



**Universidade Estadual de Campinas  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

**JULIA PUPPIN RONTANI**

**Desempenho *in vitro* de adesivos condiciona-e-lava de 2 passos  
modificado por aditivos de tiouretano**

***In vitro* performance of 2-step, total etch adhesives modified by  
thiourethane additives**

Piracicaba 2020

**JULIA PUPPIN RONTANI**

**Desempenho *in vitro* de adesivos condiciona-e-lava de 2 passos  
modificado por aditivos de tiouretano**

***In vitro* performance of 2-step, total etch adhesives modified by  
thiourethane additives**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Materiais Dentários.

Thesis presented to the Piracicaba Dental School of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Dental Materials.

**Orientador:** Lourenço Correr Sobrinho

**Coorientadora:** Carmem Silvia Costa Pfeifer

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE  
DEFENDIDA PELA ALUNA JULIA PUPPIN RONTANI E ORIENTADA  
PELO PROF. DR. LOURENÇO CORRER SOBRINHO

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
Marilene Girello - CRB 8/6159

P969d Puppini-Rontani, Julia, 1990-  
Desempenho *in vitro* de adesivos condiciona-e-lava de 2 passos  
modificado por aditivos de tiouretano / Julia Puppini Rontani. – Piracicaba, SP :  
[s.n.], 2020.

Orientador: Lourenço Correr Sobrinho.

Coorientador: Carmem Silvia Pfeifer.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba.

Em regime interinstitucional com: Oregon Health and Science University -  
OHSU.

1. Adesivos dentinários. 2. Materiais dentários. 3. Resistência à tração. I.  
Correr Sobrinho, Lourenço, 1960-. II. Pfeifer, Carmem Silvia. III. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** *In vitro* performance of 2-step, total etch adhesives modified by  
thiourethane additives

**Palavras-chave em inglês:**

Dentin-bonding agents

Dental materials

Tensile strength

**Área de concentração:** Materiais Dentários

**Titulação:** Doutora em Materiais Dentários

**Banca examinadora:**

Lourenço Correr Sobrinho [Orientador]

Bruna Marin Fronza

Daniel Sundfeld Neto

Mário Alexandre Coelho Sinhoreti

Flavio Henrique Baggio Aguiar

**Data de defesa:** 28-02-2020

**Programa de Pós-Graduação:** Materiais Dentários

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-0871-801X>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/7748228618269134>



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 28 de fevereiro de 2020, considerou a candidata JULIA PUPPIN RONTANI aprovada.

PROF. DR. LOURENÇO CORRER SOBRINHO

PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. BRUNA MARIN FRONZA

PROF. DR. DANIEL SUNDFELD NETO

PROF. DR. MÁRIO ALEXANDRE COELHO SINHORETI

PROF. DR. FLAVIO HENRIQUE BAGGIO AGUIAR

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à vocês, por me apoiarem e incentivarem a seguir meus sonhos e objetivos e a nunca desistir, independente dos obstáculos que surgiram no meio do caminho. Por suportarem minhas dores nos momentos de angústia e por vibrarem comigo nos momentos de vitória. Por terem me dado a oportunidade de poder concluir esta fase da minha vida e seguir o mesmo caminho que vocês traçaram. À vocês, minha família, **Milton, Regina, Sofia e Martin**.

Dedico à **Deus**, por ter me guiado durante esta trajetória, por ter me dado saúde, discernimento, esperança, conforto e paz.

Dedico ao meu namorado **Victor** por estar comigo em todos os momentos, bons e ruins, e por me incentivar a ser uma pessoa melhor.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, pela orientação durante esses anos de Mestrado e Doutorado, pela amizade e por ter acreditado e me incentivado. Pelos ensinamentos e palavras de sabedoria. Por ter me dado esta oportunidade. Obrigada.

À minha co-orientadora **Profa. Dra. Carmem Silvia Pfeifer**, pela oportunidade do Doutorado Sanduíche na Oregon Health and Science University, pelos ensinamentos e paciência durante este período e por toda assistência e dedicação durante o Doutorado. Por me abrir portas que sempre estiveram em meus planos, por mostrar um outro lado da pesquisa e por ser essa pessoa inspiradora.

## AGRADECIMENTOS

Nesses quatro anos, só tenho a agradecer a todos que participaram e me ajudaram de alguma forma, a concluir este trabalho e esta fase de minha vida. Serei eternamente grata à vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

CAPES1: “O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

A Faculdade de Odontologia de Piracicaba, nas pessoas do seu Diretor, **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho** por me aceitar como orientada, pelos ensinamentos, paciência, atenção e acolhimento durante todo o mestrado e doutorado.

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Materiais Dentários **Prof. Dr. Américo Bortolazzo Correr** e a ex-coordenadora **Profa. Dra. Regina Maria Puppini Rontani**.

Aos **Profs. Drs. Mario Fernando de Goes, Simonides Consani, Mario Alexandre Coelho Sinhoretti, Américo Bortolazzo Correr, Regina Maria Puppini Rontani, Marcelo Gianini, e Ana Rosa Costa Correr** docentes da Área Materiais Dentários e aos demais professores do corpo docente do curso de Pós-Graduação em Materiais Dentários pelos ensinamentos, compreensão, palavras de sabedoria e apoio. Por nos fornecer laboratórios, equipamentos e materiais para pesquisa, sendo de fundamental importância para conclusão deste trabalho. Pela oportunidade de cursar um programa de excelência e poder aprender com os melhores professores da área. Muito obrigada.

Aos funcionários da Área Materiais Dentários, **Marcos Blanco Cangiani** e **Selma Aparecida Barbosa Segalla** por estarem sempre dispostos a ajudar em todos os momentos.

À minha mãe, **Regina Maria Puppini Rontani**, por sempre estar ao meu lado e apoiar minhas decisões. Por me incentivar, guiar, me ensinar a lutar pelos meus

sonhos. Por ser meu maior exemplo de garra e amor pelo trabalho e família, pela honestidade, amizade e amor. Por ser essa mulher guerreira, inteligente e dedicada. Por ser meu maior apoio e minha maior inspiração. Por me ensinar a fazer tudo com amor e paixão. Por abdicar de muitas coisas, para que eu pudesse concretizar meus sonhos e planos. Serei eternamente grata à você.

Ao meu pai **Milton Rontani Júnior**, por sempre estar presente, me apoiando. Por ser meu maior exemplo de dedicação e amor à família e ao trabalho. Pela sua amizade, seu amor, sua garra, seu incentivo, por me ensinar o respeito, e por me proporcionar a vida que tive. Por ser um guia, um espelho, um exemplo e uma meta, de um dia poder ser a metade do que você é. Por sempre abdicar do seu lazer, suas férias e muitas vezes dos seus sonhos, para que eu pudesse seguir os meus e concretizar meus objetivos. Serei eternamente grata à você, e espero um dia poder retribuir de alguma forma.

À minha irmã **Sofia Puppini Rontani**, por sempre estar presente e ser meu apoio. Pela sua amizade, amor, carinho e proteção. Por me ajudar a ser uma pessoa melhor. Por ser uma inspiração. Por ser minha irmã e melhor amiga, e por nos dar a maior alegria de nossas vidas, o **Martin**.

À minha avó **Therezinha Mazali Puppini** por estar sempre presente e ser ter sido essencial durante o meu período de Doutorado, assim como em minha vida.

Ao meu namorado, **Victor Calheiros Crepaldi**, pelo amor, companheirismo, incentivo, paciência, por sempre estar presente, me apoiando e ajudando a ser uma pessoa melhor.

Aos meus amigos que fiz durante o período do Doutorado Sanduíche, **Caroline Mathias Carvalho de Souza** e **Rafael Soares Gomes**, que foram essenciais durante todo o tempo em que moramos, trabalhamos e convivemos juntos. Por terem suavizados os dias em que a saudade apertou e por serem tão companheiros em todos os momentos. Vocês se tornaram bons e verdadeiros amigos, os quais tenho certeza que estarão sempre comigo. Apesar de sermos três pessoas diferentes, no final percebemos que somos muito parecidos. Muito obrigada por tudo.



À **Ana Paula Fugolin**, pela amizade e ensinamentos antes, durante e após o período do Doutorado Sanduíche. Você foi essencial durante esses anos.

À **Profa. Dra. Vânia Célia Vieira de Siqueira** pelos ensinamentos sobre a vida pessoal e profissional. Por me ensinar a calma, a paz interior, o amor próprio, a sempre respirar e que sempre há um lado bom em tudo. Pelos seus ensinamentos sobre oratória. Por me ajudar a melhorar profissionalmente. Por ser uma pessoa especial. Obrigada.

Aos meus amigos da pós graduação **Cristhian Camilo Madrid Troconis, Gabriel Nima Bermejo, Maurício Bottene Guarda, Marcus Vinicius Loureiro Bertolo, Paolo Tulio Di Nizo, Mateus Garcia Rocha, Dayane S. de Oliveira, Paulo Vitor Campos Ferreira, Marina B. Pereira Moreno, Renally Wanderley, Gabriel Abuna, Jamille Favarão, Maurício Matté Zanini, Bruna Marin Fronza, Vitaliano Neto, Caio Nobre, Aila Leal, Eduardo de Castro, Victor Hugo Torso, Larissa Marcelino, Jessica Camassari, Lincoln Pires, May Anny Alves Fraga** pelo apoio, companheirismo, ensinamentos, conversas diárias, risadas, companhias em congressos e pela amizade.

Ao **Adriano Luis Martins**, responsável pelo Microscópio Eletrônico de Varredura, por todos ensinamentos e paciência durante o Mestrado e Doutorado, e por sempre estar disponível para auxiliar.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou realização do Doutorado em Materiais Dentários na FOP/Unicamp e o Doutorado Sanduíche na **Oregon Health and Science University**.

À **banca de qualificação Profa. Dra. Fernanda Miori Pascon, Prof. Dr. José Guilherme Neves e Prof. Dr. Gabriell Bonifácio Borgato** pela contribuição para que este trabalho fosse finalizado.

A todos os não mencionados que direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.

## Resumo

Objetivo: avaliar as propriedades físicas e a resistência de união à microtração de adesivos experimentais contendo oligômeros de tiouretano (TU) e/ou partículas de carga funcionalizadas com TU. Materiais e métodos: uma matriz orgânica base contendo 60%BisGMA/40%HEMA (peso) +0,2% DMPA 1 (fotoiniciador) + 0,5% BHT(inibidor) - (BH-controle) foi formulada; o oligômero de TU PETMP-DEMODUR (tetrafuncional) foi sintetizado e adicionado em 20%(peso) à matriz orgânica dos grupos contendo TU (BH+ 20%TU); para os grupos contendo partículas de carga, estas foram funcionalizadas com metacrilato-MF ou com tiouretano-TF e adicionadas em 10%(vol). Os grupos experimentais foram: BH; BH+10%MF; BH+10%TF; BH+20%TU+10%MF; BH+20%TU+10%TF; BH+20%TU. Os grupos foram submetidos aos testes: resistência de união à microtração (RUMT) em 24 h e 6 meses em dentina hígida (n=6); resistência à flexão (RF) por três pontos em ambiente seco (n=6) e armazenadas em água por 7 dias (n=6); Cinética de polimerização (n=3) (grau de conversão-GC e taxa máxima de polimerização-Rpmax); Sorção e Solubilidade (SR/SL) (n=3); e, Viscosidade (V)(n=3). Para a RUMT, foi adicionado 40% etanol(vol) aos grupos experimentais. Os dados foram submetidos a ANOVA um fator e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para a comparação entre os tempos de armazenagem das amostras da RUMT, foi aplicado o teste ( $p < 0,05$ ). Para a RUMT ( $p = 0,13$ ) e SR/SL ( $p > 0,5$ ) e RF a seco ( $p > 0,05$ ), não houve diferença significativa entre os grupos. Os grupos contendo TU na matriz apresentaram os menores valores de RF ( $p < 0,05$ ) quando armazenados por 7 dias em água. Os grupos contendo TU na matriz apresentaram os maiores valores de GC e não houve diferença significativa entre os grupos quanto a GC-na-Rpmax. A Rpmax foi maior para o BH+20%TU+10%MF, seguido pelo BH e BH+10%TF, e os menores valores encontrados para os BH+10%MF, BH+20%TU+10%TF e BH+20%TU. Os grupos contendo TU na matriz mostraram maiores valores de viscosidade, sendo o BH+20%TU+10%TF, o qual possui TU na matriz e na funcionalização das cargas, o maior valor de viscosidade. Conclusão: Tendo em vista que a adição de TU na matriz melhorou o grau de conversão final, conclui-se que a adição de TU na matriz de adesivos experimentais apresenta-se como uma estratégia promissora.

Palavras-chave: Adesivos dentinários, Materiais Dentários, Resistência à Tração.

## Abstract

The aim of the study was to evaluate the effect of adding thio-urethane oligomers (TU) on physical properties and the microtensile bond strength of experimental adhesive and/or thio-urethane functionalized fillers. One organic base-matrix was formulated containing BisGMA/HEMA (60%/40%wt) (BH) + 0.2% DMPA 1 (photoinitiator) + 0.5% BHT(inhibitor) – BH (control); the thio-urethane oligomer was added in 20%(wt) for the groups containing TU in the matrix; and for the groups containing fillers, fillers were functionalized with methacrylate (MF) or thio-urethane (TF) and added in 10%(wt). The experimental adhesives groups were: BH; BH+10%MF; BH+10%TF; BH+20%TU+10%MF; BH+20%TU+10%TF; BH+20%TU. For the mechanical properties, the experimental groups were submitted to Microtensile bond strength (n=6) (24h and 6 months), Yield Strength (YS) and Modulus (YM) (n=6) (wet and dry), Polymerization kinetics (n=3) (final degree of conversion-DC and maximum rate of polymerization-Rpmax), Water Sorption/Solubility (WS/SL) (n=3) and Viscosity (n=3). For the microtensile bond strength test 40% ethanol (vol) was added to the experimental groups and 36 molars were selected and divided in 6 groups (n=6) that were analyzed in 24h and 6 months of storage in water. The data were submitted to one-way ANOVA and Tukey post-hoc test ( $p>0.05$ ). For the comparison of storage time for the microtensile bond strength test, data were submitted to t test ( $p>0.05$ ). For the microtensile bond strength test ( $p=0.13$ ) and WS/SL ( $p>0.05$ ), no significant difference was found between groups. For the YS and YM ( $p>0.05$ ), the dry evaluation had no significant difference in YS, although for the YM BH+10%MF, BH+10%TF and BH+20%TU+10%MF had the highest values compared to BH, BH+20%TU+10%TF and BH+20%TU and in the wet evaluation, the groups containing TU in the matrix had the lowest values in YS and YM. The polymerization kinetics for the groups containing TU in the matrix had the highest DC and no significant difference was found between groups for the DC at Rpmax. The Rpmax was higher for the BH+20%TU+10%MF, followed by BH and BH+10%TF, and the lowest Rpmax values were found for the BH+10%MF, BH+20%TU+10%TF and BH+20%TU. The groups containing TU in the matrix had the highest values for viscosity, being that the BH+20%TU+10%TF that has TU in the matrix and on the functionalized fillers had the highest values with statistical significant difference for the BH+20%TU+10%MF and BH+20%TU. The addition of TU in the matrix improved the final degree of conversion of the experimental adhesives

and the bond strength maintained stable after 6 months of storage in water. With that, the addition of TU in the matrix of experimental adhesives improved the final Degree of conversion is a promising strategy.

Key-words: **Dentin-Bonding Agents, Dental Materials, Tensile Strength**

## Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 ARTIGO: <i>In vitro</i> performance of 2-step, total etch adhesives modified by thiourethane additives	18
3 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE 1 – Materiais e Métodos	45
ANEXO 1 – Comitê de ética	51
ANEXO 2 - Turnitin	52
ANEXO 3 – Comprovante de submissão do artigo	53

## 1 INTRODUÇÃO

O advento da adesão na odontologia tornou possível a reabilitação imediata de dentes fraturados e/ou cariados, pela restauração em resina composta, de modo a devolver a estética e a função e preservar as estruturas híidas. Restaurações em resina composta podem ser realizadas de forma direta devido a resistência mecânica imediata e estética satisfatória apresentadas.

Porém, polímeros à base de metacrilato possuem longevidade clínica média de 10 anos, cujas falhas devem-se a presença de lesões de cárie recorrente nas margens da restauração ou a fratura do substrato associado ao compósito (De Munck et. al., 2005, Demarco et. al., 2012 e Demarco 2017). Essas falhas são atribuídas principalmente às características intrínsecas destes materiais e a fragilidade da interface de união resina/dentina. Esses fatos ficam evidentes quando da análise da interface de união resina/dentina, mostrando a formação de fendas entre o dente e o material restaurador, o qual é uma via de penetração de bactérias, levando a formação das lesões recorrentes de cárie e consequente falha da restauração (Ferracane JL e Hilton TJ, 2016).

Especificamente, os materiais resinosos compostos por monômeros metacrilatos apresentam uma rápida taxa máxima de polimerização, produzindo a diminuição na mobilidade dos monômeros que leva a geleificação e vitrificação em estágios iniciais de polimerização, com consequente limitado grau de conversão e alta tensão de polimerização (Pfeifer et. Al. 2008, Pfeifer et. Al. 2011), produzindo um polímero deficiente, susceptível à degradação hidrolítica. Além disso, as falhas na interface das restaurações devem ser consideradas multifatoriais, pois, a perda da integridade da camada híbrida devido a degradação hidrolítica do polímero formado (Cho et. al., 2013) e do colágeno exposto (Breschi et. al., 2008) associada à formação de fendas induzidas pelas características do polímero e pela tensão de polimerização (Ferracane, 2008), potencializados pela presença de biofilme cariogênico (Jaffer et. al., 2002 e Huang et. al., 2018). Portanto, uma camada adesiva ideal seria formada por um material resistente à degradação hidrolítica e à absorção de fluídos orais, com melhores propriedades mecânicas e integridade marginal.

Para melhoria desta camada adesiva, diversas modificações foram realizadas na composição dos materiais, como a utilização de monômeros mais hidrofóbicos (Froés-Salgado et. al., 2015), monômeros resistentes a hidrólise como metacrilamidas

(Rodrigues et. al., 2018) ou vinil-éteres (Gonzalez-Bonet et. al., 2015) ou modificações na técnica adesiva, como a *dry-bonding technique* (Sadek et. al., 2008). Uma outra estratégia, seria melhorar as propriedades mecânicas da camada adesiva, como a incorporação de cargas inorgânicas na composição de adesivos (Miyazaki et. al., 1995, Van Landuyt, et. al., 2007 e Belli et. al., 2014) ou a adição de componentes que aumentam as ligações cruzadas da cadeia polimérica e a tenacidade à fratura (Bachi et. al., 2014, Bachi et. al., 2015, Bachi e Pfeifer 2016, Faria-e-Silva et. al., 2017).

Apesar de controverso na literatura, diversos trabalhos demonstraram que a adição de 10% de carga inorgânica em adesivos, aumentou a resistência da camada adesiva em até duas vezes quando comparado aos adesivos sem carga (Miyazaki et. al., 1995 e Belli et. al., 2014). Estas cargas funcionam como absorvedores de tensões, e ao mesmo tempo aumentam a resistência coesiva desta camada e seu módulo de elasticidade (Azad et. al., 2018). Além da melhoria nas propriedades mecânicas, a adição de cargas inorgânicas aumenta a viscosidade do material, o que evita a formação de uma camada fina de adesivo, melhorando a distribuição de tensões sem alterar o espalhamento do material sobre o substrato dentinário (Kim et. al., 2005). Outra vantagem da adição de cargas em adesivos, é o aumento do grau de conversão devido as cargas inorgânicas serem funcionalizadas com silanos, sendo novos sítios de iniciação de crescimento de cadeia durante a polimerização (Belli et. al., 2014).

Outra maneira de se melhorar as propriedades mecânicas de adesivos odontológicos, seria a incorporação de agentes de ligação cruzada à matriz de metacrilatos. A adição de oligômeros de tiouretano aos metacrilatos foi realizada com o intuito de superar os problemas de polímeros contendo tiól-eno, os quais possuem a vantagem da transferência de cadeia dos tióis aos grupamentos eno e vinil, retardando a vitrificação e a formação do ponto gel (Lu et al., 2005; Cramer et al., 2010a; Cramer et al., 2010b; Boulden et al., 2011). Este composto foi adicionado a fim de se aumentar o grau de conversão final e a formação de uma cadeia polimérica mais homogênea, comparados aos polímeros de metacrilato. Entretanto, os tiól-enos possuem a desvantagem de produzirem um material com baixa estabilidade, propriedades mecânicas reduzidas e odor desagradável (Lu et al., 2005; Beigi et al., 2013). Com isto, oligômeros de tiouretano foram sintetizados a fim de se obter um polímero mais homogêneo em relação aos uretanos convencionais, com as vantagens dos tióis.

Os tiouretanos possuem melhorias nas propriedades como maior grau de conversão final, melhores propriedades mecânicas e maior estabilidade devido aos tióis pendentes em sua cadeia, os quais possuem o mecanismo de transferência de cadeia à matriz secundária de metacrilato, retardando a geleificação e vitrificação destes polímeros (Pfeifer et. Al. 2011). Este atraso no ponto gel e na vitrificação, garante uma maior mobilidade dos monômeros e um maior grau de conversão final, assim como uma menor tensão de contração de polimerização e maior tenacidade à fratura (Senyurt et. al., 2007; Li et al., 2007). Quando oligômeros de tiouretano foram incorporados aos cimentos resinosos e à resina composta, observou-se maior grau de conversão final, menor tensão de polimerização e um aumento da tenacidade à fratura duas vezes maior do que os cimentos resinosos constituídos puramente de metacrilato (Bachi et. al., 2014, Bachi et. al., 2015, Bachi e Pfeifer 2016, Faria-e-Silva et. al., 2017). Dessa forma, a incorporação de oligômeros de tiouretano na matriz de sistemas adesivos, poderia aumentar o grau de conversão final de adesivos simplificados e ao mesmo tempo melhorar as propriedades mecânicas da interface adesiva e diminuir a plasticização da camada adesiva (Cadenaro et. al., 2005 e Breschi et. al., 2007).

Entretanto, a adição de oligômeros de tiouretano deve ser limitada pois, possuem alto peso molecular (5kDa), o que interferiria na viscosidade de polímeros (O'dian 2004) quando em alta concentração. Na tentativa de se obter as vantagens da incorporação de tiouretano sem aumentar a viscosidade final de polímeros, partículas de carga foram funcionalizadas com tiouretano e incorporadas em resina composta (Fugolin, et. al., 2019). Dessa forma pode-se observar um aumento de duas vezes na tenacidade à fratura quando comparadas às resinas compostas com cargas inorgânicas silanizadas com metacrilato e uma diminuição da tensão de polimerização, sem comprometer a viscosidade dos compósitos (Fugolin, et. al., 2019). Partículas de cargas foram incorporadas em adesivos, afim de se aumentar a resistência da união da camada adesiva, a qual é a parte da restauração de maior fragilidade (Miyazak, et. al., 1995, Van Landuyt, et. al., 2007). Portanto, funcionalizar cargas inorgânicas com tiouretano, pode melhorar as propriedades da interface adesiva sem aumentar a viscosidade do adesivo mantendo as vantagens dos tiouretanos.



Baseado no exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da incorporação de oligômeros de tiouretano e/ou partículas de carga inorgânica funcionalizadas com tiouretano em adesivos experimentais, nas propriedades físicas e na resistência de união à dentina.

Este trabalho foi apresentado no formato alternativo de tese de acordo com as normas estabelecidas pela deliberação 002/06 da Comissão Central de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Campinas. O artigo referente ao Capítulo 1 foi submetido à publicação no periódico *International Journal of Adhesion and Adhesives*.

2 Artigo: *In vitro* performance of 2-step, total etch adhesives modified by thiourethane additives

Abstract

The aim of the study was to evaluate the effect of adding thio-urethane oligomers (TU) on mechanical and physical properties of experimental adhesive and/or thio-urethane functionalized fillers. One organic base-matrix was formulated containing BisGMA/HEMA (60%/40%wt) (BH) +0.2% DMPA 1 (photoinitiator) + 0.5% BHT(inhibitor) – BH (control); the thio-urethane oligomer was added in 20%(wt) for the groups containing TU in the matrix; and for the groups containing fillers, fillers were functionalized with methacrylate (MF) or thio-urethane (TF) and added in 10%(wt). The experimental adhesives groups were: BH; BH+10%MF; BH+10%TF; BH+20%TU+10%MF; BH+20%TU+10%TF; BH+20%TU. Materials were tested for flexural properties - **Yield Strength (YS) and Modulus (YM)** (n=6) (wet and dry), **Polymerization kinetics** (n=3) (degree of conversion-DC, and rate of polymerization-Rpmax), **Water Sorption/Solubility (WS/SL)** and **Viscosity. Microtensile bond strength** (n=6) was tested using materials containing 40 vol% ethanol applied to dentin substrate, after 24 h and 6 months of storage in water. The data were submitted to one-way ANOVA and Tukey post-hoc test ( $p>0.05$ ). For the comparison of storage time for the microtensile bond strength test, data were submitted to t test ( $p>0.05$ ). For the **microtensile bond strength test** ( $p=0.13$ ) and **WS/SL** ( $p>0.05$ ), no significant difference was found between groups. For the **YS and YM** ( $p>0.05$ ), the dry evaluation had no significant difference in YS, although for the YM BH+10%MF, BH+10%TF and BH+20%TU+10%MF had the highest values compared to BH, BH+20%TU+10%TF and BH+20%TU and in the wet evaluation, the groups containing TU in the matrix had the lowest values in YS and YM. The **polymerization kinetics** for the groups containing TU in the matrix had the highest DC and no significant difference was found between

groups for the DC at R<sub>pmax</sub>. The R<sub>pmax</sub> was higher for the BH+20%TU+10%MF, followed by BH and BH+10%TF, and the lowest R<sub>pmax</sub> values were found for the BH+10%MF, BH+20%TU+10%TF and BH+20%TU. The groups containing TU in the matrix had the highest values for **viscosity**, being that the BH+20%TU+10%TF that has TU in the matrix and on the functionalized fillers had the highest values with statistical significant difference for the BH+20%TU+10%MF and BH+20%TU. The addition of TU in the matrix improved the physical properties of the experimental adhesives and maintained the bond strength after 6 months of storage in water.

**Key words:** thio-urethane, dental adhesives, micro-tensile, mechanical properties of adhesives

## 1. Introduction

The advent of adhesion in dentistry made it possible to rehabilitate decayed teeth with a chair-side, direct restorative procedure, providing an immediate and minimally invasive solution. However, the longevity of methacrylate-based materials restorations is around only 10 years, with the majority of the restorations failing due to recurrent caries or fracture [1, 2]. The causes for marginal failures are multifactorial, including gap-inducing polymerization stress [3], hybrid layer breakdown via monomer or collagen degradation [4], with the latter two being potentiated by the presence of cariogenic biofilms [5, 6]. Therefore, the ideal adhesive material should be able to resist degradation to preserve mechanical integrity. Several strategies can be envisioned to that end. One logical step would be to produce materials that are less prone to absorbing oral fluids. In fact, several studies have demonstrated that the use of more hydrophobic monomers [7] or dry-bonding techniques [8] does reduce water sorption and improves adhesion for selected techniques. Another strategy is the use of more

hydrolytically-resistant monomers, such as methacrylamides [9] or vinyl-ethers [10], both of which have shown encouraging *in vitro* results. Another logical step is to increase the mechanical properties of the adhesive layer proper, by adding fillers and/or by increasing polymer network crosslinking and toughness. Inorganic fillers were introduced in the composition of adhesives, with studies demonstrating that the addition of up to 10 wt% of fillers to adhesive compositions does not impair spreading of the adhesive on the surface, while providing a two fold increase in bond strength [11]. In terms of increasing the toughness and crosslinking of polymer networks, one approach that has shown very positive results in composites and dental cements is the addition of thiourethane additives [12-15].

Thiourethanes are pre-polymerized oligomers bearing thio-carbamate bonds [16]. Those have been demonstrated to increase impact resistance in thio-isocyanate films [17], and fracture toughness in composites [18]. The final degree of conversion also increases with the addition of those oligomers, due to the extended gelation and vitrification afforded by the pendant thiols [12-14]. Several benefits are expected with increased conversion: decreased cytotoxicity [19], decreased water sorption and solubility [20, 21], increased mechanical properties and increased bond integrity in the long-term [22]. Adhesives with suboptimal polymerization act like permeable membranes, especially in simplified adhesives, which forfeit the application of the solely hydrophobic bond layer [20, 21]. Therefore, it would be beneficial to harness the increased conversion and mechanical properties achieved with the addition of thiourethanes in the adhesive application. However, the addition of high molecular weight species is expected to increase viscosity of the medium [23], which could pose a potential problem to the spreading of the adhesive in the specific dental application. One alternative to circumvent this potential disadvantage is to utilize the oligomer as

an inorganic filler surface treatment, as previously reported [24]. In this conformation, the thiourethane-modified materials still show a two-fold increase in fracture toughness while reducing stress of polymerization, without compromising its viscosity [24, 25].

Adding inorganic fillers in the organic matrix of adhesives improves bond strength and the degree of conversion. These fillers act as shock absorber, increasing the cohesive strength of the adhesive layer [26] and the elastic modulus. The degree of conversion of adhesives has also been shown to improve with the addition of fillers [27]. At least in composites, the functionalization of fillers with thiourethane oligomers led to increased mechanical properties and degree of conversion compared to fillers functionalized with methacrylate silanes [24, 25]. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of incorporation of thio-urethane oligomers and/or inorganic fillers functionalized with thio-urethane in experimental adhesives on the physical and mechanical properties of the material, and on the bond strength to dentin. The hypotheses tested were that the incorporation of thiourethane oligomers as a matrix additive and/or filler surface treatment will: 1. increase conversion and flexural properties; 2. increase the bond strength to dentin.

## **Materials and methods**

### ***Experimental groups***

Bis-GMA (Bis-phenol A diglycidyl dimethacrylate) and HEMA (hydroxyethyl methacrylate) were purchased from ESSTECH Inc (Essington, PA, USA) and mixed at 60/40 mass ratio with a centrifugal mixer (DAC 150 Speed Mixer, Flacktek, Landrum, SC, USA). The photoinitiator 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (lambda max at 310-390 nm) was added at 0.2wt% and the inhibitor 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT) was added at 0.5 wt% (both purchased from Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA). This resin, with no further modifications, was used as the unfilled control. For the filled

control material, 10 wt% barium glass fillers functionalized with methacrylate silane (0.7  $\mu\text{m}$  average particle size, purchased from Specialty Glass Inc, FL, USA) were added to the mixture.

Thiourethane oligomers were synthesized as previously described (Faria-E-Silva AL, et. al., 2018, Fugolin AP, et. al., 2019). Briefly, pentaerythritol tetra-3-mercaptopropionate, dicyclohexylmethane 4,4'-diisocyanate, and 3-(triethoxysilyl)propyl isocyanate were combined at a 2:1:1 mol ratio in the presence of catalytic amounts of trimethylamine. Materials were purified by precipitation in hexanes and rotaevaporation. This oligomer (TU) was added either directly to the resin at 20 wt%, or used to functionalize barium glass fillers (from same size and supplier as the methacrylated filler described above) in acidified ethanol solutions, as previously described (Fugolin et. al., 2019). From this, a total of 6 experimental groups resulted (Scheme 1): Bis-GMA/HEMA (unfilled control); Bis-GMA/HEMA + 10 wt% methacrylated filler (MF); Bis-GMA/HEMA + 10% thiourethane filler (TF); Bis-GMA/HEMA + 20 wt% TU + 10wt% MF; Bis-GMA/HEMA + 20 wt% TU + 10 wt% TF; Bis-GMA/HEMA + 20 wt% TU. For the micro-tensile bond strength tests only, the formulations contained 40 vol% 200 proof ethanol (Sigma Aldrich).

### ***Polymerization Kinetics and degree of conversion***

The polymerization kinetics was evaluated using Near Infrared Spectroscopy (Nicolet 6700, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, US). The unpolymerized adhesives ( $n=3$ ) were inserted in circular silicon rubber mold of 10 mm diameter and 0.7 mm thickness sandwiched between two glass slides and positioned in the IR chamber. The degree of conversion was calculated based on the area of the vinyl overtone at  $6165\text{ cm}^{-1}$  [28]. The tip of the light curing unit was positioned 7 cm from the upper glass slide of the sample and the adhesives were light cured for 300 s with the

mercury arc lamp (EXFO Acticure 4000 UV Cure, Mississauga, Ontario, Canada), filtered to 320-500 nm. The irradiance reaching the top of the glass slide was measured with a thermopile-based power meter (Molelectron inc., Portland, OR, USA) at 650 mW/cm<sup>2</sup>. Kinetics was followed in real-time for 330 s, to obtain the degree of conversion as a function of time. The rate of polymerization was calculated as the first derivative of this curve.

### ***Water Sorption and Solubility***

The same specimens used for the polymerization kinetics experiments were used to evaluate water sorption and solubility (n=3), according to ISO 4049. After 24 h storage in a dark and dry environment, four readings of the thickness and the diameter were obtained for each sample with a digital caliper (Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japan) to determine the volume (V) in mm<sup>3</sup>. The samples were carefully weighted in an analytical balance to obtain m<sub>1</sub>, and subsequently stored in 5 mL of deionized water for 7 days. After this period, the samples were dried with an absorbent paper until no water was seen on the surfaces and were then weighted (m<sub>2</sub>). The samples were stored for 7 days in a desiccator under house vacuum at room temperature and weighted every 24 h until a constant mass (m<sub>3</sub>) was obtained. Water sorption (W<sub>s</sub>) and the solubility (W<sub>sl</sub>) were calculated according to the equations:

$$2. \quad W_s = \frac{m_2 - m_3}{V} \quad W_{sl} = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

### ***Viscosity***

The viscosity of the adhesives was evaluated using a parallel plate rheometer (DHR1, TA Instruments, New Castle, DE, USA). The materials were placed between

acrylic plates of 20 mm diameter and a 0.3 mm gap, then tested in rotational mode with shear rates ranging from 10 to 1000 s<sup>-1</sup>.

### ***Yield Strength and Modulus***

For the Yield Strength and Elastic Modulus analyses, the three-point bending test was performed in a universal testing machine (MTS Criterion, Eden Prairie, MN USA) at 1 mm/min crosshead speed according to ISO 4049. Beam specimens (n=12) were produced using silicon molds of 25 mm x 2.5 mm x 2.5 mm dimensions, sandwiched between two glass slides. Adhesives were cured through the glass slide, for 120 s on each side, using the mercury arc lamp (Acticure 4000) with an irradiance of 650 mW/cm<sup>2</sup> reaching the surface of the glass slide. The light guide tip was positioned at the same distance used in the IR test (7 cm), which avoided over-heating the sample and provided a single spot covering the entire length of the bar. The bars were randomly divided in two subgroups: half of the bars were stored in a dark and dry environment and tested after 48 h and the other half was tested after 7 days immersion in deionized water. The flexural modulus (GPa) was calculated from the initial linear portion of the slope of the stress-strain curve for each specimen tested. The yield strength was calculated through the stress-strain curve by applying a 0.2% strain offset line overlap with slope equal to the modulus.

### ***Microtensile Bond Strength test***

For the microtensile bond strength test, the solvated materials were tested, as mentioned above. Prior to the adhesive procedure, the vial was vortexed for 30 s. Thirty-six sound human third molars were randomly selected and stored in 0.1% Chloramine solution and divided into 6 groups (n=6). The roots were invested in cast to facilitate sectioning and adhesive procedures. The occlusal portions of the teeth were sectioned from mesial to distal perpendicularly to the root to expose the dentin



above the cement-enamel junction using a diamond saw (Buehler, Lake Bluff, IL, USA). After sectioning, all dentin surfaces were polished with 600-grit silicon carbide sandpaper for 30 s and deionized water to simulate the smear layer, and cleaned for 30 s with deionized water. For the adhesive procedure, the dentin surface was conditioned with 35% phosphoric acid (Ultra-Etch, Ultradent, South Jordan, UT, USA) for 10 s and cleaned with deionized water for 30 s. Excess water was blotted dry, leaving the surface moist. The adhesives were actively applied in two coats with a micro brush on the dentin surface for 10 s and air dried for 5 s to evaporate the solvent, and then, light-cured for 60 s with the mercury arc lamp light-curing unit (Acticure 4000) with an irradiance of 650 mW/cm<sup>2</sup> reaching the specimen. Two increments of composite resin (Filtek Supreme Ultra A3 Body, 3M ESPE) of 2 mm height were built up on the dentin surface and light-cured for 40 s with the LED light-curing unit Elipar (3M ESPE, St. Paulo, MN, USA) with an irradiance of 615 mW/cm<sup>2</sup>. The specimens were stored in deionized water for 24 h at 37°C before being sectioned in sticks with 1 mm<sup>2</sup> cross-sectional area. Half of the sticks of each tooth were randomly assigned for storage in deionized water for 24 h or 6 months.

After the assigned storage time, the sticks were tested in a universal testing machine (MTS Criterion, Eden Prairie, MN USA) at 1 mm/min crosshead speed until failure. The fracture pattern of each stick was analyzed in an optical microscope with 40x magnification and classified as: adhesive, cohesive in dentin, cohesive in resin composite and mixed (involving adhesive, dentin and resin composite).

### ***Statistical analyses***

Data were tested for normality (Anderson-Darling) and homocedasticity (Bartlett or Levene tests), and then subjected to one-way ANOVA and Tukey's post hoc test (95% level significance adopted for all tests). Comparisons between storage times

within the same group for microtensile bond strength were performed using t-tests, at 95% significance level.

## Results

### ***Polymerization Kinetics***

Groups containing TU in the matrix showed statistically higher degree of conversion than the other groups ( $p=0.00$ , Table 1). The highest value for maximum rate of polymerization ( $R_{p_{max}}$ ) was found for the material containing TU in the matrix and the methacrylated filler (20% TU + MF), followed by the material containing the thiourethane-functionalized filler alone and the resin control, which were statistically similar. The lowest rates of polymerization were recorded for the remaining groups. Figure 1 shows  $R_{p_{max}}$  polymerization rate *versus* Degree of conversion and Degree of conversion *versus* Time of polymerization.

### ***Water Sorption Solubility***

Data of water sorption solubility are presented in Table 1. No difference in water sorption and solubility was found among groups.

### ***Viscosity***

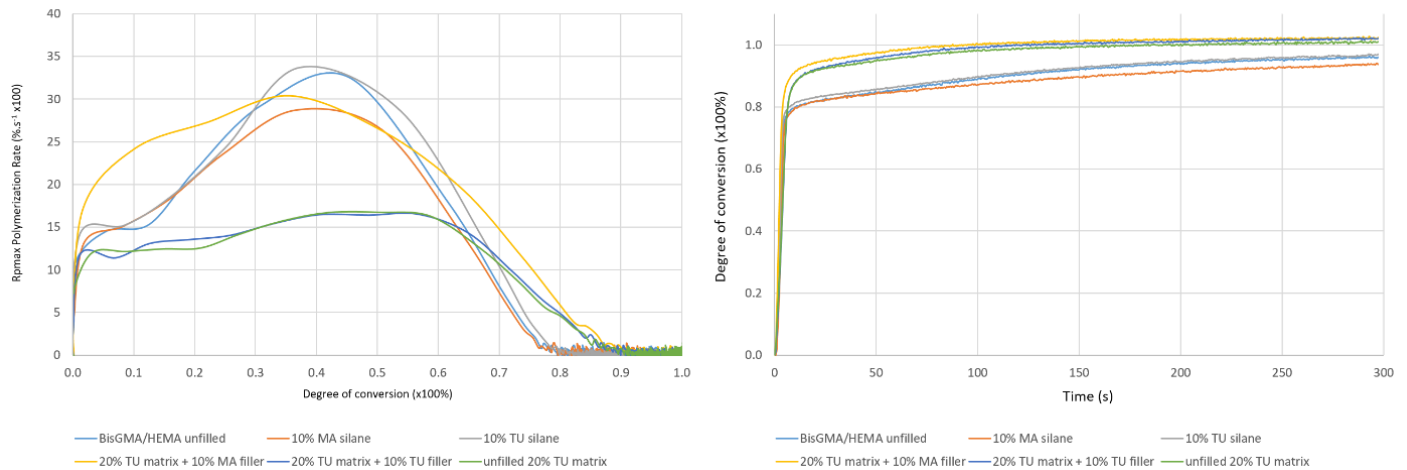
The highest value of viscosity was found on 10%TF associated with 20%TU followed by 20% TU and 20%TU associated with 10% MF. The groups containing TU in the matrix presented higher viscosity when compared to the other groups ( $p=0.000$ ) (Table 1).

**Table 1.** Mean and standard deviation of Viscosity ( $mPa \cdot s^{-1}$ ), Water Sorption and Solubility ( $g/mm^3$ ), Degree of conversion (%) and  $R_{p_{max}}$  ( $s^{-1}$ ) for all the materials tested: BisGMA-HEMA control (BH), BH + 10% methacrylated filler (MF), BH + 10% thiourethane-functionalized filler (TF), BH + 20% TU (added to the matrix)+ 10% MF,

and BH + 20% TU(added to the matrix)+ 10% TF, BH + 20%TU(added to the matrix). Values followed by the same superscript within the same test are statistically similar ( $\alpha = 5\%$ ).

Groups	Degree of conversion (%)	Rpmax (%.s-1)	Water Sorption (g/mm <sup>3</sup> )	Water Solubility (g/mm <sup>3</sup> )	Viscosity (mPa s-1)
<b>BisGMA-HEMA control</b>	93.3(0.1) B	32.49 (0.5) AB	0.09(0.01) A	0.004(0.005) A	0.14(0.02) C
<b>BisGMA-HEMA +10% MF</b>	93.8(0.2) B	30.69 (1.27) AB	0.06(0.01) A	-0.028(0.002) A	0.15(0.01) C
<b>BisGMA-HEMA +10% TF</b>	92.7(0.4) B	33.73 (1.7) A	0.09(0.04) A	0.004(0.031) A	0.16(0.02) C
<b>BisGMA-HEMA +20% TU +10% MF</b>	96.6(0.6) A	30.39 (1.2) B	0.09(0.01) A	0.018(0.01) A	0.45(0.01) B
<b>BisGMA-HEMA +20% TU +10% TF</b>	97.4(1.4) A	16.47 (0.6) C	0.06(0.02) A	-0.017(0.016) A	0.74(0.01) A
<b>BisGMA-HEMA +20% TU</b>	97.2(0.1) A	17.26 (0.5) C	0.08(0.04) A	0.006(0.041) A	0.47(0.06) B

P value for each methodology: Degree of Conversion – p=0.00; Rp<sub>max</sub> – p=0.00; Viscosity – p=0.00; Water Sorption – p>0.05; Water Solubility – p=0.20.



**Figure 1.** Rate of polymerization as a function of degree of conversion (left) and degree of conversion as a function of time (right) for all the materials tested: BisGMA-HEMA control (BH), BH + 10% methacrylated filler (MF), BH + 10% thiourethane-functionalized filler (TF), BH + 20% thiourethane added to the matrix (TU), BH + 20% TU+ 10% MF, and BH + 20% TU+ 10% TF.

### ***Yield Strength and Modulus***

Yield strength and flexural modulus results are shown in Table 2. No statistical difference was found among the results after 48h dry storage. After 7 days storage in water, the yield strength and flexural modulus of all groups containing TU in the matrix presented statistically lower results compared to the remainder of the groups.

### ***Microtensile bond strength test and fracture pattern***

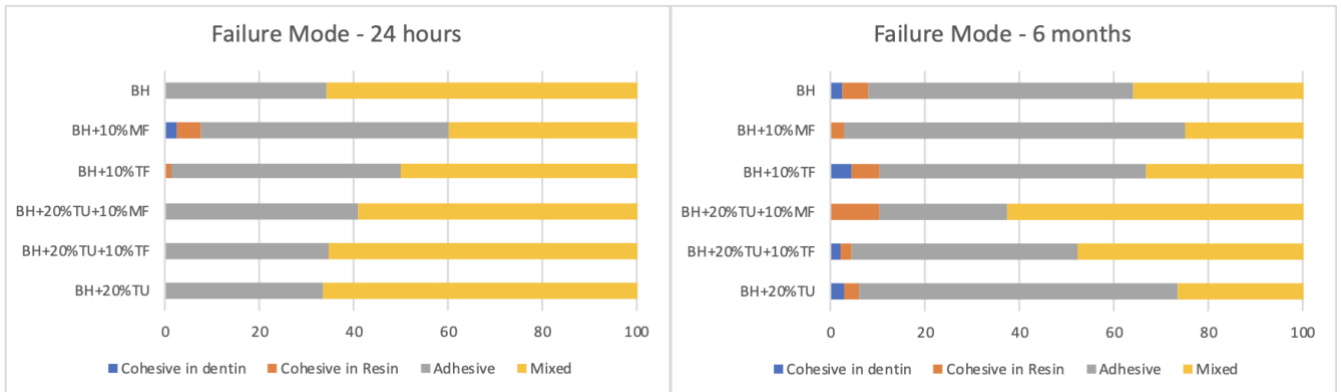
The results of microtensile bond strength are presented in Table 2. No significant difference was found among groups after 24 h or 6 months storage ( $p=0.133$  and  $p=0.106$ , respectively). No significant reduction in bond strength was found after 6 months of storage between groups ( $p>0.05$ ). The percentage of Failure Modes are presented in Figure 2. For the 24 h evaluation, there was a predominance of mixed failures, except for the group BH+10%MF, which presented a higher percentage of

adhesive failures. The failure mode for the groups after 6 months storage was predominantly adhesive, except for the group BH+20%TU+10%MF, which presented a higher percentage of mixed failures.

**Table 2.** Mean and standard deviations of Microtensile Bond Strength (MPa) at 24h and 6 months, Yield Strength and Flexural Modulus (GPa) (wet and dry evaluations) for all the materials tested: BisGMA-HEMA control (BH), BH + 10% methacrylated filler (MF), BH + 10% thiourethane-functionalized filler (TF), BH + 20% thiourethane added to the matrix (TU), BH + 20% TU+ 10% MF, and BH + 20% TU+ 10% TF. Values followed by the same upper case letter within the same column or by the same lower case letter within the same line are statistically similar ( $\alpha = 5\%$ ).

Groups	Yield	Flexural	Yield	Flexural	Microtensile Bond Strength	
	Strength	Modulus	Strength	Modulus	(MPa)	
	(MPa)	(GPa)	(MPa)	(GPa)	24 hours	6 months
	Dry	Dry	Wet	Wet		
<b>BisGMA-HEMA control</b>	87.2 (4.0) A	3.1 (0.2) A	60.4 (6.3) A	2.3 (0.2) A	24.8 (5.7) Aa	22.5 (5.3) Aa
<b>BisGMA-HEMA + 10%MF</b>	107.8 (15.1) A	3.9 (0.3) A	61.3 (5.7) A	2.6 (0.4) A	30.6 (4.7) Aa	25.0 (4.1) Aa
<b>BisGMA-HEMA + 10%TF</b>	101.9 (18.5) A	3.9 (0.9) A	70.3 (8.6) A	2.3 (0.2) A	26.3 (2.3) Aa	28.2 (2.6) Aa
<b>BisGMA-HEMA + 20% TU 10%MF</b>	110.1 (14.3) A	3.4 (0.7) A	42.9 (11.1) B	1.4 (0.7) B	23.1 (6.0) Aa	27.7 (5.3) Aa
<b>BisGMA-HEMA + 20% TU 10%TF</b>	88.5 (7.6) A	3.0 (0.3) A	41.6 (5.1) B	1.4 (0.2) B	25.4 (3.7) Aa	26.2 (4.7) Aa
<b>BisGMA-HEMA + 20% TU</b>	92.4 (11.5) A	3.0 (0.3) A	39.6 (5.8) B	1.6 (0.7) B	24.1 (5.1) Aa	22.0 (4.6) Aa

P value for each methodology: YS dry –  $p > 0.05$ ; YS wet –  $p = 0.00$ ; E dry –  $p = 0.01$ ; E wet –  $p = 0.00$ ; MTBS (24h) –  $p = 0.01$ ; MTBS (6 months) –  $p = 0.01$ ; MTBS (comparison 24h and 6 months – test t) –  $p > 0.05$ .



**Figure 2.** Failure modes after the microtensile bond strength test for all the materials tested: BisGMA-HEMA control (BH), BH + 10% methacrylated filler (MF), BH + 10% thiourethane-functionalized filler (TF), BH + 20% thiourethane added to the matrix (TU), BH + 20% TU+ 10% MF, and BH + 20% TU+ 10% TF. Failures were classified as cohesive in dentin, cohesive in resin, adhesive and mixed.

## Discussion

The incorporation of TU in the matrix and/or the functionalization of the surface of fillers improves the final degree of conversion, reduces polymerization stress and leads to higher fracture toughness in resin composites [12, 25]. These are desired properties for dental adhesives, since higher degree of conversion and improved mechanical properties [29] can lead to a greater longevity of the restoration. The addition of thiourethanes to adhesives in this study aimed at harnessing those two advantages. The incorporation of the thiourethane as a matrix additive and/or filler surface functionalization aimed at circumventing issues related to increased viscosity, such as expected with the incorporation of high-profile additives [30]. Increased viscosity may jeopardize bond strength due to poor spreading and penetration of the adhesive in the dentin tubules to form the hybrid layer [26]. Finally, the addition of small amounts of fillers has been shown to improve the performance of adhesives without jeopardizing handling [11], so the rationale for incorporation of fillers functionalized with thiourethanes was to combine both toughening mechanisms. The degree of

conversion and the viscosity of the experimental adhesives containing TU in the matrix and/or on the functionalization of fillers of the present study showed higher values, with no loss in bond strength in 24 h and after 6 months of water storage. The mechanical properties did not improve. With that, the first and second hypotheses were partially accepted.

The final degree of conversion increased for all compositions where the thiourethane was added directly to the matrix, as previously reported [12, 14]. As widely explored in the literature, this is due to chain transfer reactions of thiols in the thiourethane oligomers to the methacrylate, which delay the gelation and vitrification leading to higher final conversion [31]. Increased conversion is a desired property for dental adhesives, especially in simplified compositions which combine more hydrophobic monomers with the hydrophilic HEMA. That combination improves the penetration of monomers in a complex and moist substrate, such as dentin [29], but that is not without problems. The presence of water can still impair polymerization due to phase separation, potentiating the permeable membrane character of such adhesives [32]. Therefore, the higher results of degree of conversion for the groups containing TU in the matrix is very encouraging. One potential problem when adding TU in polymers is the expected lower rate of polymerization, also a product of the delay in gelation and vitrification [31]. This was not observed in the present study, and in fact, the group containing thiourethane as a matrix additive and metacrylate silane fillers showed the highest  $R_{p_{max}}$ . The group containing thiourethanes as a filler surface functionalization only showed lower conversion than when the additive was added directly to the matrix, which is very likely due to the small amount of filler used. That led to a very low overall thiourethane concentration on the material, much lower than

previously reported for composites [25]. Therefore, unlike the composite study, the addition of thiourethane-functionalized fillers did not affect conversion.

It is important to note that, overall, the degree of conversion values observed in this study were beyond 90%, higher than reported in the literature [20-22]. This can be attributed to at least two factors: first, 2,2-dimethoxyphenoxy acetophenone (DMPA) was used as the photoinitiator. DMPA has been shown to promote fast reaction and higher degree of conversion in methacrylate based composites even when used at low concentrations [33]. This initiator was chosen here for simplicity and to avoid stability concerns over the use of a base as part of a co-initiator system, such as camphorquinone/tertiary amines. The presence of the amine in the adhesive mixture containing thiol products could potentially lead to polymerization in the vial [34]. This is a shortcoming that will be addressed in future studies incorporating commercially-relevant initiator systems. The second factor is the long time of polymerization used here - 300 s. Prolonged light exposure has been shown to lead to higher values of final DC in commercial adhesives [21]. It is interesting to look at the conversion data at the typical 20 s of light-curing (Figure 1): around 20% higher conversion values were found in all groups containing TU in the matrix, adding further evidence to the benefits of delaying network formation to increasing final conversion in those materials.

Another factor that can potentially affect the longevity of the bonded interface is the bulk strength of the adhesive [35]. The thiourethane used in this study is derived from a tetra functional thiol molecule, which was expected to enhance crosslinking, and in turn, producing higher mechanical properties. This hypothesis can be potentially beneficial in this case, since the presence of the monofunctional HEMA forms a linear polymer, and therefore, the use of a multi-functional molecule was expected to improve crosslinking and properties. However, the use of thiourethane as a matrix additive in



adhesives not containing fillers did not statistically improve properties in comparison to the unfilled control adhesive after 48h dry storage. The same was true when the matrix additive was combined with the thiourethane-functionalized filler. The potential improvement in crosslinking density with the use of multi-functional thiols (not measured here) was likely overshadowed by the shortening of the chain lengths [36], especially in co-polymerizations with monofunctional monomer such as HEMA. In addition, the use of large molecular weight species (5 kDa – [13]) likely interfered with polymer packing, which has been shown to be deleterious to the properties of linear polymers [36]. The only true improvement of the dry properties was observed with the addition of fillers only (regardless of the functionalization), as previously demonstrated [24] and with the addition of methacrylate fillers with the thiourethane as a matrix additive. The properties consistently dropped for all materials after one-week storage in water, but more dramatically for the materials containing thiourethane as a matrix additive. Polymers containing HEMA and urethane bonds are susceptible to hydrolysis and plasticization [29] weakening the polymer structure, and explaining the lower values of the Yield Strength and Modulus for those groups. This was true even though the water sorption and solubility results were not affected by the addition of the thiourethanes, likely because the presence of HEMA already makes the materials significantly hydrophilic. The solubility was likely not affected because of the high molecular weight of the additive. The threshold of 500 Da has been established for leachates in dental polymers [37], which means the thiourethane at 5kDa stays trapped in the polymer. It is noteworthy that the yield strength was used in this study rather than the flexural strength values due to the large amount of plastic deformation observed with some groups.

The viscosity of the materials containing thiourethane as a matrix additive was higher than the remainder groups. The highest viscosity was observed for the group combining the thiourethane as a matrix additive and filler surface functionalization, which tracks with the highest percentage of thiourethane in the composition. However, the fully formulated adhesive used in the microtensile bond strength study was mixed with solvent, which eliminated the viscosity differences, and allowed the adhesive penetration in the dentin [29]. Ultimately, the difference in viscosity of the neat resin did not influence the bond strength. All groups presented statistically similar bond strength results at 24 h and 6 months storage, and all materials produced stable bonds during this period. This was not expected based on the 30-50% reduction in bond strength values found for BisGMA-HEMA compositions [38]. Again, in this study, this may be explained by the high conversion values achieved by the combination of the very efficient photoinitiator, the prolonged exposure time (60s) and the potential for collagen substrate reinforcement by exposure to UV wavelengths in the mercury arc lamp used [39]. Be as it may, the fact that the thiourethane-containing adhesive presented higher conversion at 20 s, and produced bond strength stability similar to the control, warrant further investigation.

## **Conclusion**

The incorporation of thio-urethane in the matrix improved the degree of conversion of experimental adhesives. Bond strength values stayed stable for all groups after 6 months of water storage. The incorporation of thio-urethane oligomers in the matrix and on the functionalization of fillers in experimental adhesives, did not improve the flexural properties.

## Acknowledgements

The authors acknowledge funding from NIH-NIDCR (to CSP: U01-DE023756; K02-DE025280; R01-DE026113) and CAPES (Coordenação para o aperfeiçoamento de pessoal de nível superior, grant 0878/2018 to JPR).

## References

- [1] Demarco F.F., Collares K., Correa M.B., Cenci M.S., de Moraes R.R., Opdam N.J., Should my composite restorations last forever? Why are they failing?, *Brazilian Oral Research*, 31 (2017) 92-9.
- [2] Demarco F.F., Corrêa M.B., Cenci M.S., Moraes R.R., Opdam N.J.M., Longevity of posterior composite restorations: Not only a matter of materials, *Dental Materials*, 28 (2012) 87-101.
- [3] Ferracane J.L., Buonocore memorial lecture: Placing dental composites - A stressful experience, *Operative Dentistry*, 33 (2008) 247-57.
- [4] Breschi L., Mazzoni A., Ruggeri A., Cadenaro M., Di Lenarda R., De Stefano Dorigo E., Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface, *Dent Mater*, 24 (2008) 90-101.
- [5] Huang B., Sadeghinejad L., Adebayo O.I.A., Ma D., Xiao Y., Siqueira W.L., et al., Gene expression and protein synthesis of esterase from *Streptococcus mutans* are affected by biodegradation by-product from methacrylate resin composites and adhesives, *Acta Biomater*, 81 (2018) 158-68.
- [6] Jaffer F., Finer Y., Santerre J.P., Interactions between resin monomers and commercial composite resins with human saliva derived esterases, *Biomaterials*, 23 (2002) 1707-19.
- [7] Fróes-Salgado N.R.d.G., Gajewski V., Ornaghi B.P., Pfeifer C.S.C., Meier M.M., Xavier T.A., et al., Influence of the base and diluent monomer on network

characteristics and mechanical properties of neat resin and composite materials, *Odontology*, 103 (2015) 160-8.

[8] Sadek F.T., Pashley D.H., Nishitani Y., Carrilho M.R., Donnelly A., Ferrari M., et al., Application of hydrophobic resin adhesives to acid-etched dentin with an alternative wet bonding technique, *J Biomed Mater Res A*, 84 (2008) 19-29.

[9] Rodrigues S.B., Petzhold C.L., Gamba D., Leitune V.C.B., Collares F.M., Acrylamides and methacrylamides as alternative monomers for dental adhesives, *Dent Mater*, 34 (2018) 1634-44.

[10] Gonzalez-Bonet A., Kaufman G., Yang Y., Wong C., Jackson A., Huyang G., et al., Preparation of Dental Resins Resistant to Enzymatic and Hydrolytic Degradation in Oral Environments, *Biomacromolecules*, 16 (2015) 3381-8.

[11] Miyazaki M., Ando S., Hinoura K., Onose H., Moore B.K., Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin, *Dent Mater*, 11 (1995) 234-8.

[12] Bacchi A., Consani R.L., Martim G.C., Pfeifer C.S., Thio-urethane oligomers improve the properties of light-cured resin cements, *Dent Mater*, 31 (2015) 565-74.

[13] Bacchi A., Dobson A., Ferracane J.L., Consani R., Pfeifer C.S., Thio-urethanes improve properties of dual-cured composite cements, *J Dent Res*, 93 (2014) 1320-5.

[14] Bacchi A., Pfeifer C.S., Rheological and mechanical properties and interfacial stress development of composite cements modified with thio-urethane oligomers, *Dent Mater*, 32 (2016) 978-86.

[15] Faria-E-Silva A.L., Pfeifer C.S., Delayed photo-activation and addition of thio-urethane: Impact on polymerization kinetics and stress of dual-cured resin cements, *Journal of dentistry*, 65 (2017) 101-9.

- [16] Senyurt A.F., Hoyle C.E., Wei H., Piland S.G., Gould T.E., Thermal and mechanical properties of cross-linked photopolymers based on multifunctional thiol-urethane ene monomers, *Macromolecules*, 40 (2007) 3174-82.
- [17] Li Q., Zhou H., Wicks D.A., Hoyle C.E., Thiourethane-based thiol-ene high Tg networks: Preparation, thermal, mechanical, and physical properties, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 45 (2007) 5103-11.
- [18] Bacchi A., Yih J.A., Platta J., Knight J., Pfeifer C.S., Shrinkage / stress reduction and mechanical properties improvement in restorative composites formulated with thio-urethane oligomers, *J Mech Behav Biomed Mater*, 78 (2018) 235-40.
- [19] Barbosa M.O., de Carvalho R.V., Demarco F.F., Ogliari F.A., Zanchi C.H., Piva E., et al., Experimental self-etching HEMA-free adhesive systems: cytotoxicity and degree of conversion, *J Mater Sci Mater Med*, 26 (2015) 5370-.
- [20] Breschi L., Cadenaro M., Antonioli F., Sauro S., Biasotto M., Prati C., et al., Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: correlation between extent of conversion and permeability, *Dent Mater*, 23 (2007) 1066-72.
- [21] Cadenaro M., Antonioli F., Sauro S., Tay F.R., Di Lenarda R., Prati C., et al., Degree of conversion and permeability of dental adhesives, *Eur J Oral Sci*, 113 (2005) 525-30.
- [22] Faria-e-Silva A.L., Lima A.F., Moraes R.R., Piva E., Martins L.R., Degree of conversion of etch-and-rinse and self-etch adhesives light-cured using QTH or LED, *Operative dentistry*, 35 (2010) 649-54.
- [23] Odian G., *Principles of Polymerization*, 4th ed., Wiley, United States, 2004.
- [24] Faria-E-Silva A.L., Dos Santos A., Tang A., Giroto E.M., Pfeifer C.S., Effect of thiourethane filler surface functionalization on stress, conversion and mechanical properties of restorative dental composites, *Dent Mater*, 34 (2018) 1351-8.

- [25] Fugolin A.P., Sundfeld D., Ferracane J.L., Pfeifer C.S., Toughening of Dental Composites with Thiourethane-Modified Filler Interfaces, *Sci Rep*, 9 (2019) 2286-.
- [26] Azad E., Atai M., Zandi M., Shokrollahi P., Solhi L., Structure-properties relationships in dental adhesives: Effect of initiator, matrix monomer structure, and nano-filler incorporation, *Dent Mater*, 34 (2018) 1263-70.
- [27] Martins G.C., Meier M.M., Loguercio A.D., Reis A., Gomes J.C., Gomes O.M., Effects of adding barium-borosilicate glass to a simplified etch-and-rinse adhesive on radiopacity and selected properties, *J Adhes Dent*, 16 (2014) 107-14.
- [28] Stansbury J.W., Dickens S.H., Determination of double bond conversion in dental resins by near infrared spectroscopy, *Dent Mater*, 17 (2001) 71-9.
- [29] Cadenaro M., Maravic T., Comba A., Mazzoni A., Fanfoni L., Hilton T., et al., The role of polymerization in adhesive dentistry, *Dent Mater*, 35 (2019) e1-e22.
- [30] Helminen A., Kylmä J., Tuominen J., Seppälä J.V., Effect of structure modification on rheological properties of biodegradable poly(ester-urethane), *Polymer Engineering and Science*, 40 (2000) 1655-62.
- [31] Berchtold K.A., Lovestead T.M., Bowman C.N., Coupling chain length dependent and reaction diffusion controlled termination in the free radical polymerization of multivinyl (meth)acrylates, *Macromolecules*, 35 (2002) 7968-75.
- [32] Spencer P., Wang Y., Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions, *J Biomed Mater Res*, 62 (2002) 447-56.
- [33] Mucci V., Vallo C., Efficiency of 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone for the photopolymerization of methacrylate monomers in thick sections, *Journal of Applied Polymer Science*, 123 (2012) 418-25.
- [34] Lowe A.B., Thiol-ene "click" reactions and recent applications in polymer and materials synthesis: A first update, *Polymer Chemistry*, 5 (2014) 4820-70.

- [35] Takahashi A., Sato Y., Uno S., Pereira P.N.R., Sano H., Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin, *Dent Mater*, 18 (2002) 263-8.
- [36] Consani R.L.X., de Paula A.B., Fugolin A.P.P., Pfeifer C.S., Effect of the combination of a crosslinking agent and a thiourethane additive on the properties of acrylic denture bases processed with microwave energy, *J Mech Behav Biomed Mater*, 98 (2019) 90-5.
- [37] Collares F.M., Ogliari F.A., Zanchi C.H., Petzhold C.L., Piva E., Samuel S.M.W., Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin, *J Adhes Dent*, 13 (2011) 125-9.
- [38] Fugolin A.P., Dobson A., Mbiya W., Navarro O., Ferracane J.L., Pfeifer C.S., Use of (meth)acrylamides as alternative monomers in dental adhesive systems, *Dent Mater*, 35 (2019) 686-96.
- [39] Yang G., Li S., Li B., Cheng L., Jiang P., Tian Z., et al., Protective Effects of Garlic-Derived S-Allylmercaptocysteine on IL-1 $\beta$ -Stimulated Chondrocytes by Regulation of MMPs/TIMP-1 Ratio and Type II Collagen Expression via Suppression of NF- $\kappa$ B Pathway, *Biomed Res Int*, 2017 (2017) 8686207-.

### 3. CONCLUSÃO

A incorporação de oligômeros de tiouretano na matriz de adesivos experimentais, aumentou o grau de conversão final. A resistência de união à dentina se manteve estável após 6 meses de armazenagem em água, para todos os grupos experimentais. Com isto, conclui-se que a incorporação de oligômeros de tiouretano na matriz de adesivos experimentais é uma estratégia promissora.



## REFERÊNCIAS

- Azad E, Atai M, Zandi M, Shokrollahi P, Solhi L. Structure–properties relationships in dental adhesives: Effect of initiator, matrix monomer structure, and nano-filler incorporation. *Dental Materials* 3-4(2018)1263–1270.
- Bacchi A., Dobson A., Ferracane J.L., Consani R., and Pfeifer C.S. Thio-urethanes Improve properties of Dual-cured composite cements. *J Dent Res* 93(12):1320-1325, 2014.
- Bacchi A, Consani RL, Martim GC, Pfeifer CS. Thio-urethane oligomers improve the properties of light-cured resin cements. *Dent Mater* 31 (2015) 565–574.
- Bacchi A and Pfeifer CS. Rheological and mechanical properties and interfacial stress development of composite cements modified with thio-urethane oligomers. *Dent Mater* 32 (2016) 978–986.
- Bacchi A, Yih JA, Platta J, Knight J, Pfeifer CS. Shrinkage / stress reduction and mechanical properties improvement in restorative composites formulated with thio-urethane oligomers. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018 Feb;78:235-240. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.11.011
- Beigi S, Yeganeh H, Atai M. Evaluation of fracture toughness and mechanical properties of ternary thiol-ene-methacrylate systems as resin matrix for dental restorative composites. *Dent Mater* 2013; 29(7):777-787.
- Belli R, Kreppel S, Petschelt A, Hornberger H, Boccaccini AR, Lohbauer U. Strengthening of dental adhesives via particle reinforcement. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014 Sep;37:100-8. doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.05.007.
- Cho N.Y., Ferracane J.L., and Lee I.B.. Acoustic Emission Analysis of tooth-composite Interfacial Debonding. *J Dent Res* 92(1):76-81, 2013
- Demarco, F. F., Corrêa, M. B., Cenci, M. S., Moraes, R. R. & Opdam, N. J. M. Longevity of posterior composite restorations: Not only a matter of materials. *Dental Materials* **28**, 87–101, <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.09.003> (2012).

Demarco, F. F. *et al.* Should my composite restorations last forever? Why are they failing? *Brazilian Oral Research* **31**, 92–99, <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0056> (2017).

Ferracane, J. L. Buonocore Lecture. Placing dental composites—a stressful experience. *Oper Dent* **33**, 247–257, <https://doi.org/10.2341/07-BL2> (2008).

Froes-Salgado NRG, Gajewski V, Ornaghi BP, Pfeifer CSC, Meier MM, Xavier TA, Braga RR. Influence of the base and diluent monomer on network characteristics and mechanical properties of neat resin and composite materials. *Odontology* (2015) 103:160–168

Gonzalez-Bonet A, Kaufman G, Yang Y, Wong C, Jackson A, Huyang G, Rafael Bowen, and Jirun Sun. Preparation of Dental Resins Resistant to Enzymatic and Hydrolytic Degradation in Oral Environments. *Biomacromolecules*. 2015 October 12; 16(10): 3381–3388. doi:10.1021/acs.biomac.5b01069.

Boulden JE, Cramer NB, Schreck KM, Couch CL, Bracho-Troconis C, Stansbury JW, Bowman CN. Thiol-ene-methacrylate composites as dental restorative materials. *Dent Mater* 2011; 27(3):267-272.

Breschi L, Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Biasotto M, Prati C, Tay FR, Di Lenarda R. Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: Correlation between extent of conversion and permeability. *Dent Mater* 2007; 23(10): 1066–1072.

Breschi L, A. Mazzoni, A. Ruggeri, M. Cadenaro, R. Di Lenarda, E. De Stefano Dorigo. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008; 24: 90-10

Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, Biasotto M, Contardo L, Breschi L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 525–530. *Eur J Oral Sci*, 2005.

Cramer NB, Couch CL, Schreck KM, Carioscia JA, Boulden JE, Stansbury JW, Bowman CN. Investigation of thiol-ene and thiol-ene-methacrylate based resins as dental restorative materials. *Dent Mater* 2010a; 26(1):21-28.

Cramer NB, Couch CL, Schreck KM, Boulden JE, Wydra R, Stansbury JW, Bowman CN. Properties of methacrylate-thiol-ene formulations as dental restorative materials. *Dent Mater* 2010b; 26(8):799-806.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb; 84 (2):118-32

Faria-E-Silva AL, Pfeifer CS. Delayed photo-activation and addition of thio-urethane: Impact on polymerization kinetics and stress of dual-cured resin cements. *J Dent*. 2017 65:101-109. doi: 10.1016/j.jdent.2017.07.014.

Ferracane JL, Hilton TJ. Polymerization stress – is it clinically meaningful? *Dent Mater* 2016; 32:1-10.

Fugolin AP, Sundfeld D, Ferracane JL, Pfeifer CS. Toughening of Dental Composites with Thiourethane-Modified Filler Interfaces. *Scientific Reports* (2019) 9:2286 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39003-w>

Huang B, Sadeghinejad L, Adebayo OIA, Ma D, Xiao Y, Siqueira WL, Cvitkovitch DG, Finer Y. Gene expression and protein synthesis of esterase from *Streptococcus mutans* are affected by biodegradation by-product from methacrylate resin composites and adhesives. *Acta Biomaterialia* 81 (2018) 158–168

Jaffer F, Finer Y, Santerre JP. Interactions between resin monomers and commercial composite resins with human saliva derived esterases. *Biomaterials* 23 (2002) 1707–171

Kim JS, Cho BH, Lee IB, Um CM, Lim BS, Oh MH, Chang CG, Son HH. Effect of the Hydrophilic Nanofiller Loading on the Mechanical Properties and the Microtensile Bond Strength of an Ethanol- Based One-Bottle Dentin Adhesive. *J. Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 Feb 15;72(2):284-91

Li Q, Wicks DA, Hoyle CE. Thiouretane-Based Thiol-Ene High T<sub>g</sub> Networks: Preparation, Thermal, Mechanical, and Physical Properties. *J Polymer Sci Part A: Polymer chemistry* 2007; 45(22): 5103-5111.

Lu H, Carioscia JA, Stansbury JW, Bowman N (2005). Investigatios of step-growth thiol-ene polymerizations for novel dental restoratives. *Dent Mater* 21:1129-1136.

Miyazaki M, Ando S, Hinoura K, Onose H, Moore BK. Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater* 11:234-238, July, 1995

Odian G. Radical chain polymerization principles of polymerization. John Wiley & Sons Inc.; 2004. p. 198–349.

Pfeifer CS, Ferracane JL, Sakaguchi RL, Braga RR (2008). Factors affecting photopolymerization stress in dental composites. *J Dent Res* 87:1043- 1047.

Pfeifer CS, Wilson ND, Shelton ZR, Stansbury JW. Delayed Gelation Through Chain-Transfer Reactions: Mechanism For Stress Reduction In Methacrylate Networks. *Polymer (Guildf)*. 2011 July 7; 52(15): 3295–3303. doi:10.1016/j.polymer.2011.05.034.

Rodrigues SB, Petzhold CL, Gamba D, Leitune VCB, Collares FM. Acrylamides and methacrylamides as alternative monomers for dental adhesives. *Dental Materials* 3-4 (2018) 1634–1644

Sadek FT, Pashley DH, Nishitani Y, Carrilho MR, Donnelly A, Ferrari M, Tay FR. Application of hydrophobic resin adhesives to acid-etched dentin with an alternative wet bonding technique. *J biomed Mater Res A*. 2008 Jan;84(1):19-29.

Senyurt AF, Hoyle CE, Wei H, Piland SG, Gould TE. Thermal and Mechanical Properties of Cross-Linked Photopolymers Based on Multifunctional Thiol-Urethane Ene Monomers. *Macromolecules* 2007, 40, 3174-3182

Tjäderhane I. Dentin bonding: can we make it last?. *Oper Dent*, 40 (2015), pp. 4-18, 10.2341/14-095-BL

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 28 (2007) 3757–3785.

## **APÊNDICE 1- Materiais e Métodos**

### ***Sintetização do tiouretano***

Os oligômeros de tio-uretano PETMP-DESMODUR e PETMP-BDI foram sintetizados em soluções de trietilamina. O tiol tetrafuncional PETMP (3-tetramercaptopropionato; cíclico) foi combinado com o isocianato cíclico dicroheclmetano 4,4'- diisocianato (DESMODUR) ou com o isocianato aromático 1,3-bis(1-isocianato-1-metiletil) benzeno (BDI) em solução de diclorometano. A proporção tiol:isocianato do PETMP-DESMODUR foi de 1:2 e o do PETMP-BDI de 1:2,5 (com tiol em excesso), de forma a manter tióis pendentes. Os oligômeros de tiouretano foram purificados por precipitação de hexano e por rotaevaporação. O desaparecimento do pico de isocianato de 2270  $\text{cm}^{-1}$  na Espectroscopia no infravermelho transformada por Fourier (FTIR) e o aparecimento do sinal de ressonância 3,70 ppm na Ressonância magnética nuclear por prótons (H-NMR) mostra a completa reação dos isocianatos e a caracterização da formação das ligações dos tiouretanos.

As partículas de carga inorgânica de vidro de bário (tamanho médio de 1  $\mu\text{m}$ , Specialty Glass Inc, FL, EUA) foram funcionalizadas com metacrilato ou tiouretano (PETMP-BDI). Para a funcionalização das cargas inorgânicas com tiouretano, foi adicionado 1 mol de 3-(trietoxisil) propil-isocianato durante o processo de sintetização do tiouretano PETMP-BDI para a formação do produto trimetoxi silano para o passo de silanização das cargas. Uma solução de 65 ml de etanol/água destilada (80/20%vol) foi adicionado ao oligômero PETMP-BDI, no qual foi previamente acidificado com ácido acético (pH = 4,5). O oligômero foi adicionado em 2% em peso à 5 gramas de carga de vidro de bário e deixado misturar por 24 horas, filtrado e secos por 4 dias em estufa à 37°C. Para verificar se houve a funcionalização das cargas, as partículas de carga inorgânica foram avaliadas por Análise Termogravimétrica, à uma temperatura que variou de 50 °C a 850 °C, com um aumento gradativo de 10°C/min.

### ***Grupos experimentais***

A matriz orgânica (BH) de adesivos experimentais foi manipulada na proporção 60/40% de Bis-GMA (bisfenol A diglicidil dimetacrilato - Esstech, Essington, PA, EUA) e HEMA (2-hidroxietil metacrilato - Esstech, Essington, PA, EUA) e misturados em uma máquina de centrifugação (DAC 150 Speed Mixer, Flacktek, Landrum, SC, EUA) por 2 min a uma velocidade de 1800 rpm. O fotoiniciador dimetoxiacetofenona (comprimento de onda de 310-390 nm, DMPA, Aldrich) foi adicionado em 0,2% em peso e o inibidor hidroxitolueno butilado (BHT, Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) em 0,5% em peso. Para os grupos experimentais contendo TU na matriz, o oligômero de TU foi adicionado em 20% em peso à matriz de Bis-GMA/HEMA. Os grupos que contém carga inorgânica, funcionalizadas com TU (TF) ou com metacrilato (TM), foram adicionadas em 10% em peso à matriz orgânica. Os grupos experimentais foram: Bis-GMA+HEMA; Bis-GMA+HEMA+10%TM; Bis-GMA+HEMA+10%TF; Bis-GMA+HEMA=20%TU+10%TM; Bis-GMA+HEMA=20%TU+10%TF; Bis-GMA+HEMA=20%TU.

### ***Cinética de polimerização e Grau de conversão***

A cinética de polimerização dos adesivos experimentais foi avaliada durante a polimerização de 330 s em FT-NIR (Espectroscopia no infravermelho próximo transformada por Fourier) (Nicolet 6700, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, EUA) de forma a se obter o grau de conversão final e a cinética de polimerização em tempo real. Os grupos não polimerizados (n=3) foram inseridos em matrizes de silicone nas dimensões de 10 mm de diâmetro e 0,7 mm de espessura, entre duas lâminas de vidro, fixadas em suas extremidades de forma a se padronizar as amostras e foram levadas ao FT-NIR. O grau de conversão foi calculado com base na área do pico da conversão de ligações duplas do metacrilato em 6165  $\text{cm}^{-1}$ . A ponta do aparelho fotopolimerizador foi posicionada a uma distância de 7 cm da amostra e os adesivos foram polimerizados durante 300 s com um aparelho fotopolimerizador de lâmpada de arco de mercúrio (Acticure 4000, Electro-Optical Inc., Montreal Canada) com uma irradiância de 650  $\text{mW}/\text{cm}^2$ . A ponta do aparelho fotopolimerizador foi padronizada a uma distância de 7 cm superaquecer as amostras e para poder utilizar a mesma distância para diferentes metodologias.

### ***Sorção e solubilidade***

As amostras analisadas no teste sorção e solubilidade foram as amostras usadas para o teste de cinética de polimerização, confeccionadas como descritas acima (n=3). Após o teste de cinética de polimerização, as amostras foram guardadas em um ambiente seco e livre de luz. Após 24 horas, quatro medidas da espessura (0,7 mm ± 0,05 mm) e quatro medidas do diâmetro (10 mm ± 0,5 mm) foram realizadas com um paquímetro digital (Mitutoyo Corporation, Tóquio, Japão) em pontos pré-determinados, de modo que em que houvesse uma padronização para todas as amostras, para mensuração do volume em mm<sup>3</sup>. As amostras foram pesadas (m1) em uma balança analítica e armazenadas em 5 ml de água deionizada por 7 dias. Após este período, as amostras foram lavadas em água corrente e secas com papel absorvente até que não houvesse água na superfície da amostra, e então foram pesadas novamente (m2). Em seguida, as amostras foram armazenadas em dessecador à vácuo em temperatura ambiente por 7 dias e após este período, pesadas a cada 24 h até se obter uma massa constante (m3). A sorção (Ws) e a solubilidade (Wsl) foram calculadas de acordo com as fórmulas:

$$W_s = \frac{m_2 - m_3}{V} \quad W_{sl} = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

### **Viscosidade**

A viscosidade dos adesivos experimentais foi avaliada através de um reômetro de placa paralela (ARES, TA Instruments, New Castle, DE, EUA). Para o teste, foi selecionado um dispositivo de acrílico de 20 mm de diâmetro e um de metal de 20 mm, e uma distância de 0.3 mm entre os dois dispositivos com uma taxa de cisalhamento de 10 a 1000 s<sup>-1</sup>. Os adesivos foram pesados (n=3) e 0,3 g de cada foram dispensados no dispositivo de acrílico. Os valores de viscosidade foram obtidos e uma média de 3 pontos retilíneos foi considerada para calcular a viscosidade de cada amostra.

### **Tensão de escoamento e Módulo de elasticidade**

Para o teste de Tensão de escoamento e módulo de elasticidades, o teste de Flexão de três pontos foi selecionado e realizado em uma máquina de ensaio universal (MTS Criterion, Eden Prairie, MN EUA) a uma velocidade de 1 mm/min e carga de 500 N, de acordo com a ISSO 4049 (Standard I 2009). Os adesivos (n=12) foram inseridos

em uma matriz de silicone de dimensões de 25 mm x 2,5 mm x 2,5 mm entre duas placas de vidro e cada lado da amostra foi fotopolimerizados por 120 s com um aparelho de fotopolimerizador de lâmpada de arco de mercúrio (Acticure 4000, Electro-Optical Inc., Montreal Canada com filtros a 320-500 nm) com irradiância de 650 mW/cm<sup>2</sup> chegando na superfície da amostra a uma distância de 7 cm. Esta distância permitiu que a luz alcançasse toda a superfície da amostra. As amostras foram então aleatoriamente selecionadas e divididas em dois subgrupos (n=6), os quais metade das barras foram armazenadas em um ambiente seco e escuro e testadas após 48 h e a outra metade após 7 dias imersos em água deionizada. O módulo de elasticidade (GPa) foi mensurado da porção linear inicial da porção da curva tensão-deformação do gráfico de cada amostra testada.

### ***Teste de Resistência de União à Microtração***

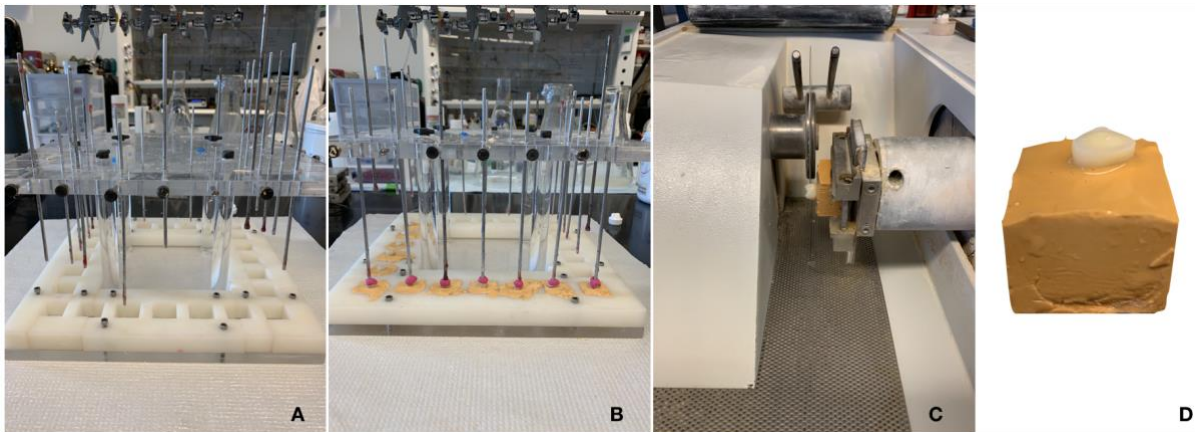
Para o teste de resistência de união à microtração, 40% de etanol foi adicionado aos grupos experimentais e previamente ao procedimento restaurador, os frascos foram misturados em vortex por 30 s.

Trinta e seis molares humanos hígidos foram aleatoriamente selecionados e armazenados em solução de 0,1% de Cloramina por até 30 dias, e divididos em 6 grupos (n=6). As raízes foram incluídas em gesso pedra por um dispositivo de acrílico (imagem 1 – A e B), para facilitar o procedimento de adesão e a obtenção dos palitos para o teste. Após a inclusão e presa do gesso, a oclusal dos dentes foram seccionadas de mesial para distal, perpendicularmente a raiz dos dentes de modo a expor a dentina (Imagem 1 – C e D), por um disco diamantado (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em uma máquina de corte automática. Após a secção, as superfícies de dentina foram polidas com discos de carbeto de silício de granulação #600 sobre irrigação por 30 s, para simular a formação de smear layer, e então lavadas por 30 s com água deionizada. Para o procedimento adesivo, a superfície da dentina foi condicionada com ácido fosfórico 35% (Ultra-Etch, Ultradent) por 10 s e lavadas com água deionizada por 30 s, a qual foi parcialmente removida com bolas de algodão, deixando a superfície úmida. Duas camadas de adesivos foram ativamente aplicadas na superfície de dentina por 10 s e secos com spray de ar por 5 s para volatilizar o solvente. Após a aplicação das duas camadas, estas foram fotopolimerizadas com o aparelho de bancada fotopolimerizador de lâmpada de arco de mercúrio por 60 s



(Acticure 4000, Electro-Optical Inc., Montreal Canada com filtro de 320-500 nm) à uma irradiância de 650 mW/cm<sup>2</sup> e distância da ponta do aparelho à superfície da dentina de 7 cm. Duas camadas de resina composta (Filtek Supreme Ultra A3 Body, 3M ESPE) de 2 mm de altura foram confeccionadas na superfície de dentina e fotopolimerizadas com um aparelho fotoativador LED Elipar (3M ESPE) à uma irradiância de 615 mW/cm<sup>2</sup>. Após o procedimento restaurados, as amostras foram armazenadas por 24 horas à 37°C e então as amostras foram seccionadas em palitos de área de 1 mm<sup>2</sup>. Os palitos de cada dente foram aleatoriamente selecionados e subdivididos, os quais metade foram avaliados em 24 h e a outra metade foram armazenados em água destilada para avaliação após 6 meses. Todos os procedimentos restauradores foram realizados pelo mesmo operador calibrado.

Após o tempo mencionado, os palitos foram testados em uma máquina de ensaio universal (MTS Criterion, Eden Prairie, MN, EUA) à uma velocidade de 1 mm/min e carga de 500 N até a falha. Os padrões de fratura foram analisados em um microscópio óptico de aumento de 40x e classificados como: adesiva, coesiva em dentina, coesiva em resina composta e mista (envolvendo adesivo, dentina e resina composta).



**Imagem 1.** **A.** Dispositivo de acrílico para inclusão das raízes de dentes; **B.** Raízes de dentes incluídas em gesso pedra com auxílio de cera pegajosa na oclusal dos dentes, perpendicularmente a base do dispositivo; **C.** Corte no terço médio da coroa dental, para exposição da dentina, em cortadeira automática; **D.** Dente após remoção da oclusal e exposição da dentina.

### **Análise estatística**

Os dados foram testados quanto a normalidade (Anderson-Darling) e homocedasticidade (testes Bartlett ou Levene), e então submetidos a Análise Variância de um fator e teste de Tukey (nível de significância de 95% para todos os testes). As comparações entre os tempos de armazenagem dentro os mesmos grupos para a resistência de união à microtração foram realizadas usando o test-t (nível de significância de 95%).

## ANEXO 1 – Comitê de ética



Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
UNICAMP

OF. CEP/FOP N.º 001/2020

Piracicaba, 10 de janeiro de 2020.

Ilma. Srta.  
Júlia Puppim Rontani  
Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários da  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP

Prezada Srta. Júlia,

Após analisar a documentação apresentada por V.Sa. ao CEP-FOP, com respeito à tese intitulada “Análise in vitro de um adesivo condiciona-e-lava de 2 passos modificado com aditivos de tiouretano”, dos pesquisadores Júlia Puppim Rontani (Doutoranda), Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho (Orientador) e Profa. Dra. Carmem Sílvia Pfeifer (Co-orientadora), informo que este projeto não necessita, em princípio e de acordo com as informações oferecidas no material encaminhado, ser submetido à análise por um Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos no Brasil.

As informações enviadas em um e-mail de 09/01/2020 e em dois arquivos anexados ao mesmo (versão da tese de doutorado e manifestação do IRB da Oregon Health & Science University) indicam que a pesquisa foi realizada com dentes humanos obtidos por doação de Cirurgiões Dentistas Americanos que os extraíram de pacientes americanos. Considerando que os dentes não de origem nacional, não há necessidade de submissão da pesquisa a um CEP no Brasil.

Esclareço que as informações fornecidas sobre este projeto serão arquivadas no CEP-FOP-UNICAMP por cinco anos. Colocamo-nos à disposição para qualquer informação adicional que julgar necessária.

Cordialmente,

*Prof. Jacks Jorge Junior*  
Coordenador

## ANEXO 2 - Turnitin

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE			
<b>21%</b>	<b>15%</b>	<b>13%</b>	<b>15%</b>
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
<b>1</b>	<b>repositorio.unicamp.br</b> Fonte da Internet		<b>7%</b>
<b>2</b>	<b>Submitted to Universidade Estadual de Campinas</b> Documento do Aluno		<b>4%</b>
<b>3</b>	<b>capex.gov.br</b> Fonte da Internet		<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>Ana P. Fugolin, Adam Dobson, Vincent Huynh, Wilbes Mbiya et al. "Antibacterial, ester-free monomers: Polymerization kinetics, mechanical properties, biocompatibility and anti-biofilm activity", Acta Biomaterialia, 2019</b> Publicação		<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>Ana P. Fugolin, Daniel Sundfeld, Jack L. Ferracane, Carmem S. Pfeifer. "Toughening of Dental Composites with Thiourethane-Modified Filler Interfaces", Scientific Reports, 2019</b> Publicação		<b>&lt;1%</b>
<b>6</b>	<b>worldwidescience.org</b>		

### ANEXO 3 – Comprovante de submissão do artigo

De: "Carmem Pfeifer" <pfeiferc@ohsu.edu>  
Assunto: Submission of a paper to the International Journal of Adhesion and Adhesives  
Data: 18 de fevereiro de 2020 18:40:24 BRT  
Para: "w.m.palin@bham.ac.uk" <w.m.palin@bham.ac.uk>  
Cc: "Ana Paula Piovezan Fugolin" <fugolin@ohsu.edu>, "Julia Puppini Rontani" <juliaprontani@gmail.com>

Dear Dr. Palin (Will),

I am writing to submit one of our papers to IJAA, please find attached the file with the final figures and tables, as well as the figures as separate files. Please, let me know if you need anything else, and if this is the correct procedure to follow for submission.

Sincerely,  
Carmem

Carmem S. Pfeifer, DDS, PhD  
Associate Professor  
Biomaterials and Biomechanics, OHSU  
2730 SW Moody Ave, room 6N036  
Portland, OR, 97201  
ph: 503-494-3288  
fax: 503-494-8260  
<http://www.biomaterials-pfeiferlab.com>