica, a clorexidina ficaria protegida, impedindo ou minimizando sua ligação à matriz bem como sua precipitação.

Exemplo 7 - Determinação da atividade antimicrobiana dos sistemas preparados (SCxA, SCxG, S β cdCxA e S β cdCxG

Para o cultivo dos microrganismos *Enterococcus faecalis* (ATCC 14508)
30 e *Candida albicans* (ATCC 18803) foram utilizados os caldos BHI (Brain Heart Infusion) e Sabouraud Dextrosado (Biobrás®), respectivamente, e ágar Müller

Hinton (Biobrás®). Os sistemas SCxA, SCxG, SβcdCxA e SβcdCxG foram colocados em água e avaliados em triplicata nas concentrações 100, 50 e 25µg/mL de clorexidina. Foram utilizados como controle na avaliação da atividade antimicrobiana os antimicrobianos sem sílica: CxA, CxG, βcdCxA e βcdCxG. Os microorganismos *E.f.* e *C.a.* foram previamente cultivados em caldo BHI e caldo Sabouraud dextrosado, respectivamente por 24 horas. As amostras foram ajustadas por espectrofotometria ($\lambda = 580\text{nm}$) de acordo com a escala McFarland para uma concentração final de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Unidades formadoras de colônias). Alíquotas de 5 µL das cepas testadas foram colocadas no meio de cultura contendo o antimicrobiano. As amostras foram cultivadas em estufa a 37°C e 34°C para o *E.f.* e *C.a.*, respectivamente, por 24 horas. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

A Tabela 2 apresenta os resultados quanto à inibição do crescimento de culturas de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* pelos sistemas SCxA, SCxG, SβcdCxA e SβcdCxG, e agentes antimicrobianos sem sílica CxA, CxG, βcdCxA e βcdCxG pelo método "Pour plate".

Tabela 2- Concentração inibitória₁₀₀ (µg/mL) do crescimento de culturas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 14508) e *Candida albicans* (ATCC 18803) pelos sistemas SCxA, SCxG, SβcdCxA e SβcdCxG e agentes antimicrobianos puros CxA, CxG, βcdCxA e βcdCxG pelo método "Pour plate".

Microorganismos	Concentração inibitória ₁₀₀ (µg/mL)							
	SCxA	CxA	SβcdCxA	βcdCxA	SCxG	CxG	SβcdCxG	βcdCxG
<i>E. f.</i>	100	50	50	25	100	50	25	50
<i>C. a.</i>	50	50	50	25	50	50	50	25

Todos os sistemas mostraram inibição frente aos microorganismos testados. Frente ao *Enterococcus faecalis*, o sistema com sílica SβcdCxG

mostrou a menor concentração inibitória (25 µg/mL), assim como o βcdCxA (sem sílica).

5 Frente a *Candida albicans* todos os sistemas com sílica apresentaram a mesma concentração inibitória de 50 µg/mL. Para os agentes antimicrobianos sem sílica observa-se que o melhor resultado, 25 µg/mL, foi obtido para os compostos de inclusão βcdCxA e βcdCxG.

Pelo teste Kruskal-Wallis, não paramétrico ($p < 0,05$), não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, tanto para o E.f. quanto para a C.a..

10 Numa primeira análise, as concentrações inibitórias apresentadas pelos agentes antimicrobianos sem sílica, parecem menores que aquelas para os sistemas preparados na base da sílica porosa. Entretanto, é relevante salientar que, nos meios contendo os sistemas de liberação baseados na sílica, a concentração real de clorexidina, após as 24 horas de experimento é de: 4,9
15 µg/mL para SCxA, 13,9 µg/mL SβcdCxA, 3,4 µg/mL para SCxG e 4,7 µg/mL para SβcdCxG, baseado nos dados de liberação controlada até 24 horas. Então, esses sistemas apresentam alta efetividade antimicrobiana, em faixas de concentrações inibitórias menores que aquelas apresentadas pelos antimicrobianos sem sílica.

20 Assim, sugere-se que estes resultados estejam associados à característica nanoparticulada da sílica, que pode ter facilitado a difusão do fármaco e sua ação antimicrobiana frente os microorganismos testados.

Exemplo 8 - Determinação da atividade antimicrobiana dos cimentos modificados CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG.

Para o teste de difusão em ágar foram utilizados corpos de prova com cimento Cement-Post em forma de disco, contendo 0,2 μ mol (100 μ g) de clorexidina por 50mg de cimento contendo os sistemas previamente preparados: CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG. Como controle, foram utilizados outros corpos de prova contendo os agentes antimicrobianos sem sílica: CCxA, CCxG, C β cdCxA e C β cdCxG. Os corpos de prova esterilizados foram distribuídos na superfície das placas preparadas de maneira simétrica, respeitando-se a distância de 15 mm entre cada um deles e a borda da placa. Todas as placas foram incubadas em condições de microaerofilia e aerofilia, a 37°C e 34°C para o E.f. e C.a., respectivamente, em estufa bacteriológica, por 24 horas. Todos os testes foram realizados em triplicata. A atividade antimicrobiana dos agentes testados foi avaliada pela medida dos halos de inibição formados em torno dos corpos de prova. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Diâmetro dos halos de inibição frente a culturas de *E. f.* e *C. a.* nos testes de difusão em ágar para os dispositivos CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG e para os agentes antimicrobianos puros incluídos no cimento CCxA, CCxG, C β cdCxA e C β cdCxG .

Micro-organismos	Diâmetro dos halos de inibição (mm)							
	CSCxA	CCx A	CS β cdCx A	C β cdCx A	CSCxG	CCxG	CS β cdCx G	C β cdCxG
<i>E. f.</i>	7	14	14	16	8	18	14	15
<i>C. a.</i>	7	13	13	16	7	18	13	15

Houve formação do halo de inibição do crescimento microbiano para todos os materiais testados. Frente ao *Enterococcus faecalis*, os cimentos modificados pelos sistemas com sílica, CSCxA, CSCxG, CSβcdCxA e CSβcdCxG, apresentaram halos de inibição medindo 7, 8, 14, e 14 mm, respectivamente. Aqueles cimentos contendo os agentes antimicrobianos sem sílica, CCxA, CβcdCxG, CβcdCxA e CCxG, mostraram halos de inibição maiores, 14, 15, 16 e 18mm, respectivamente.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de materiais testados (teste Kruskal-Wallis não paramétrico, $p < 0,01$).

Frente a *Candida albicans*, o padrão de inibição foi o mesmo. Os cimentos modificados CSCxA, CSCxG, CSβcdCxA e CSβcdCxG mostraram zonas de inibição medindo 7, 7, 13, e 13 mm, respectivamente, todas menores que aquelas observadas para CCxA, CβcdCxG, CβcdCxA e CCxG, mostrando halos de 13, 15, 16 e 18 mm, respectivamente.

Houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos (teste Kruskal-Wallis não paramétrico, $p < 0,01$).

Analisando os resultados conjuntamente para os dois microorganismos, entre os cimentos modificados contendo sistemas com sílica, CSβcdCxA e CSβcdCxG, apresentaram maior efetividade antimicrobiana. Este fato deve-se à maior quantidade de fármaco liberado a partir dos compostos de inclusão, de acordo com curvas de liberação (Figura 3). A massa cumulativa de clorexidina liberada até 24 horas para esses sistemas é cerca de 0,055 mg para CSβcdCxA e 0,065 mg para CSβcdCxG. Novamente, devemos considerar que os meios de liberação dos experimentos são diferentes (água e ágar), e os cálculos de massa cumulativa liberada para os testes de difusão em ágar foram feitos baseado nos valores obtidos a partir da liberação em água.

Todos os cimentos modificados com agentes antimicrobianos sem sílica, foram mais efetivos que aqueles modificados com os sistemas à base de sílica porosa tanto para o *E. f.* como para *C. a.*, o que pode ser atribuído ao maior efeito “explosão inicial” (Figura 4), correspondendo à liberação de cerca de 0,074 mg de clorexidina para CCxA, 0,075 mg para CCxG, 0,063 mg para CβcdCxA e 0,065 mg para CβcdCxG, durante as 24 horas de experimento. Os

microorganismos testados foram mais susceptíveis ao cimento modificado com digluconato livre, CCxG.

A incorporação de clorexidina 1% ou em concentrações maiores em materiais resinosos mostrou clara inibição do crescimento antibacteriano, entretanto a sua liberação ocorreu rapidamente em poucos dias, seguido de uma drástica redução de sua concentração. Esse resultado coaduna com aqueles relatados por ADDY et al. (ADDY, M., THAW, M. In vitro studies into the release of chlorhexidine acetate, predonisolone sodium phosphate, and predonisolone alcohol from cold cure denture base acrylic. *J Biomed Mater Res*, 16, 2, 145-157, 1982) e WILSON et al. (WILSON, S.J., WILSON, H.J. The release of chlorhexidine from modified dental acrylic resin. *J Oral Rehabil*, 20, 3, 311-319, 1993).

Os cimentos modificados, deste exemplo, apresentavam concentração de apenas 0, 2% p/p de clorexidina.

15 **Exemplo 9 - Testes de viabilidade e proliferação celular**

A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio do MTT que determina a capacidade de metabolização do sal de tetrazólio [brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazólio] pelas enzimas desidrogenases, que produzem cristais de Formazan ao final da reação. Tais cristais produzem uma reação de cor característica que pode ser quantificada através da leitura em espectrofotômetro.

As células utilizadas neste ensaio foram obtidas de uma cultura primária de osteoblastos da calota craniana de camundongo na 4ª passagem. Os osteoblastos foram semeados (10^6 células/poço) em placas de 24 poços, acrescidos de meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) + 10% Soro Bovino Fetal (SFB) antibiótico antifúngico (Sigma®), e incubadas em estufa, a 37°C, 5% CO₂, por 48 h, em placas de 75 cm², para aderência das células. Após esse tempo, observou-se boa aderência e aspectos morfológicos característicos de osteoblastos. O meio de cultura foi removido e os poços foram lavados com 1mL de solução de PBS 0,15M para remoção de quaisquer células não aderidas. Então, as células foram: 1- mantidas na ausência dos

materiais em teste, identificados como grupos controle positivo, 2- expostas aos materiais em teste para comparação de todos os materiais separadamente (sílica pura, cimento puro, CxA, CxG, β cdCxA, β cdCxG, SCxA, SCxG, S β cdCxA, S β cdCxG) e 3- expostas aos corpos de prova dos cimentos modificados a serem testados (CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA e CS β cdCxG). Os materiais a serem testados foram re-suspendidos (quando estavam na forma de pó) em 1mL de meio de manutenção (DMEM sem SFB) e os corpos de prova dos dispositivos foram adicionados a cada poço já contendo 1mL de meio de manutenção (DMEM sem SFB). Todas as amostras foram testadas em triplicata, inclusive o controle positivo. Após 48h de cultivo em estufa a 37°C, 5% CO₂, o meio contendo os materiais em teste foi removido e as células foram lavadas cuidadosamente, duas vezes, com 1mL de PBS 0,15M, para remoção de qualquer remanescente de material em teste. A partir daí, foram acrescentados em cada poço, 30 μ L de solução de MTT (na concentração de PBS, 5 mg/mL) + 300 μ L DMEM + 10% SFB e a placa foi incubada durante 4 horas, em estufa a 37°C, 5% CO₂.

A Tabela 4 apresenta os valores de redução na proliferação e viabilidade celular de outros materiais resinosos cimentantes de uso odontológico.

Tabela 4- Valores de redução na proliferação e viabilidade celular de outros materiais resinosos cimentantes de uso odontológico.

Material resinoso	Redução na viabilidade celular (%)	Tempo de estudo (horas)	Referência
EndoRez	90	168	a
RealSeal	90	168	a
Rely X	78,1	24	b
Rely X Unicem	2,64	24	b

(a: AMES, J.M., et al. Contemporary methacrylate resin-based root canal sealers exhibit different degrees of ex vivo cytotoxicity when cured in their self-cured mode. *J Endod*, 35, 2, 225-228, 2009 b: MENDONÇA, A.A.M. et al. Citotoxic effects of hard setting cements applied on the odontoblastic cell line MDPC-23. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Oral Endod*, 104, 4, e102-e108, 2007)

A Tabela 5 apresenta os dados obtidos, relativos à redução na proliferação e viabilidade celular dos osteoblastos, em percentagem, para os materiais testados, obtidos após conversão dos dados de absorvância do teste MTT.

- 5 Tabela 5- Redução na proliferação e viabilidade celular dos osteoblastos para os materiais testados, em percentagem.

Redução na viabilidade e proliferação celular (%)							
Materiais para controle	(%)	Anti-Microbianos Sem sílica	(%)	Sistemas	(%)	Cimentos modificados	(%)
Cimento puro	22,3	CxA	9	SCxA	18	CSCxA	25,5
Sílica pura	0	CxG	18	SCxG	15	CSCxG	39,4
Controle células	0	β cdCxA	2	S β cdCxA	20,5	CS β cdCxA	41,7
		β cdCxG	23	S β cdCxG	25,5	CS β cdCxG	32,8

- 10 A concentração de cada material foi 0,3 μ mol/poço (150 μ g/mL), exceto para a sílica que foi 100 mg, e para o cimento puro 50mg. Observa-se que a sílica porosa pura não apresentou citotoxicidade, mostrando 100% de viabilidade e proliferação celular, assim como o controle positivo de células, concordando com os dados da literatura quanto à biocompatibilidade deste material, (SLOWING et al., Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv Drug Deliv Rev*, 60, 11, 1278-1288, 2008).

- 15 Dentre os agentes antimicrobianos sem sílica, o mais citotóxico foi o β cdCxG (23% de redução na proliferação celular) e β cdCxA o mais biocompatível. Este resultado concorda com a maior solubilidade do digluconato de clorexidina, como discutido anteriormente. A análise estatística (ANOVA) para este grupo mostrou diferenças estatisticamente significativas
20 para β cdCxG e CxG ($p < 0,05$).

Após a incorporação destes agentes à sílica, houve redução na viabilidade celular, uma vez que as porcentagens para S β cdCxG, S β cdCxA, SCxG, e SCxA aumentaram para 25,5%, 20,5%, 18%, e 15%, respectivamente. O sistema contendo β cdCxG mostrou maior redução na viabilidade celular, como observado para o antimicrobiano sem sílica. Houve diferença estatisticamente significativa entre esses grupos (ANOVA, $p < 0,05$).

O cimento puro Cement-Post mostrou 22,3% de redução na viabilidade celular, e para os cimentos modificados temos que a redução foi de 41,7% para CS β cdCxA, 39,4% para CSCxG, 32,8% para CS β cdCxG e 25,5% para CSCxA. Todos os valores são maiores que aqueles apresentados pelos sistemas e agentes antimicrobianos sem sílica. A análise estatística (ANOVA, $p < 0,05$) mostrou diferença estatisticamente significativa entre os cimentos modificados e o controle positivo.

O cimento puro mostrou toxicidade aos osteoblastos, cerca 22,3%, possivelmente devido à liberação de monômeros residuais. Subtraindo-se esse valor do total obtido para cada cimento modificado, obteríamos: 3,3%, 17,1%, 19,4%, e 10,5% para CSCxA, CSCxG, CS β cdCxA, CS β cdCxG e, respectivamente. Esses valores são comparáveis aos obtidos para os sistemas e agentes antimicrobianos sem sílica.

Mendonça e colaboradores relataram uma redução de 78,1% na atividade metabólica de odontoblastos para o cimento Rely X e 2,64% para o Rely X UNICEM, após 24 horas, e 79,04% e 10,51%, após 7 dias, respectivamente (MENDONÇA, A. A. M. et al. Citotoxic effects of hard setting cements applied on the odontoblastic cell line MDPC-23. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod*, 104, 4, e102-e108, 2007). Outras avaliações sobre cimento de uso intracanal resinosos também detectaram um alto potencial citotóxico destes materiais contendo metacrilatos (PINNA, L. et al. In vitro cytotoxicity evaluation of a self-adhesive, methacrylate resin-based root canal sealer. *J Endod*, 34, 9, 1085-1088, 2008; AMES, J.M. et al. Contemporary methacrylate resin-based root canal sealers exhibit different degrees of ex vivo cytotoxicity when cured in their self-cured mode. *J Endod*, 35, 2, 225-228, 2009). Comparando-se esses valores com o padrão de

citotoxicidade dos cimentos modificados deste estudo demonstraram maior viabilidade celular que aquele apresentado pelo Rely X, EndoRez, Real Seal, e menor viabilidade que o Rely X UNICEM.

Os resultados obtidos mostram que, comparados à materiais amplamente utilizados em condutos intraradiculares, os cimentos modificados desenvolvidos apresentam citotoxicidade aceitável. Os resultados obtidos demonstram que os cimentos modificados CSCxA e CSβcdCxG apresentam boa biocompatibilidade e, portanto, são promissores para utilização *in vivo*, mais particularmente em cimentações de restaurações, tratamentos endodônticos, fixações de órteses, dispositivos intracorpóreos, dispositivos subcutâneos, sítios cirúrgicos, e outros.

Exemplo 10- Degradação da matriz de sílica porosa

A degradação de matrizes à base de sílica porosa ocorre, em geral, por erosão, havendo hidrólise dos grupos Si-O-Si, formando ácido orto-silícico. A espectrometria por ionização de plasma é uma técnica que permite a dosagem do silício em baixas concentrações, sendo por isso uma técnica adequada neste estudo. A Tabela 6 apresenta as concentrações de Si_{total} (mg/L) determinadas através da espectroscopia de ionização de plasma no meio colhido durante os experimentos de liberação controlada para os sistemas SCxA, SCxG, SβcdCxA, e SβcdCxG.

Tabela 6- Concentração de Si_{total} (mg/L) determinadas através da espectroscopia de ionização de plasma no meio colhido durante os experimentos de liberação controlada para os sistemas SCxA, SCxG, SβcdCxA, e SβcdCxG.

Sistemas	Tempo de liberação (dias)	Si total (mg/L)
SCxA	14	7,9±0,9
SCxG	14	2,3±0,2
SβcdCxA	14	8,3±0,8
SβcdCxG	14	2,0±0,2
SCxA	15 a 29	9,1±0,2
SβcdCxA	15 a 29	13±0,9

- 5 Observa-se que nos primeiros 14 dias os sistemas SCxA (7,9 mg/L) e SβcdCxA (8,3 mg/L) apresentaram maior dissolução quando comparados aos sistemas SCxG (2,3 mg/L) e SβcdCxG (2,0 mg/L), e a partir de 15 dias, apenas os 2 primeiros sistemas continuaram a apresentar dissolução da matriz. Esses resultados podem ser compreendidos considerando-se que a sílica não se
- 10 dissolve de maneira homogênea, mas preferencialmente a partir das regiões de onde a molécula do fármaco foi liberada (ANDERSSON, J. et al. Influences of material characteristics on ibuprofen drug loading and release profiles from ordered micro and mesoporous silica matrices. *Chem Mater*, 16, 21, 4160-4167, 2004).
- 15 A degradação da matriz é uma vantagem adicional deste material, pois o produto da degradação é biocompatível, inerte para o homem e totalmente excretado pelos rins, sugerindo assim uma excelente matriz para a liberação controlada de fármacos (ZANETTA, M. et al. Ability of polyurethane foams to support cell proliferation and the differentiation of MSCs into osteoblasts. *Acta Biomater*, 5, 4, 1126-1136, 2009). Verifica-se ainda, que em doses até 1,5 g/kg
- 20 de material degradado não são observadas alterações histológicas no fígado, pulmões ou linfonodos, de acordo com os estudos de KORTESUO, P. et al.

Silica xerogel as an implantable carrier for controlled drug delivery- Evaluation of drug distribution and tissue effects after implantation. *Biomater*, 21, 2, 193-198, 2000.

REIVINDICAÇÕES

1- **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- 5 a) incorporação de clorexidina e/ou seus sais em sistemas de sílica porosa (diâmetro médio de 745 nm); **ou**
- b) incorporação do composto de inclusão ou associação de clorexidina e/ou seus sais em sistemas de sílica porosa (diâmetro médio de 745 nm); **e**
- c) pesagem dos sistemas obtidos sistema compreendendo uma faixa de
10 0,05 a 1,5 μ mol de clorexidina livre; **e**
- d) Incorporação dos sistemas obtidos ao cimento resinoso polimerizável [uma pasta base (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA (bis-fenol glicidil dimetacrilato); TEGDMA (tetraetilenoglicol dimetacrilato); BHT; aceleradores de
15 polimerização e pigmentos) e uma pasta catalisadora (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA, TEGDMA, peróxido de benzoíla e estabilizantes) que foram misturadas em proporções iguais p/p)].

2- **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO**
20 **CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos sais de clorexidina serem selecionados do grupo consistindo de diacetato, digluconato e cloridrato de clorexidina.

3- **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO**
25 **CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “a” compreender a adição de solução a 2% de clorexidina e/ou seus sais à sílica porosa (diâmetro médio de 745 nm) mantendo-se a proporção 1:1 a 4:1 p/p fármaco/sílica.

4- **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO**
30 **CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**,

de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “b” compreender compostos de inclusão ou associação de clorexidina em ciclodextrinas na proporção molar de 1:1 a 1:5, incorporados em sílica porosa (diâmetro médio de 745 nm) na proporção 1:1 a 4:1 p/p fármaco/sílica.

5 5- **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelas ciclodextrinas serem naturais e/ou sintéticas, selecionadas do grupo compreendendo alfa, beta ou gama ciclodextrinas e/ou um derivado selecionado do grupo compreendendo

10 alquil, hidróxialquil, hidróxipropil e acill ciclodextrinas.

6- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, caracterizado por compreender sílica porosa (diâmetro médio de 745 nm), cimento resinoso polimerizável [uma pasta base (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA (bis-

15 fenol glicidil dimetacrilato); TEGDMA (tetraetilenoglicol dimetacrilato); BHT; aceleradores de polimerização e pigmentos) e uma pasta catalisadora (contendo cerâmica de vidro de Bário, sílica pirogênica, bis-GMA, TEGDMA, peróxido de benzoíla e estabilizantes) que foram misturadas em proporções iguais p/p)], clorexidina e/ou seus sais e seus compostos de inclusão em

20 ciclodextrinas.

7- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelos sais de clorexidina serem selecionados do grupo consistindo de diacetato, digluconato e cloridrato de clorexidina.

8- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelas ciclodextrinas serem naturais e/ou sintéticas, selecionadas do grupo compreendendo alfa, beta ou gama ciclodextrinas e/ou um derivado selecionado do grupo compreendendo alquil, hidróxialquil,

25 hidróxipropil e acill ciclodextrinas.

9- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com as reivindicações 6 a 8,

caracterizado por apresentar atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos, preferencialmente frente aos microrganismos *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

- 10- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E**
5 **SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com as reivindicações 6 a 9, caracterizado por conferir proteção a clorexidina, impedindo ou minimizando sua ligação a materiais resinosos e também sua precipitação.
- 11- **SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE CLOREXIDINA E**
10 **SEUS COMPOSTOS DE INCLUSÃO**, de acordo com as reivindicações 6 a 9, caracterizado pela obtenção de um sistema com perfil de liberação controlada.

FIGURAS

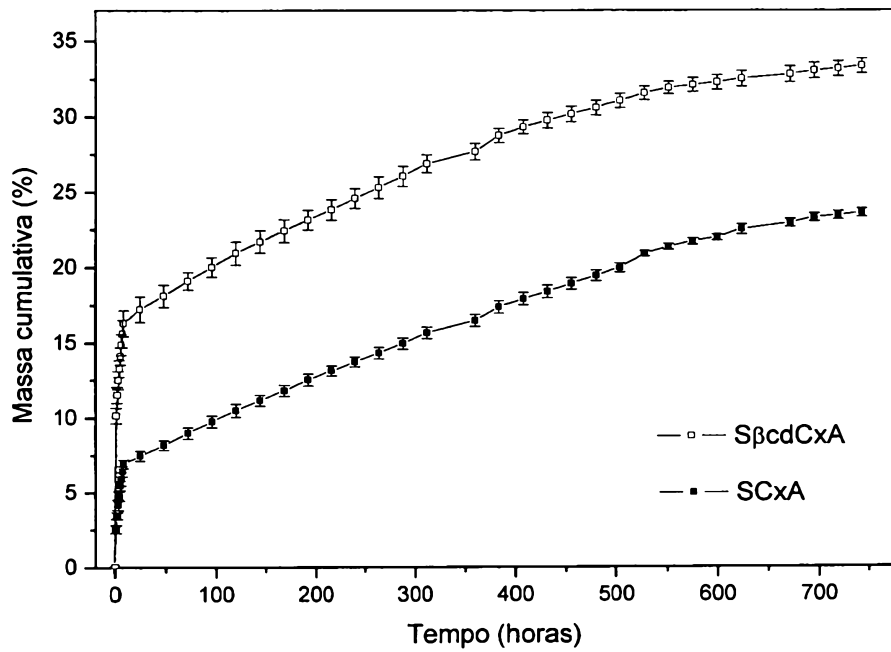


Figura 1

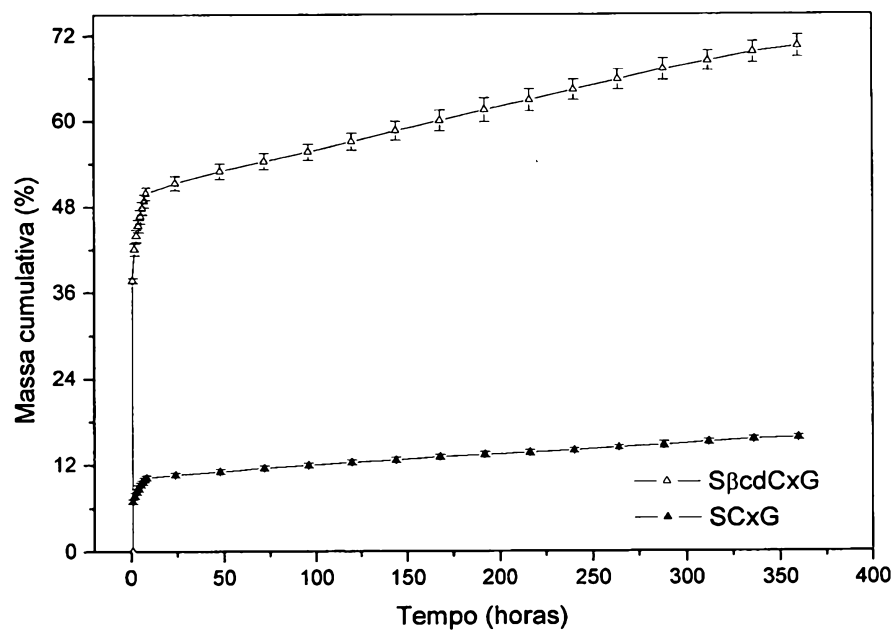


Figura 2

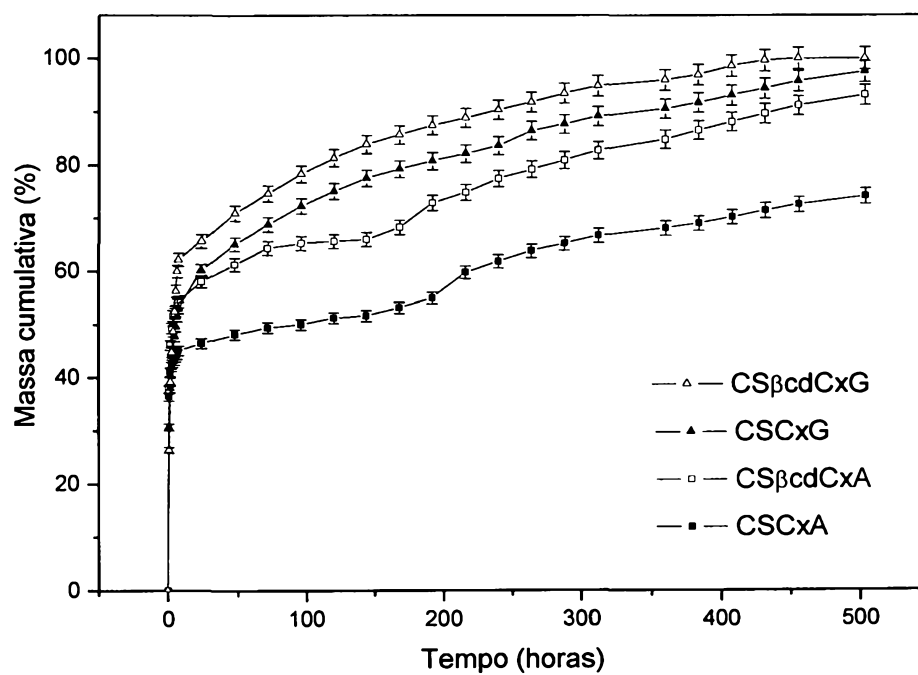


Figura 3

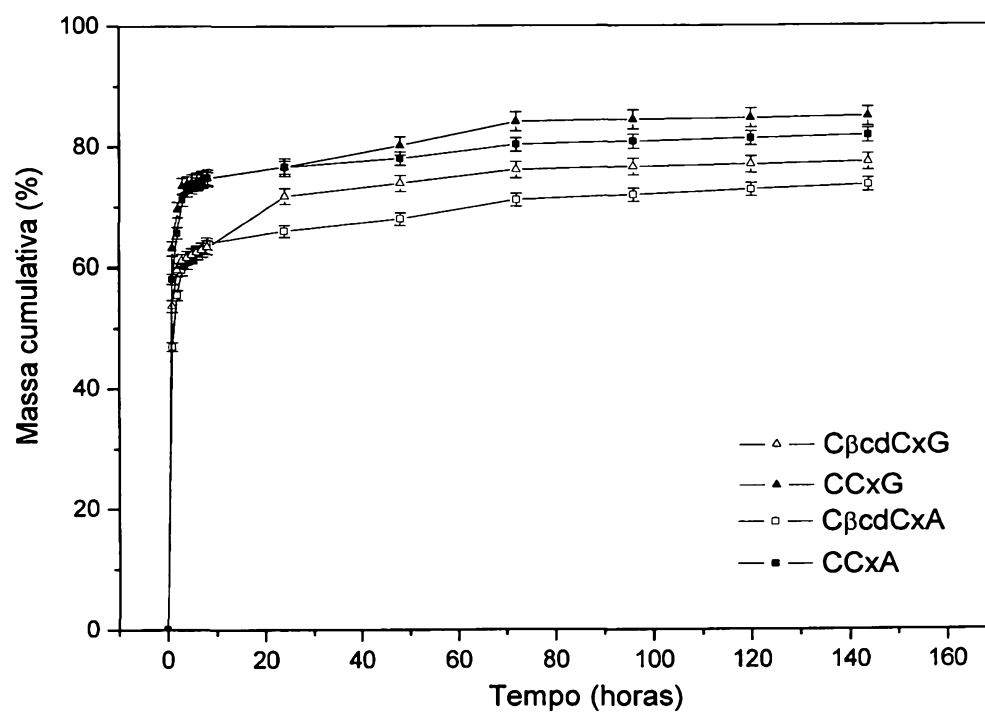


Figura 4