

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA – MATERIAIS
DENTÁRIOS

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA PASTA ENDODÔNTICA COM
SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS

MARLA CUPPINI

ORIENTADOR: PROF. DR. FABRÍCIO MEZZOMO COLLARES

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA – MATERIAIS
DENTÁRIOS

LINHA DE PESQUISA: BIOMATERIAIS E TÉCNICAS TERAPÊUTICAS EM
ODONTOLOGIA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA PASTA ENDODÔNTICA COM
SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS

Dissertação apresentada como
requisito obrigatório para obtenção
do título de Mestre em Odontologia
na área de concentração Clínica
Odontológica – Materiais Dentários.

MARLA CUPPINI

ORIENTADOR: PROF. DR. FABRÍCIO MEZZOMO COLLARES

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Cuppini, Marla

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA PASTA
ENDODÔNTICA COM SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS /
Marla Cuppini. -- 2017.

78 f.

Orientador: Fabrício Mezzomo Collares.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Materiais Dentários. 2. Sistemas Carreadores
de Fármacos. I. Collares, Fabrício Mezzomo, orient.
II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha irmã **Nádia Cuppini**, que mesmo de longe, sempre é a minha maior incentivadora, apoiadora e sem dúvidas a base segura que faz possível eu voar para conquistar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Marlene** e **Nei** por me darem todo suporte necessário para que eu pudesse estar aqui hoje. Vocês dois são o meu maior exemplo de superação. Obrigada por tudo!

Ao meu irmão **Nédio** e minha cunhada **Fernanda**, por me darem a certeza que nunca estarei sozinha, pelos conselhos e por muitas vezes serem um ombro amigo. Ao meu sobrinho **Theo**, só de existir e ver você crescer já me sinto uma pessoa abençoada. Vocês três moram no meu coração.

À minha irmã **Nádia** e meu cunhado **Emanuele**, por estarem presente mesmo estando longe, pelo carinho e acolhimento de toda vez que vou visitá-los. A saudade constante é a prova de que todos os momentos com vocês são especiais.

À toda minha família Crestani e Cuppini, todos os tios, tias, primos e primas. Obrigada por fazerem os momentos que nos reunimos únicos.

Às minhas amigas (xuxus), **Eduarda Berger**, **Marcela Gruending** e **Paula Kothe**, obrigada de coração por sempre estarem me apoiando e pela amizade incrível de todos esses anos. Por entenderem a minha ausência e pelo simples fato de eu saber que vocês estarão presentes quando eu precisar.

À minha amiga **Andréa Matte**, pelos incríveis quase 20 anos de amizade. Nossa amizade significa o mundo para mim!

Aos meus grandes amigos **Juliana Silveira** e **Dennis Baroni Cruz**, toda volta pra casa não seria a mesma se a sexta-feira à noite não fosse junto de vocês, obrigada por sempre me acolherem com tanto carinho.

Às minhas amigas **Camila Cauduro, Gabriela Balbinot, Natália Caldeira e Lays Fernanda**, minha vida não seria a mesma se não tivesse conhecido vocês nesses últimos dois anos. Obrigado pela amizade, parceria e companheirismo longe de casa. Vocês conquistaram um pedaço enorme do meu coração.

Ao **Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD)** da Faculdade de Odontologia, por permitir a realização deste, contribuindo imensamente para a minha formação e para o meu desenvolvimento pessoal.

Ao meu orientador, professor **Fabício Mezzomo Collares**, pela orientação neste trabalho, pela paciência, e por fazer eu sempre ir além do que eu esperava de mim mesma.

Ao professor **Vicente Castelo Branco Leitune**, pela ajuda em toda trajetória do mestrado, pela disponibilidade e pelo aprendizado durante esses dois anos.

À professora **Susana Maria Werner Samuel**, pelo exemplo de dedicação e conduta profissional.

À minha turma de mestrado, **Isadora Martini Garcia, Fábio Rocha Bohns, Gabriela Balbinot e Patrícia Franken**, obrigado pela amizade incrível que cultivamos ao longo da nossa trajetória para finalmente nos tornarmos mestres.

Aos **colegas do LAMAD**, pela amizade e companheirismo, pela parceria no dia-a-dia do laboratório, por dividirem seus conhecimentos e experiências comigo.

À professora **Fabiana Soares Grecca**, à Dra. **Letícia Boldrin Mestieri** e à Dra. **Daiana Boettcher** por dividirem o mundo da endodontia comigo, e pelo grande aprendizado durante toda pesquisa.

Ao **Núcleo de Pesquisa Básica em Odontologia (NPBO)** e a **prof. Fernanda Visioli**, pela parceria e possibilidade de realização dos testes citológicos deste trabalho.

Ao **Laboratório de Microbiologia (LABIM)** pela parceria e possibilidade de realização dos testes microbiológicos deste trabalho. À técnica **Luísa Mercado**, pelo auxílio e facilitação para que os testes tenham sido realizados.

Ao **Centro de Microscopia e Microanálise (CMM)** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela parceria na realização deste trabalho.

Ao **Laboratório de Cosmetologia** e da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela parceria e possibilidade de realização da síntese das partículas abordadas nesse trabalho.

À Dra. **Kelly Zatta** pela grande ajuda na compreensão de fármacos aliados à nanotecnologia. Por dividir seu conhecimento e pela parceria firmada nesse presente ano.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela bolsa de estudos, para que eu pudesse me dedicar em tempo integral à pesquisa.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, à **Faculdade de Odontologia** e ao **Programa de Pós Graduação** pela oportunidade ímpar de ensino e concluir o mestrado em um lugar de prestígio.

Enfim, à **vida** e pelas maravilhosas oportunidades que eu tenho tido a chance de abraçar.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi sintetizar e caracterizar um material reparador para uso endodôntico com propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana e remineralizante. A pasta experimental tem como propósito ser um sistema carreador de fármacos para regiões de difícil acesso em Odontologia. A apresentação do material é em forma de pó:líquido. No pó se encontra α -fosfato tricálcico, tungstato de cálcio e microesferas de amoxicilina (AMX-MS), já no líquido estão contidas nanocápsulas de indometacina (IndOH-NC). A pasta experimental foi testada em relação a suas características físico-químicas e biológicas. As AMX-MS obtiveram tamanho de $1,604 \mu\text{m} \pm 0,08$, forma esférica confirmada por MEV e teor da droga foi $1,63 \text{ mg g}^{-1}$. As IndOH-NC obtiveram tamanho de $162 \pm 7,5 \text{ nm}$ e forma esférica confirmada por MET. O teor do fármaco foi de $1 \text{ mg mL}^{-1} \pm 0,02$. O escoamento da pasta foi de $18,56 \pm 0,29$, a espessura de película obtida foi $33 \mu\text{m}$ e radiopacidade de $1,81 \text{ mmAl}$. A pasta experimental demonstrou atividade antibacteriana contra o *Enterococcus faecalis*. A maior concentração de pasta experimental apresentou o maior valor em relação à viabilidade celular, com $187,03\%$ no teste SRB. A atividade da enzima fosfatase alcalina e a formação de nódulos mineralizados obtiveram um gradual aumento em função do tempo. A migração celular demonstrou fechamento da ferida, e a pasta experimental foi capaz de acelerar o processo ($p < 0,05$). Em conclusão, a pasta experimental demonstrou propriedades físico-

químicas e biológicas confiáveis, podendo ser um material promissor para o reparo da região periapical.

Palavras-chave: Microesferas. Amoxicilina. Nanocápsulas. Indometacina.

Sistemas de Liberação de Medicamentos. Bioatividade. Biocompatibilidade.

ABSTRACT

The aim of this study was to synthesize and characterize a new reparative material with anti-inflammatory, antimicrobial and remineralizing properties. The reparative material was developed to be a drug delivery system for regions with difficult access in Dentistry. The formulation is presented in powder/liquid. The powder is composed of α -tricalcium phosphate, calcium tungstate and amoxicillin microspheres (AMX-MS). The liquid is composed of nanocapsules containing indomethacin (IndOH-NC). The physicochemical and biological properties of the experimental endodontic paste were evaluated. The AMX-MS obtained a mean size of $1.604 \mu\text{m} \pm 0.08$, spherical shape and the encapsulation capacity was 1.63 mg g^{-1} . IndOH-NCs obtained a mean size of $162 \pm 7.5 \text{ nm}$ and spherical shape confirm by MET. The content of the encapsulated drug was $1 \text{ mg mL}^{-1} \pm 0.02$. The experimental paste flow was $18.56 \pm 0.29 \text{ mm}$, mean film thickness was $33 \mu\text{m}$ and radiopacity equivalent to 1.81 mmAl . The experimental paste showed antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*. The highest concentration of experimental paste presented the highest value in cell viability (187.03% in SRB test). The activity of the phosphatase alkaline enzyme and the formation of mineralized nodules showed a gradual increase as a function of time. Cell proliferation showed continuous wound closure, and the experimental paste was able to accelerate the process ($p < 0.05$). In conclusion, the experimental paste demonstrated reliable physicochemical and biological properties, and it could be a promising material for periapical region repair.

Keywords: Microspheres. Amoxicillin. Nanocapsules. Indomethacin. Drug Delivery Systems. Bioactivity. Biocompatibility.

SUMÁRIO

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	13
2. OBJETIVO.....	19
3. MANUSCRITO.....	20
3.1 MANUSCRIPT	21
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
REFERÊNCIAS	25

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

Diversos materiais são utilizados na terapia endodôntica como medicação intracanal e para o reparo de estruturas danificadas. Idealmente eles devem apresentar potencial bactericida, bacteriostático e antiinflamatório, mantendo as propriedades de biocompatibilidade (MORTAZAVI e MESBAHI, 2014). Ainda, almejam-se materiais inteligentes, no qual ajudem nos processos de reparo celular apresentando capacidade de regulamentar a bioatividade no tecido alvo e não sendo inerte ao microambiente (LEGEROS, 2008). Para isto, é necessário compreender as estratégias de tratamento disponíveis aliadas ao conhecimento de quais são os microorganismos envolvidos no processo, bem como das propriedades dos medicamentos utilizados.

O objetivo do tratamento endodôntico é a remoção das bactérias presentes no conduto radicular, tratar inflamações crônicas e aliviar a dor associada (TRAIRATVORAKUL e DETSOMBOONRA, 2013; CARROTTE, 2015), sendo o insucesso desse tratamento a permanência dos microorganismos dentro dos condutos radiculares (NAIR, 2014). A estratégia de diagnóstico e terapêutica utilizados frequentemente na Endodontia tem sido baseada principalmente em aspectos clínicos e radiográficos, auxiliados por exames complementares sempre que necessário (ESTRELA et al., 2014). O grande desafio envolve a utilização de protocolos eficazes para a descontaminação bacteriana em áreas de difícil acesso, como é encontrado no tratamento endodôntico de dentes permanentes como de dentes decíduos. Além disso, existem dificuldades particulares no tratamento de dentes decíduos, a

polpa pode ser envolvida por cárie antes que na dentição permanente, principalmente pela sua anatomia interna, na qual os cornos pulpares são mais evidentes (CARROTTE, 2005). Fatores anatômicos como menor calibre e comprimento dos canais radiculares, presença de canais tortuosos, colaterais e delta apicais, presença de foraminas na região de furca e ainda constantes modificações da topografia interna dos condutos radiculares durante a rizólise podem dificultar o processo de desinfecção e tratamento endodôntico (CARROTTE, 2005).

A correta instrumentação e irrigação combinadas com a medicação intracanal, pode diminuir significativamente a população de microrganismos dentro dos canais radiculares infectados (ZHANG et al., 2009). O biofilme endodôntico possui uma microbiota diversificada, entre os microorganismos mais comumente encontrados está o *Enterococcus faecalis*, que possui uma alta capacidade de formar biofilme sob diferentes condições ambientais e nutricionais (JHAJHARIA et al., 2015). A prevalência do microrganismo *E. faecalis* em dentes que necessitavam retratamento endodôntico devido a não regressão da lesão periapical foi de 38% segundo um estudo (Wang et al., 2012). Considerando que é impossível eliminar completamente a flora infecciosa, e em razão disso, o uso de materiais endodônticos que possuem atividades farmacológicas no local, tais como ação antimicrobiana é considerada relevante (ZHANG et al., 2009; REZENDE et al., 2016). Portanto, a medicação intracanal entre sessões é uma etapa de suma importância no tratamento endodôntico, para a redução significativa de bactérias nos canais radiculares

(BYSTROM e SUNDQVIST, 1981).

Os materiais mais utilizados como curativos ou reparadores no combate de processos infecciosos de origem endodôntica são pastas como a pasta Guedes-Pinto, composta por Rifocort®, paramonoclorofenol canforado (PMCC) e iodofórmio, com ação anti-inflamatória e antimicrobiana com uso específico para dentes decíduos (GUEDES-PINTO et al., 1981) e o hidróxido de cálcio como medicação intracanal de escolha para dentes permanentes (ESTRELA et al., 1999). As pastas iodoformadas são facilmente reabsorvidas e não causam prejuízo ao germe do dente permanente, contudo, apresentam algumas limitações como a baixa radiopacidade e o desencadeamento de reação inflamatória (MAGALHÃES et al., 1991). Outra alternativa sendo o hidróxido de cálcio, possui efeito antimicrobiano, é reabsorvido facilmente e não causa reação de corpo estranho, porém, possui limitado efeito antiinflamatório (MANI et al., 2000; SRINIVASAN et al., 2006).

Na tentativa de contornar os problemas dos materiais reparadores disponíveis no mercado, novos materiais têm sido propostos, como a pasta endodôntica com sistema carreadores de fármacos do presente estudo. A apresentação do pasta endodôntica experimental é em forma de pó:líquido, em que no pó se encontra α -fosfato tricálcico (α -TCP), tungstato de cálcio e microesferas de amoxicilina (AMX-MS), já no líquido estão contidas nanocápsulas de indometacina (IndOH-NC). Os dispositivos bioativos dos sistemas carreadores de fármacos podem ter dimensões micro ou nanométricas, podendo-se utilizar de nanocápsulas e/ou microesferas, que diferem entre si na

sua composição e organização estrutural. As nanocápsulas são constituídas por uma parede polimérico disposta ao redor de um núcleo oleoso contendo o fármaco, para este tipo de partícula normalmente estão contidos fármacos lipofílicos. Por outro lado, as microesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido na superfície da rede polimérica, comumente utilizada para fármacos hidrofílicos (MORA-HUERTAS et al., 2010).

A indometacina é um fármaco que está principalmente adsorvido em cápsulas em função de seu valor de log D (OLIVEIRA et al., 2013). A amoxicilina, por ser um fármaco hidrossolúvel, é carregada em esferas. A liberação dos fármacos ocorre por dessorção dos agentes presentes na superfície da partícula, pela difusão das substâncias através da parede polimérica da cápsula, pela erosão da parede de polímero da partícula ou, ainda, pela combinação dos processos de difusão e erosão (SOPPIMATH et al., 2001).

Considerando situações inflamatórias, a indometacina é um agente anti-inflamatório não esteroide (AINE), cujo mecanismo de ação é a inibição da síntese de prostaglandinas, por bloqueio reversível da ação das cicloxigenases 1 e 2 (COX- 1 e COX-2) (SUMM e EVERS, 2013). Apesar do seu valor terapêutico, o uso sistêmico de AINEs é cauteloso, por possuir ação não-seletiva das enzimas COX-1 e COX-2, o que pode causar efeitos adversos, principalmente intestinais e gástricos (CHEN e DRAGOO, 2013).

Em situações de contaminação bacteriana, a amoxicilina, é um composto semi-sintético, beta-lactâmico e bactericida (RAVAL et al., 2010), cuja ação se

deve à inibição da síntese da parede celular (BAER e MAKI, 2010). A amoxicilina se destaca na Odontologia por ser de amplo espectro, baixa toxicidade, baixo custo e alta eficácia, inclusive contra *E. faecalis* (FONTANA et al., 1990; PINHEIRO et al., 2004)

No sentido de propiciar reparo de lesões, há diferentes tipos de fosfato de cálcio que têm sido utilizados como biomateriais. Um dos fatores que pode predizer o comportamento da pasta é a solubilidade dos fosfatos de cálcio em água, que é inversamente proporcional à relação Ca/P do composto (DOROZHKIN, 2013). A hidroxiapatita apresenta menor solubilidade em água quando comparada a outros tipos de fosfatos de cálcio, como os fosfatos tricálcicos (TCP). O TCP é encontrado em quatro formas alotrópicas, porém, somente as formas α e β são utilizadas. O α -TCP é mais bioativo comparado ao β -TCP em meio aquoso, isso se deve ao seu arranjo estrutural, que possibilita que a maior quantidade de íons cálcio e fosfato sejam liberados para o meio (GUASTALDI e APARECIDA, 2010). Materiais bioativos, ao contrário dos bioinertes, participam ativamente nas atividades metabólicas que ocorrem no tecido local, sendo que materiais que contêm fosfatos de cálcio são já conhecidos pelo potencial de osteocondutividade (LEGEROS, 2008). Em relação à radiopacidade da formulação, o tungstato de cálcio é um agente utilizado para este fim (COLLARES et al., 2013).

O uso de sistema carreadores de fármacos proporciona vantagens, como melhorar a estabilidade do fármaco (OURIQUE et al., 2008), diminuir efeitos adversos (BERNARDI et al., 2009), apresentar biocompatibilidade com os

tecidos pela utilização de materiais biocompatíveis e biodegradáveis (GUINEBRETIERE et al., 2002), e possuir liberação controlada do fármaco (HERNANDEZ et al., 2013; SUN et al., 2014). A associação de fármacos aos sistemas carreadores facilitam a obtenção de concentração terapêutica no tecido alvo com baixos níveis séricos, geralmente insuficientes para a ocorrência de efeitos adversos (FLORES et al., 2012).

Pelo fato dos materiais desenvolvidos até o momento apresentarem limitações, existe a necessidade da busca por novas formulações. Além disso, nenhum dos materiais existentes no mercado contemplam todas as possíveis propriedades do material proposto neste estudo. Assim, a presente pasta com incorporação de fármacos encapsulados com ação antimicrobiana e antiinflamatória se faz relevante à Odontologia moderna, apresentando-se como uma possível alternativa terapêutica tanto para dentes permanentes como para dentes decíduos.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar as propriedades físico-químicas e biológicas de um novo material reparador para fins endodônticos e comparar com materiais já utilizados na clínica odontológica.

3. MANUSCRITO

Essa dissertação de mestrado se apresenta na forma de um artigo, escrito na língua inglesa e que segue as normas referentes ao periódico *Dental Materials*, para o qual será submetido.

3.1 MANUSCRIPT

Synthesis and characterization of a novel endodontic reparative material containing drug-delivery systems

Não será divulgado devido ao direito de publicação ser exclusivo da revista escolhida para qual o artigo irá ser enviado.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Novos materiais endodônticos são desenvolvidos com o intuito de apresentarem adequadas propriedades físico-químicas e biológicas. Assim, um novo material reparativo para fins endodônticos foi desenvolvido com êxito e caracterizado no presente estudo. A pasta experimental demonstrou importantes características físicas como a adequada formação de película e escoamento associadas à biocompatibilidade e bioatividade.

O controle da liberação de fármacos em sítios de ação específicos, através da utilização de vetores poliméricos, capazes de permitir a otimização da velocidade da dosagem das substâncias, tem sido uma área de intensa pesquisa nos últimos anos (POHLMANN et al., 2003). Dentre os vetores, para os escolhidos da presente pasta incluem-se as micropartículas e os sistemas coloidais. As partículas, constituídas por polímeros biodegradáveis atribuem a vantagem da vetorização de fármacos como antibióticos, principalmente através da possível administração local da droga, almejando uma distribuição mais seletiva dos mesmos e, assim, um aumento do índice terapêutico. A possibilidade da administração local dos fármacos pode prevenir a toxicidade, principalmente quando as doses são aumentadas devido a persistência das infecções já estabelecidas (BERNARDI et al., 2009).

A possibilidade de carrear antibióticos diretamente para o local da infecção pode, também, prevenir situações adversas como resistência dos microorganismos à certas doses de antibióticos. Nos casos de infecção pulpar, além da necessidade de desinfecção dos microorganismos presentes, a

inflamação necessita ser controlada, e como estudos prévios já constataram, a utilização da indometacina carregada em nanocápsulas foi eficaz no controle inflamatório local (BERNARDI et al., 2009), o que permite concluir que a associação da encapsulação de fármacos com o desenvolvimento de materiais reparativos permite uma absorção intracelular relativamente maior do que a de outros sistemas, devido ao seu tamanho subcelular e entrega local do agente ativo (MORA-HUERTAS et al., 2010).

As partículas sintetizadas tiveram diâmetros condizentes com os métodos de preparo escolhidos e os resultados para os ensaios de bioatividade demonstraram aumento na atividade da enzima fosfatase alcalina (ALP), associada à osteogênese e odontogênese no decorrer dos períodos experimentais, bem como aumento na deposição de conteúdo mineralizado na cultura celular, verificado pelo corante Alizarin Red, o que nos demonstra a capacidade das partículas chegarem ao local alvo e participar de atividades metabólicas, aumentando a bioatividade. A pasta endodôntica experimental pôde, ainda, acelerar a migração celular em comparação aos outros materiais testados, o que pode ser considerado como uma possibilidade de agilizar o reparo inicial de lesões periapicais. Portanto, o material desenvolvido no presente estudo levou à expressão de genes associados à osteogênese, acelerando o processo de reparo e caracterizando a osteoindução promovida por este material.

A partir dos resultados gerados no presente estudo, pretende-se formular um produto para uso em humanos. Para isso, projeta-se a avaliação da pasta

com sistemas carreadores de fármacos em animas. Com isso, o conhecimento obtido na bancada poderá se transladar para a o uso clínico, aumentando o benefício a saúde humana gerada pela pesquisa na fronteira do conhecimento.

Levando em consideração os resultados e as limitações do presente estudo, é possível afirmar que o material desenvolvido apresenta adequados resultados relevantes às suas propriedades físico-químicas e biológicas, podendo ser uma nova alternativa para o reparo de tecidos periapicais comprometidos tanto de dentes permanentes como de dentes decíduos.

REFERÊNCIAS

ANTONIAZZI, B. F. et al. Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. **Braz Oral Res**, v. 29, p. 1-6, 2015.

BAER, J.; MAKI, J. S. In vitro evaluation of the antimicrobial effect of three endodontic sealers mixed with amoxicillin. **J Endod**, v. 36, n. 7, p. 1170-1173. 2010.

BERGOLI, A. D. et al. Pulp therapy in primary teeth--profile of teaching in Brazilian dental schools. **J Clin Pediatr Dent**, v. 35, n. 2, p. 191-5, Winter 2010.

BERNARDI, A. et al. Effects of indomethacin-loaded nanocapsules in experimental models of inflammation in rats. **Br J Pharmacol**, v. 158, n. 4, p. 1104-11, Oct 2009.

BYSTROM, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand J Dent Res**, v. 89, n. 4, p. 321-8, Aug 1981.

CAMILLERI, J.; FORMOSA, L.; DAMIDOT, D. The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. **Int Endod J**, v. 46, n. 9, p. 831-40, Sep 2013.

CARROTTE, P. Endodontic treatment for children. **British dental journal**, v.1, n.180, p.9-15, 2005.

CHEN, M. R.; DRAGOO, J. L. The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on tissue healing. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v. 21, n. 3, p. 540-9, Mar 2013.

COLLARES, F. M. et al. Methacrylate-based root canal sealer containing chlorexidine and alpha-tricalcium phosphate. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, Jun 23 2017.

COLLARES, F. M. et al. Influence of radiopaque fillers on physicochemical properties of a model epoxy resin-based root canal sealer. **J Appl Oral Sci**, n.21, v.6, p.533-9, 2013.

DAI, L. et al. Can Caries-Affected Dentin be Completely Remineralized by Guided Tissue Remineralization? **Dent Hypotheses**, v. 2, n. 2, p. 74-82, Jan 01 2011.

DE DEUS, G. A. et al. Analysis of the film thickness of a root canal sealer following three obturation techniques. **Pesqui Odontol Bras**, v. 17, n. 2, p. 119-25, Apr-Jun 2003.

DIMER, F. A. et al. Nanoencapsulation of olanzapine increases its efficacy in antipsychotic treatment and reduces adverse effects. **J Biomed Nanotechnol**, v. 10, n. 6, p. 1137-45, Jun 2014.

DORNELLES, N. B. J. et al. Influence of the addition of microsphere load amoxicillin in the physical, chemical and biological properties of an experimental endodontic sealer. **J Dent**, Oct 26 2017.

DOROZHKIN S.V. Calcium orthophosphates in dentistry. **J Mater Sci Mater Med**, n.24, p.1335-63, 2013.

EID, A. A. et al. In vitro biocompatibility and oxidative stress profiles of different hydraulic calcium silicate cements. **J Endod**, v. 40, n. 2, p. 255-60, Feb 2014.

ESTRELA C. et al. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. **Braz Dent J**, v.10, n.2, p.63-72, 1999.

ESTRELA, C. et al. Monitoring Nonsurgical and Surgical Root Canal Treatment of Teeth with Primary and Secondary Infections. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto , v. 25, n. 6, p. 494-501, 2014.

FESSI, H. et al. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **Int Jou Pharm**, v. 55, n. 1, p. R1-R4, 1989.

FLORES, M.P.; DE CASTRO, A.P.C.R.; NASCIMENTO, J.S. Topical Analgesics. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.62, n.2, p.244-52, 2012.

FONTANA, R. et al. G. Paradoxical response of *Enterococcus faecalis* to the bactericidal activity of penicillin is associated with reduced activity of one autolysin. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 34, n. 2, p. 314-320, 1990.

FONTANA DE ANDRADE, D. et al. Redispersible spray-dried lipid-core nanocapsules intended for oral delivery: the influence of the particle number on redispersibility. **Pharm Dev Technol**, p. 1-39, Nov 02 2017.

FRANZ, T. J. Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.64, n.3, p.190-5, 1975.

FUKS, A. B. Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. **Dent Clin North Am**, v.44, n.3, p. 571-96. 2000.

GANDOLFI, M. G. et al. Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations. **J Appl Biomater Funct Mater**, v. 13, n. 1, p. 43-60, Jan-Mar 2015.

GARCIA-GODOY, F. Primary teeth traumatic injuries at a private pediatric dental center. **Endod Dent Traumatol**, v.3, n.3, p.126-129, 1987.

GENARI, B. et al. Effect of indomethacin-loaded nanocapsules incorporation in a dentin adhesive resin. **Clin Oral Investig**, v. 21, n. 1, p. 437-446, Jan 2017.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: Importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 6, p. 1352-1358. 2010.

GUEDES-PINTO, A. C.; DE PAIVA, J. G.; BOZZOLA, J. R. [Endodontic treatment of deciduous teeth with pulp necrosis]. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v. 35, n. 3, p. 240-4, May-Jun 1981.

GUINEBRETIERE, S. et al. Nanocapsules of biodegradable polymers: preparation and characterization by direct high resolution electron microscopy. **Materials Science and Engineering: C**, v.21, p.137– 42, 2002.

HENCH, L. L.; XYNOS, I. D.; POLAK, J. M. Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. **J Biomater Sci Polym Ed**, v. 15, n. 4, p. 543-62, 2004.

HERNANDEZ, F. J. et al. Cancer cells with controlled release nanocapsules based on a single aptamer. **Chemical Communications**, v.49, p.1285-7, 2013.

HOELSCHER, A. A.; BAHCALL, J. K.; MAKI, J. S. In vitro evaluation of the antimicrobial effects of a root canal sealer-antibiotic combination against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v. 32, n. 2, p. 145-7, Feb 2006.

HOLLAND, R. et al. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. **J Appl Oral Sci**, v. 25, n. 5, p. 465-476, Sep-Oct 2017.

International Organization for Standardization. Specification for dental root canal sealing materials. ISO 6876. London: British Standards Institution, 1986.

JHAJHARIA, K. et al. Biofilm in endodontics: A review. **J Int Soc Prev Community Dent**, v. 5, n. 1, p. 1-12. 2015.

JIANG, H.; LIU, X. Y. Principles of mimicking and engineering the self-organized structure of hard tissues. **J Biol Chem**, v. 279, n. 40, p. 41286-93, Oct 01 2004.

KASAJ, A. et al. Human periodontal ligament fibroblasts stimulated by nanocrystalline hydroxyapatite paste or enamel matrix derivative. An in vitro assessment of PDL attachment, migration, and proliferation. **Clin Oral Investig**, v. 16, n. 3, p. 745-54, Jun 2012.

KEATCH, R. P. et al. Biomaterials in regenerative medicine: engineering to recapitulate the natural. **Curr Opin Biotechnol**, v. 23, n. 4, p. 579-82, Aug 2012.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v.27, p.2907-15, 2006.

KRAMER, P. F.; FARACO, JUNIOR I. M.; FELDENS C. A. Current status of pulp therapy in the Brazilian Universities – Pulpotomy and Pulpectomy Technique in deciduous teeth. **J Bras Odontoped Odontol Bebê**, v.3, p.222-29, 2000.

KUBOTA, K.; GOLDEN, B. E.; PENUGONDA, B. Root canal filling materials for primary teeth: a review of the literature. **ASDC J Dent Child**, v.59, n.3, p.225-227, 1992.

KUMAR, R. et al. Solid lipid nanoparticles for the controlled delivery of poorly water soluble non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Ultrason Sonochem**, v. 40, n. Pt A, p. 686-696, Jan 2018.

LEE, S. K. et al. Mechanical stress activates proinflammatory cytokines and antioxidant defense enzymes in human dental pulp cells. **J Endod**, v. 34, n. 11, p. 1364-1369, Nov 2008.

LEGEROS, R. Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. **Chem Rev**, v. 108, n. 11, p. 4742-53, Nov 2008.

LIANG, C. C.; PARK, A. Y.; GUAN, J. L. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. **Nat Protoc**, v. 2, n. 2, p. 329-33, 2007.

LIN, L. M.; SKRIBNER, J. E.; GAENGLER, P. Factors associated with endodontic treatment failures. **J Endod**, v. 18, n. 12, p. 625-7, Dec 1992.

LOBATO, K. B. S.; PAESE, K.; FORGEARINI, J. C.; GUTERRES, S.S.; JABLONSKI, A.; RIOS A.O. Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. **Food Chemistry**, v.4, n.141, p.3906-3912, 2013.

LUCAS, S. The Pharmacology of Indomethacin. **Headache**, v. 56, n. 2, p. 436-46, Feb 2016.

LUCZAJ-CEPOWICZ, E. et al. Evaluation of cytotoxicity and pH changes generated by various dental pulp capping materials - an in vitro study. **Folia Histochem Cytobiol**, v. 55, n. 2, p. 86-93, 2017.

MAGALHÃES, M. H. C. G.; JAEGER, R.G. Influência da pasta composta por Rifocort, iodofórmio e paramonoclorofenol canforado na reparação dento-alveolar: estudo morfológico em ratos. **Rev Fac Odontol FZL**, v.31, n.3, p.7-15,

1991.

MAHMOUDIAN, M.; GANJI, F. Vancomycin-loaded HPMC microparticles embedded within injectable thermosensitive chitosan hydrogels. **Prog Biomater**, v. 6, n. 1-2, p. 49-56, May 2017.

MANI, S. A.; CHAWLA, H. S.; TEWARI, A.; GOYAL, A. Evaluation of a calcium hydroxide and zinc oxide eugenol as root canal filling materials in primary teeth. **ASDC J Dent Child**, v.67, n.2, p.142-7, 2000.

MESTIERI, L. B. et al. Cytotoxicity and Bioactivity of Calcium Silicate Cements Combined with Niobium Oxide in Different Cell Lines. **Braz Dent J**, v. 28, n. 1, p. 65-71, Jan-Feb 2017.

MOLANDER, A. et al. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, v. 31, n. 1, p. 1-7, Jan 1998.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.385, p.113–42, 2010.

MORETTON, T.R. et al. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **J Biomed Mater Res.**, v. 52, n. 3, p. 528-33, 2000.

MORTAZAVI, M.; MESBAHI, M. Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v.14, n.1, p. 417–424, 2004.

MURAKAMI, Y. et al. Novel isolation of alkaline phosphatase-positive subpopulation from periodontal ligament fibroblasts. **J Periodontol**, v. 74, n. 6, p. 780-6, Jun 2003.

NAIR, P. N. R. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.15, p.348-381, 2004.

OLIVEIRA C.P.; VENTURINI C.G.; DONIDA B.; POLETTO F.S.; GUTERRES S.S.; POHLMANN A.R. An algorithm to determine the mechanism of drug distribution in lipid-core nanocapsule formulations. **Soft Matter**, v.9, p.1141-50, 2013.

OURIQUE, A. F.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; BECK, R. C. R. Tretionoin-loaded nanocapsules: preparation, physicochemical characterization, and photostability study. **International Journal of Pharmaceutics**, v.352, p.1–4, 2008.

PELLICOLI, A. C. et al. Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. **J Biomed Opt**, v.19, n.2, e028002, 2014.

PINHEIRO, E. T. et al. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J**, v. 37, n. 11, p. 756-63, Nov 2004. ISS

POGGIO, C. et al. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. **J Clin Exp Dent**, v. 9, n. 6, p. e743-e748, Jun 2017.

POGGIO, C. et al. Solubility and pH of direct pulp capping materials: a comparative study. **J Appl Biomater Funct Mater**, v.13, n.2, p.181-185, 2015.

POHLMANN, A. R. et al. Spray-dried indomethacin-loaded polyester nanocapsules and nanospheres: development, stability evaluation and nanostructure models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, n.5, v.16, p.305-312, 2002.

POHLMANN, A. R. et al. Poly(ϵ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery. **Expert Opin Drug Deliv**. v. 10, n. 5, p. 623-38, 2013

PORTELLA, F. F. et al. Glycerol salicylate-based containing alpha-tricalcium phosphate as a bioactive root canal sealer. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 103, n. 8, p. 1663-9, Nov 2015.

PORTELLA, F. F. et al. Synthesis and characterization of a glycerol salicylate resin for bioactive root canal sealers. **Int Endod J**, v. 47, n. 4, p. 339-45, Apr 2014.

RAVAL, J. A.; PATEL, J. K.; PATEL, M. M. Formulation and in vitro characterization of spray dried microspheres of amoxicillin. **Acta Pharm**, v. 60, n. 4, p. 455-65, Dec 2010.

RAZMI, H. et al. Antimicrobial Effects of AH26 Sealer/Antibiotic Combinations Against *Enterococcus Faecalis*. **Iran Endod J**, v. 3, n. 4, p. 103-8, Fall 2008.

REZENDE, G. C.; MASSUNARI, L.; QUEIROZ, I. O. A.; GOMES-FILHO, J. E.; JACINTO, R. C.; LODI, C. S.; DEZAN-JUNIOR, E. Antimicrobial action of calcium hydroxide-based endodontic sealers after setting, against *E. faecalis* biofilm. **Brazilian Oral Research**, v.30, n.1, 2015.

RIFKIN, A. A simple, effective, safe technique for the root canal treatment of abscessed primary teeth. **ASDC J Dent Child**, v.47, n.6, p.435-441, 1980.

ROCAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F., JR.; SANTOS, K. R. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J Endod**, v. 30, n. 5, p. 315-20, May 2004.

ROSA A. L.; BELOTI M. M. Development of the osteoblast phenotype of serial cell subcultures from human bone marrow. **Braz Dent J**, v.16, n.3, p.225-230, 2005.

SALLES L. P. et al. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. **J Endod**, v.38, n.7, p.971-976, 2012.

SILVA, C. M.; CANDELÁRIA, L. F. A.; BOMBANA, A. C. Estudo comparativo da ação antimicrobiana entre cinco pastas de obturação de canais radiculares de dentes decíduos. **J Bras Odontopediatr Odontol Bebe**, v.5, n.28, p.502-510, 2002.

SIQUEIRA, J. F., JR. et al. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. **J Endod**, v. 26, n. 5, p. 274-7, May 2000.

SOPPIMATH, K.S.; AMINABHAVI, T.M.; KULKARNI,A.R.; RUDZINSKI, W.E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v.70, p.1-20, 2001.

SUMM, O.; EVERS, S. Mechanism of action of indomethacin in indomethacin-responsive headaches. **Current pain and headache reports**, v.17, n.4, 2013.

SRINIVASAN, V.; PATCHETT, C. L.; WATERHOUSE, P. J. Is there life after Buckley's Formocresol? Part I - A narrative review of alternative interventions and materials. **Int J Paediatr Dent**, v.16, n.2, p.117-27, 2006.

STOCKERT, J. C. et al. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochem**, v. 114, n. 8, p. 785-96, Dec 2012.

SUN, C. et al. Encapsulation and controlled release of hydrophilic pesticide in shell cross-linked nanocapsules containing aqueous core. **International Journal of Pharmaceutics**, v.463, p.108–14, 2014.

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. **Cell**, v. 126, n. 4, p. 663-76, Aug 25 2006.

TANOMARU-FILHO, M. et al. Biocompatibility and mineralized nodule formation of Neo MTA Plus and an experimental tricalcium silicate cement containing tantalum oxide. **Int Endod J**, Apr 08 2017.

TANOMARU, J. M. et al. Evaluation of the radiopacity of root canal sealers by digitization of radiographic images. **J Appl Oral Sci**, v. 12, n. 4, p. 355-7, Dec 2004.

TENHUISEN, K. S.; BROWN, P. W. Formation of calcium-deficient hydroxyapatite from alpha-tricalcium phosphate. **Biomaterials**, v. 19, n. 23, p. 2209-17, Dec 1998.

TJADERHANE, L. et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. **Dent Mater**, v. 29, n. 1, p. 116-35, Jan 2013.

TRAIRATVORAKUL, C.; DETSOMBOORAT, P. Success rates of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole, and minocycline antibiotics used in the non-instrumentation endodontic treatment of mandibular primary molars with carious pulpal involvement. **International Journal of Paediatric Dentistry**, n.20, v.1, p. 217–227, 2012.

VAN TONDER, A.; JOUBERT, A. M.; CROMARTY, A. D. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. **BMC Res Notes**, v. 8, p. 47, Feb 20 2015.

VARALAKSHMI, P. R. et al. Effect of statins with alpha-tricalcium phosphate on proliferation, differentiation, and mineralization of human dental pulp cells. **J Endod**, v. 39, n. 6, p. 806-12, Jun 2013.

VEGA-GONZÁLEZ, A. et al. Precipitation of PMMA/PCL blends using supercritical carbon dioxide. **Jou App Poly Sci**, v. 91, n. 4, p. 2422-2426, 2004.

VENTURINI, C. G. et al. Formulation of lipid core nanocapsules. *Colloids and Surfaces A: Phys Eng Aspects*, v. 375, n. 1, p. 200-208, 2011/02/05/ 2011.

VICHAI, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nat Protoc**, v. 1, n. 3, p. 1112-6, 2006.

VISIOLI F.; WANG Y.; ALAM G. N.; NING Y.; RADOS P. V.; NÖR J. E.; POLVERINI P. J. Glucose-regulated protein 78 (Grp78) confers chemoresistance to tumor endothelial cells under acidic stress. **PLoS One**, v.9, n.6, e101053, 2014.

WANG, Q. Q. et al. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. **Int J Oral Sci**, v. 4, n. 1, p. 19-23, Mar 2012.

WEIR, M. D. et al. Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions. **Dent Mater**, v. 33, n. 9, p. 1033-1044, Sep 2017.

WILLERSHAUSEN, B. et al. Cytotoxicity of root canal filling materials to three different human cell lines. **J Endod**, v. 26, n. 12, p. 703-7, Dec 2000.

ZANOTTO-FILHO, A. et al. Curcumin-loaded lipid-core nanocapsules as a strategy to improve pharmacological efficacy of curcumin in glioma treatment. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 83, n. 2, p. 156-67, Feb 2013.

ZHANG, H.; SHEN, Y.; RUSE, N. D.; HAAPASALO, M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v.7, n.35, p.1051-1055, 2009.