

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
08/12/2025.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Luciana Solera Sales

**Sistemas multiparticulados para liberação controlada de
substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico**

Araraquara

2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Luciana Solera Sales

**Sistemas multiparticulados para liberação controlada de
substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas, área de Odontopediatria.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fernanda Lourenção Brighenti

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Andréia Bagliotti Meneguim

Coorientador: Prof. Dr. Hernane da Silva Barud

Araraquara

2023

Sales, Luciana Solera
S163s Sistemas multiparticulados para liberação controlada de substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico / Luciana Solera Sales. -- Araraquara, 2023
118 f.: il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Fernanda Lourenção Brighenti
Coorientadora: Andréia Bagliotti Meneguín
Coorientador: Hernane da Silva Barud

1. Cárie dentária. 2. Biofilmes. 3. Flavonoides. 4. Polímeros. 5. Monoterpenos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Luciana Solera Sales

**Sistemas multiparticulados para liberação controlada de
substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico**

Comissão julgadora

**Defesa para obtenção do grau de doutor em Ciências Odontológicas, área de
Odontopediatria**

Presidente e orientadora: Profa. Dr^a Fernanda Lourenção Brighenti

2º Examinador: Profa. Dr^a Ana Carolina Magalhães

3º Examinador: Profa. Dr^a Cristiane Yumi Koga Ito

4º Examinador: Profa. Dr^a Carla Raquel Fontana Mendonça

5º Examinador: Profa. Dr^a Elisa Maria Aparecida Giro

Araraquara, 08 de dezembro de 2023.

DADOS CURRICULARES

Luciana Solera Sales

NASCIMENTO: 09/08/1991 – Ilha Solteira - SP

FILIAÇÃO: José Roberto da Costa Sales e Marli Solera

2012 – 2016: Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp).

2017 – 2019 Mestrado em Odontologia – Área de concentração Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Dedico este trabalho a Deus, fonte de toda sabedoria e inspiração. Agradeço por me guiar ao longo desta jornada acadêmica, por conceder-me força, paciência e discernimento para realizar este trabalho.

Aos meus pais Marli e José Roberto, que me deram a vida e foram meus primeiros mestres e cujo amor incondicional, apoio e incentivo constante fizeram deste momento possível. Este trabalho eu dedico a vocês com todo meu amor e gratidão.

À minha querida vó Rosária, que é sinônimo de amor, alegria e carinho. Seus conselhos e orações me deram forças necessária para seguir meus objetivos. Este trabalho é uma homenagem à sua influência em minha vida e ao amor que compartilhamos.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Edson Alves de Campos e pelo Vice-Diretor Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia.

Ao Departamento de Morfologia e Clínica Infantil e ao Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Microbiológica (LPBM), pela permissão para realização desta pesquisa.

Ao Laboratório de Farmacotécnica da Faculdade de Odontologia de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, na pessoa do Prof. Dr. Marlus Chorilli, por permitir a realização de parte desta pesquisa.

Ao Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais (BioPolMat) da Faculdade de Araraquara, na pessoa do Prof. Dr. Hernane Barud, por oferecer todo o apoio para a realização deste trabalho

Ao Laboratório de Biomineralização da Faculdade de Odontologia de Araçatuba e ao professor Alberto Carlos Botazzo Delbem, por permitir a realização de análises importantes.

Ao Hospital Odontológico da Universidade de Birmingham, por todo o aprendizado e permissão para a realização de parte deste trabalho.

A todos os professores da Pós – Graduação, em especial aos Professores da Odontopediatria, pelos valiosos ensinamentos sobre pesquisa e docência e pelo apoio.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Cristiano Lamounier e José Alexandre Garcia, por toda ajuda.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara: Reitoria, Diretoria, Biblioteca, Portaria, Limpeza, em especial aos funcionários do departamento de Morfologia e Clínica Infantil.

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2019/26066-4 e nº 2021/12931-5) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha Orientadora, **Fernanda Lourenção Brighenti**, minha sincera admiração e gratidão. Obrigada pela orientação e apoio incansável ao longo deste trabalho. Sua dedicação em me incentivar e me desafiar a ir além de meus limites foi fundamental para meu crescimento acadêmico e pessoal. Muito obrigada por tudo.

À minha coorientadora **Andréia Bagliotti Meneguín**, sua contribuição foi essencial. Obrigada por toda ajuda, paciência e carinho durante a realização deste trabalho. Sempre muito cuidadosa e disposta a ajudar.

Ao meu coorientador **Hernane Barud**, por toda a sua colaboração e disponibilidade. Serei eternamente grata.

Aos meus orientadores em Birmingham **Mike Milward, Mel Grant e Sarah Kuehne**, vocês foram fundamentais durante meu período de Doutorado Sanduíche em Birmingham. Obrigada por todos os ensinamentos, e por terem me recebido tão bem durante esse período. Minha eterna gratidão.

Aos meus pais, **Marli e José Roberto**, que são minha base, sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês mais que tudo.

À minha irmã **Ana Clara Lourenço**, por ser sinônimo de amor, carinho e companheirismo. Obrigada por sempre olhar para mim como exemplo e com orgulho. Se eu tento ser melhor a cada dia é por você.

À minha família, em especial, minhas avós **Rosária e Célia**, que sempre acreditaram no meu potencial e contribuíram para essa conquista.

À minha querida amiga **Juliana Rios de Oliveira**, por todo o apoio durante esse período. Em tão pouco tempo nos tornamos mais que amigas, irmãs. Obrigada por tudo, você é especial.

Às minhas amigas Turim, **Mariana e Lilian**, vocês foram essenciais. Muito obrigada por todos os momentos compartilhados, risadas e carinho. Vocês me fizeram amar Araraquara.

Aos meus amigos e colegas de Faculdade durante essa jornada: **Marina, Bianca, Débora, Marcela, Analú, Milena, Karina, Rafael, Elis, Paulo, Molíria**. Obrigada pela amizade, companheirismo e por todos os momentos que passamos juntos. Vocês tornaram o nosso dia a dia no laboratório mais leve e feliz.

Ao **Gabriel Nunes e Amanda Silvestre**, por me ajudarem a desenvolver este trabalho, com muita dedicação e carinho. Muito obrigada por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos meus amigos do laboratório de Birmingham: **Dario, Lisa, Maria, Ben, Olga, Sandeep, Ona, Peter, Lea, Veksina, Rachel**. Minha eterna gratidão por todos os ensinamentos e por terem me acolhido tão bem. Vocês são especiais.

À minha amiga **Amanda Sardeli**, que nunca me negou uma palavra amiga e me deu todo o suporte e apoio em Birmingham. Você é calmaria nos momentos de turbulência.

Aos meus queridos amigos de infância: **Mirella, Tati, Michele, Carol, Mateus e Arthur**, que compartilharam comigo os primeiros capítulos da minha vida e se fazem presentes até hoje, mesmo com a distância. Obrigada por sempre me apoiarem.

E por fim aos meus dois anjos, meus avôs **José Solera e Roberto**, que embora não estejam mais conosco, sei que estão olhando por mim com alegria e orgulho.

Sales LS. Sistemas multiparticulados para liberação controlada de substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

As doenças bucais biofilme-dependentes, como cárie dentária e doença periodontal, são consideradas um problema de saúde pública em todo o mundo. Nosso grupo de estudos tem pesquisado produtos naturais de origem vegetal para o controle mecânico e químico do biofilme bucal. Dessa maneira, o presente estudo teve como objetivo desenvolver, sintetizar e caracterizar *in vitro* sistemas multiparticulados – micro e/ou nanopartículas- baseados em polímeros naturais para liberação controlada da morina ou carvacrol e avaliá-los quanto à atividade antimicrobiana, antibiofilme e anti-inflamatória. Foram desenvolvidos dois sistemas de liberação controlada, micropartículas contendo morina e nanopartículas contendo morina ou carvacrol. As micropartículas foram obtidas a partir dos polímeros alginato de sódio e goma gelana por meio da técnica secagem por aspersão. As nanopartículas foram obtidas a partir dos polímeros alginato de sódio e quitosana por meio da técnica complexação polieletrólítica. Os sistemas foram então caracterizados quanto aos mecanismos de liberação *in vitro*, encapsulação das substâncias naturais e morfologia de superfície por meio da microscopia eletrônica de varredura. As nanopartículas foram ainda caracterizadas quanto ao tamanho das partículas e potencial zeta. A atividade antimicrobiana e antibiofilme das micropartículas contendo morina contra biofilme de *Streptococcus mutans* e patógenos periodontais, cultura planctônica de *F. nucleatum* e *P. gingivalis* e biofilme multi-espécies, e das nanopartículas contendo morina ou carvacrol contra biofilmes orais polimicrobianos foi avaliada por meio da viabilidade microbiana e biomassa, respectivamente, após a exposição aos diferentes tratamentos. A acidogenicidade também foi avaliada no biofilme de *S. mutans* e polimicrobiano. Para o biofilme multi-espécies, a viabilidade microbiana no biofilme também foi avaliada por meio da microscopia confocal de varredura a laser e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para obtenção de biofilme polimicrobiano, um inóculo obtido a partir da saliva de um voluntário previamente selecionado foi utilizado. A atividade anti-inflamatória das micropartículas foi avaliada, por meio da modulação de secreção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, um ensaio de citotoxicidade por meio da análise da viabilidade celular foi realizado. A microscopia eletrônica demonstrou que as micropartículas apresentam forma esférica e superfície rugosa e as nanopartículas apresentam tamanho nanométrico, com formato esférico e superfície lisa. As micropartículas controlaram melhor a liberação das substâncias naturais quando comparada com as nanopartículas. As micropartículas contendo morina e as nanopartículas contendo morina ou carvacrol reduziram significativamente a biomassa dos biofilmes, a acidogenicidade e a viabilidade de *S. mutans* e a viabilidade de bactérias totais, acidúricas e estreptococos do grupo mutans, respectivamente. As micropartículas contendo morina reduziram significativamente a biomassa e viabilidade microbiana dos patógenos periodontais (cultura planctônica e biofilme multi-espécies) em comparação com o grupo controle, confirmado pelas imagens do MEV e confocal. As micropartículas contendo morina também atenuaram a secreção de citocinas pró-inflamatórias e não foram tóxicas para as células. Conclui-se que as técnicas utilizadas para obtenção de sistemas multiparticulados são eficazes para o desenvolvimento de sistemas à base de polímeros naturais para liberação de substâncias naturais. Além disso, os resultados

mostraram que a morina e o carvacrol podem ser uma opção promissora para o controle de fatores de virulência das doenças bucais biofilme-dependentes.

Palavras-chave: Cárie dentária. Biofilmes. Flavonoides. Polímeros. Monoterpenos.

Sales LS. Multiparticulate systems for natural substance-controlled release with biological and pharmacological potential [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

Biofilm-dependent oral diseases, dental caries and periodontal disease, are considered a public health problem worldwide. Our study group has been researching natural products of plant origin for mechanical and chemical control of oral biofilm. The aim of this study was therefore to develop, synthesize and characterize in vitro multiparticulate systems based on natural polymers for morin and carvacrol controlled release and to assess their antimicrobial, antibiofilm and anti-inflammatory activity. Two controlled release systems were developed: microparticles containing morin and nanoparticles containing morin or carvacrol. The microparticles were obtained from the polymers sodium alginate and gellan gum using the spray drying technique. The nanoparticles were obtained from the polymers sodium alginate and chitosan using the polyelectrolytic complexation technique. The systems were then characterized in terms of in vitro release mechanisms, natural substances encapsulation and surface morphology using scanning electron microscopy. The nanoparticles were also characterized in terms of particle size and zeta potential. The antimicrobial and antibiofilm activity of the microparticles containing morin against *Streptococcus mutans* biofilm and periodontal pathogens, planktonic culture of *F. nucleatum* and *P. gingivalis* and multi-species biofilm, and of the nanoparticles containing morin or carvacrol against polymicrobial oral biofilms was evaluated by means of microbial viability and biomass, respectively, after exposure to the different treatments. Acidogenicity was also assessed in *S. mutans* and polymicrobial biofilms. For the multi-species biofilm, microbial viability in the biofilm was also assessed using confocal laser scanning microscopy and scanning electron microscopy (SEM). To obtain a polymicrobial biofilm, an inoculum obtained from the saliva of a previously selected volunteer was used. The microparticles anti-inflammatory activity was assessed by modulating the secretion of pro-inflammatory cytokines. In addition, a cytotoxicity test was carried out by analyzing cell viability. Electron microscopy showed that the microparticles were spherical in shape and had a rough surface, while the nanoparticles were nanometric in size, spherical in shape and had a smooth surface. The microparticles controlled the release of the natural substances better than the nanoparticles. Microparticles containing morin and nanoparticles containing morin or carvacrol significantly reduced biofilm biomass, acidogenicity and viability of *S. mutans* and viability of total bacteria, aciduric bacteria and mutans streptococci, respectively. Microparticles containing morin significantly reduced the biomass and microbial viability of periodontal pathogens (planktonic culture and multi-species biofilm) compared to the control group, as confirmed by SEM and confocal images. The microparticles containing morin also attenuated the secretion of pro-inflammatory cytokines and were not toxic to the cells. It is concluded that the techniques used to obtain multiparticulate systems are effective for the development of systems based on natural polymers for natural substances release. In addition, the results showed that morin and carvacrol could be a promising option for controlling virulence factors of biofilm-dependent oral diseases.

Keywords: Dental Caries. Biofilms. Flavonoids. Polymers. Monoterpenes.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivos específicos.....	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	51
3.3 Publicação 3	79
4 CONCLUSÃO	110
REFERÊNCIAS	111
ANEXO A	115

1 INTRODUÇÃO

As doenças bucais biofilme-dependentes, cárie dentária e doença periodontal, estão entre as doenças mais prevalentes do mundo, sendo consideradas a principal causa de perda dentária^{1,2}. Dados do último levantamento epidemiológico demonstram que a prevalência de cárie no Brasil ainda é bastante alta: aos 5 anos de idade, a prevalência da doença é de 49,20%, entre 12 e 19 anos é de 66,7% e na idade adulta atinge 94,8% da população. Para a doença periodontal, a prevalência é de 50,1% para a faixa etária de 15 a 19 anos, 82,2% para os adultos entre 35 e 44 anos e 98,2% para os idosos entre 65 e 74 anos³. Apesar dessas doenças estarem associadas a populações que apresentam nível socioeconômico mais baixo e desvantagem social^{1,4} países desenvolvidos também sofrem com o problema. A prevalência em crianças de 5 e 6 anos em países que apresentam alta renda é de 49%. Aos 12 anos a prevalência nesses países diminui para 46,6%⁵. Em relação a doença periodontal, a prevalência em todo mundo é de 20 a 50%, sendo mais comum em idosos e na população de países de alta renda⁶. Essa alta prevalência das doenças acarreta na redução da qualidade de vida da população^{7,8} e em altos gastos para a sociedade – por ano, bilhões de dólares são gastos para o tratamento da cárie dentária e da doença periodontal⁹.

Para que ocorra o desenvolvimento dessas doenças, os microrganismos presentes na cavidade bucal precisam aderir à superfície dentária e formar biofilmes¹⁰. O biofilme pode ser definido como um grupo de microrganismos envoltos por uma matriz ligada a superfície do dente¹¹. Todo biofilme apresenta em comum uma matriz extracelular de polissacarídeos, proteínas e algumas vezes ácidos nucleicos; sua formação se dá por sinais ambientais bacterianos e por fim oferece proteção microbiana contra antibióticos, estresses ambientais, entre eles as respostas imunológicas do hospedeiro¹². A composição microbiana dos biofilmes é que determina se podem ser considerados não patogênicos ou patogênicos, relacionados com a cárie dentária ou doença periodontal.

Para a doença cárie, as espécies de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* e *Actinomyces* spp. são as responsáveis pela colonização inicial da superfície dentária. Essas espécies são capazes de produzir ácidos a partir do açúcar ingerido, diminuindo o pH bucal. Entretanto, esses ácidos são facilmente

neutralizados pelo mecanismo homeostático da cavidade bucal, que incluem o tamponamento por sistemas tampões salivares e a metabolização de arginina ou uréia em amônia^{13,14}. Entretanto, se a ingestão do açúcar for frequente, os mecanismos homeostáticos não são capazes de manter o pH próximo à neutralidade, dando início à doença e à desmineralização do esmalte. Se o pH continuar em níveis baixos, ocorrerá a substituição dessas espécies de bactérias por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp., que são espécies acidúricas e toleraram pH menores do que 4, promovendo a progressão da doença e, eventualmente, a formação da lesão¹⁵.

Em condições de saúde periodontal, os microrganismos estimulam o sistema de defesa inato no periodonto, que controla a colonização bacteriana dos tecidos periodontais próximos ao epitélio do sulco gengival. O epitélio pode ser considerado uma barreira entre o ambiente externo e os tecidos do hospedeiro¹⁶. O desequilíbrio ocorre quando acontece o acúmulo de placa e uma resposta exagerada do hospedeiro, levando a substituição de bactérias Gram positivas, aeróbicas e imóveis por Gram negativas, anaeróbicas e móveis¹⁶⁻¹⁸. A primeira espécie relacionada com a doença periodontal são as do complexo verde, amarelo e roxo, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. O aparecimento dessa espécie permite a colonização de bactérias do complexo laranja, como *Fusobacterium nucleatum*, e do complexo vermelho, como *Porphyromonas gingivalis*, levando a progressão da doença¹⁹.

O controle mecânico associado ao controle químico do biofilme bucal é uma estratégia importante e efetiva para o controle do biofilme oral, consequentemente das doenças biofilme-dependentes, como a cárie dentária e doença periodontal. Entretanto, um controle mecânico satisfatório ainda é muito negligenciado pela população, seja por falta de habilidades motoras ou por falta de conhecimento e motivação. Além disso, a clorexidina, substância mais reconhecida para o controle químico do biofilme, apresenta uma série de efeitos colaterais, como alteração do paladar, manchamento dos dentes, irritação gengival e sensibilidade dentária²⁰, além de não ser capaz de controlar biofilmes maduros²¹. Como alternativa ao uso da clorexidina e como um complemento da remoção mecânica, as substâncias naturais emergem como uma alternativa promissora. O uso de produtos naturais de origem vegetal tem sido bastante pesquisado e tem apresentado resultados promissores para o controle do biofilme oral ²²⁻²⁴.

A morina (3, 5, 7, 2', 4'-penta-hidroxifavona), um flavonóide de coloração amarela obtida de plantas, frutas e ervas pertencentes a família Moraceae^{25,26}, é

bastante conhecida por seu efeito antimicrobiano, principalmente por sua capacidade de inibir bactérias Gram positivas, por apresentar atividades farmacológicas, incluindo atividade anti-inflamatória, antioxidante, capacidade de eliminar radicais livres e apresentar efeito anticâncer, antiartrite, gastroprotetor, neuroprotetor, cardioprotetor e hepatoprotetor. Acredita-se que as propriedades farmacológicas da morina estejam relacionadas com a modulação de várias vias de sinalização celular²⁶. Em relação às propriedades antimicrobianas, um estudo de Green et al.²⁷ (2012) mostrou que a morina impediu o desenvolvimento do biofilme *Streptococcus pyogenes*, resultando na redução da biomassa desse biofilme. A morina também se mostrou eficaz em reduzir a formação de biofilme de *S. mutans*, devido a inibição de SrtA, um gene relacionado com a adesão do microrganismo à superfície dentária²⁸. Adicionalmente a morina apresenta citotoxicidade muito baixa²⁶.

O carvacrol (2-metil-5- (1-metiletil) -fenol), um fenol monoterpênico, é um constituinte natural encontrado em muitas plantas aromáticas, incluindo tomilho e orégano^{29,30}. Ele apresenta propriedades biológicas e farmacológicas, sendo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacterianas e antifúngicas³¹. Estudos já demonstraram que essa substância natural apresenta atividade antimicrobiana contra algumas espécies de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas^{32,33}. Além dessas características, o carvacrol apresenta baixa toxicidade³⁴.

Entretanto, ambas as substâncias apresentam estabilidade limitada, sendo degradadas facilmente ou metabolizadas em compostos inativos. Na boca, a presença de forças musculares, como fala, mastigação e deglutição e a presença da saliva acelera não só a degradação das substâncias em sua forma livre como são responsáveis pela sua rápida remoção da cavidade bucal. Além disso, essas substâncias apresentam baixa solubilidade nos fluidos gengivais e saliva, o que pode diminuir a biodisponibilidade oral e conseqüentemente a distribuição das substâncias no local desejado³⁵. Para melhorar essas características, um estudo recente desenvolveu sistemas mucoadesivos de liberação controlada contendo morina. Esses sistemas utilizam alginato de sódio e goma gelana, dois polímeros naturais amplamente utilizados para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada. Os resultados desse estudo demonstraram que os sistemas desenvolvidos controlaram as taxas de liberação, apresentaram mucoadesividade e demonstram capacidade em controlar fatores de virulência de biofilmes cariogênicos^{37,38}.

Entretanto, esses sistemas apresentam diâmetro de 10 a 15 mm e precisam ser aprimorados para aumentar sua aplicabilidade. Uma das alternativas para superar esse desafio seria o desenvolvimento de sistemas multiparticulados utilizando polímeros naturais. Alginato, goma gelana e quitosana são exemplos de polímeros naturais amplamente utilizados na indústria alimentícia e farmacêutica³⁹.

O uso desses polímeros apresenta diversas propriedades interessantes para o desenvolvimento de um produto para uso bucal, a saber: mucoadesividade, que impede a remoção das substâncias pela saliva⁴⁰; capacidade de liberação controlada de substâncias, mantendo uma distribuição uniforme, aumentando a eficácia do tratamento e diminuindo a toxicidade, baixo custo, baixa toxicidade, biodegradabilidade e capacidade de melhorar a solubilidade de substâncias hidrofóbicas⁴¹. Dentre as técnicas de obtenção de sistemas multiparticulados, merece destaque a complexação polieletrólítica, uma técnica já bastante conhecida e consolidada na literatura e a secagem por aspersão (“spray drying”), que, apesar de não ser uma técnica muito nova, é considerada uma tecnologia que está em constante evolução; por isso, pesquisas sobre novos materiais que podem ser processados por essa técnica tem sua importância para consolidar essa tecnologia⁴².

A complexação polieletrólítica se baseia no uso de polieletrólitos, qualquer material macromolecular que se dissocia em uma molécula polimérica altamente carregada ao ser colocado em um solvente ionizante, formando uma cadeia polimérica carregada positivamente (como, por exemplo, a quitosana) ou negativamente (como, por exemplo, o alginato de sódio)⁴³. Quando os polieletrólitos com um ou mais íons de carga oposta se juntam, eles formam o complexo eletrólítico. Essa metodologia tem ganhado interesse porque o processo é simples e facilmente exequível, além de possibilitar o escalonamento do processo, pois requer pouca energia e utiliza solventes seguros para o ambiente e para o ser humano⁴⁴. Em função dos parâmetros utilizados, a complexação polieletrólítica pode resultar na formação tanto de micropartículas quanto de nanopartículas. A possibilidade de obtenção de nanopartículas apresenta importantes diferenciais, dentre os quais se destaca: melhoria da solubilidade, potencialização da ação farmacológica, proteção contra a degradação dos fármacos e diminuição de efeitos colaterais⁴⁵.

A secagem por aspersão é um método para produção de produtos secos a partir de líquidos, como soluções, emulsões, óleos, em partículas sólidas com tamanho, forma, densidade e composição química ajustáveis. O líquido é pulverizado

na presença de ar quente, assim o solvente é evaporado enquanto o pó ultrafino é coletado^{46,47}. É considerado um processo simples, reprodutível, rápido, contínuo, econômico, de etapa única e que permite condições de temperatura amena adequadas a compostos sensíveis ao calor⁴². Essa técnica tem sido bastante utilizada na indústria farmacêutica para encapsular compostos ativos hidrofílicos e hidrofóbicos, melhorando a biodisponibilidade e a liberação controlada desses componentes ativos. Essas características se devem à geração de partículas menores que os secadores convencionais^{46,47}.

Desse modo, acredita-se que os sistemas de liberação controlada desenvolvidos previamente têm potencial para combater o acúmulo de biofilme microbiano na cavidade bucal, a inflamação e os efeitos oxidantes resultantes da doença periodontal. Dessa forma, prevenir doenças bucais de origem microbiana como, por exemplo, a cárie dentária e a periodontite. Entretanto, é necessário aperfeiçoar esse sistema, tornando-o mais aplicável.

Sabendo-se da importância de controlar os fatores de virulência das doenças bucais biofilme-dependentes e objetivando o desenvolvimento de sistemas multiparticulados para liberação controlada de substâncias naturais com potencial biológico e farmacológico, a presente Tese foi dividida em três publicações:

- “Development of multiparticulate systems based on natural polymers for morin controlled release.”
- “Evaluation of chitosan and sodium alginate nanoparticles containing or not morin or carvacrol for polymicrobial oral biofilm control.”
- “Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of multiparticulate system containing morin”.

Na primeira publicação um sistema multiparticulado baseado em alginato de sódio e goma gelana para liberação controlada da morina foi desenvolvido por meio da técnica de secagem por aspersão e avaliado quanto à atividade antimicrobiana e antibiofilme contra *S. mutans*. Na segunda publicação nanopartículas a base de quitosana e alginato de sódio contendo morina ou carvacrol foram desenvolvidas por meio da técnica complexação polieletrólítica e avaliadas quanto à atividade antimicrobiana e antibiofilme contra biofilmes orais polimicrobianos. Na terceira publicação, os sistemas à base de alginato de sódio e goma gelana contendo morina,

previamente desenvolvidos, foram avaliados quanto à atividade anti-inflamatória e antimicrobiana contra patógenos periodontais.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que ambas as técnicas utilizadas, secagem por aspersão e complexação polieletrólítica foram eficazes para o desenvolvimento de sistemas multiparticulados a partir de polímeros naturais para a liberação de substâncias naturais, morina ou carvacrol. Os sistemas contendo morina apresentaram efeito antimicrobiano e antibiofilme contra *S. mutans*, biofilme oral polimicrobiano e patógenos periodontais; além de apresentarem efeito anti-inflamatório. Os sistemas contendo carvacrol apresentaram efeito antimicrobiano e antibiofilme contra biofilme oral polimicrobiano. Dessa maneira, os resultados mostraram que os sistemas multiparticulados desenvolvidos podem ser uma opção promissora para o controle de fatores de virulência das doenças bucais biofilme-dependentes.

REFERÊNCIAS*

1. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR et al. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet*. 2019; 394(10194): 249–60.
2. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res*. 2015; 94(5): 650–8.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: pesquisa nacional de saúde bucal: resultados preliminares. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
4. Watt RG, Mathur MR, Aida J, Bönecker M, Venturelli R, Gansky SA. Oral health disparities in children: a canary in the coalmine? *Pediatr Clin North Am*. 2018; 65(5): 965–79.
5. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Lavery D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(18): 94–105.
6. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal*. 2020: 2146-160.
7. García-Pérez Á, Irigoyen-Camacho ME, Borges-Yáñez SA, Zepeda-Zepeda MA, Bolona-Gallardo I, Maupomé G. Impact of caries and dental fluorosis on oral health-related quality of life: a cross-sectional study in schoolchildren receiving water naturally fluoridated at above-optimal levels. *Clin Oral Investig*. 2017; 21(9): 2771–80.
8. Fernandes IB, Pereira TS, Souza DS, Ramos-Jorge J, Marques LS, Ramos-Jorge ML. Severity of dental caries and quality of life for toddlers and their families. *Pediatr Dent*. 2017; 39(2): 118–23.
9. Baelum V, Van Palenstein Helderma W, Hugoson A, Yee R, Fejerskov O. A global perspective on changes in the burden of caries and periodontitis: implications for dentistry. *J Oral Rehabil*. 2007; 34(12): 872–906.
10. Cvitkovitch DG, Li YH, Ellen RP. Quorum sensing and biofilm formation in *Streptococcal* infections. *J Clin Invest*. 2003; 112(11): 1626–32.
11. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010; 8(9): 623–33.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Lemon KP, Earl AM, Vlamakis HC, Aguilar C, Kolter R. Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2008; 322: 1–16.
13. Nascimento MM, Gordan VV, Garvan CW, Browngardt CM, Burne RA. Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience. *Oral Microbiol Immunol*. 2009; 24(2): 89–95.
14. Morou-Bermudez E, Elias-Boneta A, Billings RJ, Burne RA, Garcia-Rivas V, Brignoni-Nazario V, et al. Urease activity in dental plaque and saliva of children during a three-year study period and its relationship with other caries risk factors. *Arch Oral Biol*. 2011; 56(11): 1282–9.
15. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res*. 2008; 42(6): 409–18.
16. Herbert BA, Novince CM, Kirkwood KL. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a potent immunoregulator of the periodontal host defense system and alveolar bone homeostasis. *Mol Oral Microbiol*. 2016; 31(3): 207–27.
17. Saliem SS, Bede SY, Cooper PR, Abdulkareem AA, Milward MR, Abdullah BH. Pathogenesis of periodontitis - a potential role for epithelial-mesenchymal transition. *Jpn Dent Sci Rev*. 2022; 58: 268–278.
18. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005; 38: 135–87.
19. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998; 25(2): 134–44.
20. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015; 19(7): 1321–6.
21. Saleem HGM, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiol*. 2016; 16(1): 214.
22. Brighenti FL, Salvador MJ, Gontijo AVL, Delbem ACB, Delbem ÁCB, Soares CP, et al. Plant extracts: initial screening, identification of bioactive compounds and effect against *Candida albicans* biofilms. *Future Microbiol*. 2017; 12: 15–27.
23. Brighenti FL, Salvador MJ, Delbem ACB, Delbem ÁCB, Oliveira MAC, Soares CP, et al. Systematic screening of plant extracts from the Brazilian Pantanal with antimicrobial activity against bacteria with cariogenic relevance. *Caries Res*. 2014; 48(5): 353–60.
24. Albuquerque YE, Danelon M, Salvador MJ, Koga-Ito CY, Delbem ACB, Ramirez-Rueda RY, et al. Mouthwash containing *Croton doctoris* essential oil: in vitro study using a validated model of caries induction. *Future Microbiol*. 2018; 13(6): 631–43.

25. Caselli A, Cirri P, Santi A, Paoli P. Morin: A Promising Natural Drug. *Curr Med Chem*. 2016; 23(8): 774–91.
26. Rajput SA, Wang XQ, Yan HC. Morin hydrate: A comprehensive review on novel natural dietary bioactive compound with versatile biological and pharmacological potential. *Biomed Pharmacother*. 2021; 138: 111-511.
27. Green AE, Rowlands RS, Cooper RA, Maddocks SE. The effect of the flavonol morin on adhesion and aggregation of *Streptococcus pyogenes*. *FEMS Microbiol Lett*. 2012; 333(1): 54–8.
28. Huang P, Hu P, Zhou SY, Li Q, Chen WM. Morin inhibits sortase A and subsequent biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Curr Microbiol*. 2014; 68(1): 47–52.
29. Monzote L, Stamberg W, Staniek K, Gille L. Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridole from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009; 240(3): 337–47.
30. Liolios CC, Graikou K, Skaltsa E, Chinou I. Dittany of Crete: a botanical and ethnopharmacological review. *J Ethnopharmacol*. 2010; 131(2): 229–41.
31. Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des*. 2008; 14(29): 3106-19.
32. Rivas L, McDonnell MJ, Burgess CM, O'Brien M, Navarro-Villa A, Fanning S, et al. Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *Int J Food Microbiol*. 2010; 139(1–2): 70–8.
33. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *Vibrio cholerae* in food. *J Biosci Bioeng*. 2010; 110(5): 614–9.
34. Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015; 55(3): 304–18.
35. Shoji Y, Nakashima H. Nutraceuticals and delivery systems. *J Drug Target*. 2004; 12(6): 385–91.
36. Meneguín AB, Beyssac E, Garrait G, Hsein H, Cury BSF. Retrograded starch/pectin coated gellan gum-microparticles for oral administration of insulin: A technological platform for protection against enzymatic degradation and improvement of intestinal permeability. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018; 123: 84–94.
37. de Farias AL, Arbeláez MIA, Meneguín AB, Barud HDS, Brighenti FL. Mucoadhesive controlled-release formulations containing morin for the control of oral biofilms. *Biofouling*. 2022; 38(1): 71-83.
38. de Farias AL, Meneguín AB, da Silva Barud H, Brighenti FL. The role of sodium alginate and gellan gum in the design of new drug delivery systems intended for antibiofilm activity of morin. *Int J Biol Macromol*. 2020; 162: 1944-1958.

39. George A, Shah PA, Shrivastav PS. Natural biodegradable polymers-based nano-formulations for drug delivery: A review. *Int J Pharm*. 2019; 561: 244–64.
40. Kesavan K, Nath G, Pandit JK. Sodium alginate based mucoadhesive system for gatifloxacin and its in vitro antibacterial activity. *Sci Pharm*. 2010; 78(4): 941–57.
41. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*. 2012; 37(1): 106–26.
42. Sosnik A, Seremeta KP. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Adv Colloid Interface Sci*. 2015; 223: 40–54.
43. Lankalapalli S, Kolapalli VRM. Polyelectrolyte Complexes: A Review of their Applicability in Drug Delivery Technology. *Indian J Pharm Sci*. 2009; 71(5): 481–7.
44. Berger J, Reist M, Mayer JM, Felt O, Gurny R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004; 57(1): 35–52.
45. Horev B, Klein MI, Hwang G, Li Y, Kim D, Koo H, et al. pH-activated nanoparticles for controlled topical delivery of farnesol to disrupt oral biofilm virulence. *ACS Nano*. 2015; 9(3): 2390–404.
46. Arpagaus C, Collenberg A, Rütli D, Assadpour E, Jafari SM. Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. *Int J Pharm*. 2018; 546(1–2): 194–214.
47. Salama AH. Spray drying as an advantageous strategy for enhancing pharmaceuticals bioavailability. *Drug Deliv Transl Res*. 2020; 10(1): 1–12.