

RESSALVA

Atendendo solicitação do autora,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a
partir de 21/02/2027.



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



Milena da Silva Gimenes

Desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina para controle de biofilme de *Streptococcus mutans*

Araraquara

2025



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



Milena da Silva Gimenes

Desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina para controle de biofilme de *Streptococcus mutans*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, na Área de Odontopediatria

Orientador: Profa. Dra. Fernanda Lourenção Brighenti

Araraquara

2025

G491d Gimenes, Milena da Silva
Desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina para controle de biofilme de *Streptococcus mutans* / Milena da Silva Gimenes. -- Araraquara, 2025
62 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Fernanda Lourenção Brighenti
Coorientador: Douglas Faza Franco

1. Cárie dentária. 2. Biofilmes. 3. Produtos biológicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Milena da Silva Gimenes

Desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina para controle de biofilme de *Streptococcus mutans*

Comissão julgadora

Defesa para obtenção do grau de Mestre em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador Profa. Dra. Fernanda Lourenção Brighenti

2º Examinador Profa. Dra. Marcelle Danelon

3º Examinador Prof. Dr. Diego Giroto Bussaneli

4º Examinador Dra. Andréia Bagliotti Meneguim

5º Examinador Dra. Luciana Solera Sales

Araraquara, 21 de fevereiro de 2025.

DADOS CURRICULARES

Milena da Silva Gimenes

NASCIMENTO: 05/01/2000 – São Paulo – SP

FILIAÇÃO: Ana Paula da Silva Gimenes e Dawis de Almeida Gimenes

2018 – 2023: Curso de Graduação – Faculdade de Odontologia de Araraquara
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

2023 – 2025: Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de
Concentração em Odontopediatria – Curso de Mestrado - Faculdade de Odontologia
de Araraquara Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Para meus pais, Ana Paula e Dawis, que não tiveram a mesma oportunidade que eu, mas compartilharam do mesmo sonho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo, por até aqui ter me sustentado, direcionando minha vida e toda esta jornada. Cada detalhe é especial e sei que tem Suas mãos.

Aos meus amados pais, Ana Paula e Dawis, minha gratidão por me permitirem seguir meus sonhos, sempre me incentivando a ir a diante. Agradeço por revestirem minha vida e a dos meus irmãos com amor, carinho e dedicação. Vocês trabalharam dobrado, abrindo mão de tanto para que eu pudesse conquistar meus objetivos. Sem vocês nada disso seria possível. Dedico e divido com vocês o mérito deste trabalho e o meu amor incondicional.

Aos meus irmãos, Thiago e Manuela, que são minha fonte de energia em tudo o que faço. Espero que minha ausência durante esta caminhada seja recompensada no futuro, tornando-me uma inspiração para vocês. Amo vocês!

À minha querida orientadora, Profa. Fernanda, por ter me moldado e confiado em mim desde o início da minha graduação. Sou imensamente grata pela atenção, carinho e seriedade com que conduziu minha orientação. A admiro muito e me inspiro em seus passos e em sua dedicação para trilhar minha jornada.

À toda minha família, avós, tios, tia, primas, por acreditarem em mim e sempre incentivarem meu sucesso profissional. Cada um de vocês contribuiu, de alguma forma, para que eu chegasse até aqui.

Às minhas colegas de apartamento, Letícia Durão e Nayara, por dividirem comigo anos tão desafiadores em nossas vidas. Vocês tornaram tudo mais leve durante esse processo e sei que podemos contar uma com a outra em tudo. Agradeço por serem minha família em Araraquara, pelo carinho, apoio e toda paciência. Nossa relação é especial demais e para sempre.

Às minhas amigas Natasha, Letícia Carvalho, Verônica e Giulia que mesmo distantes, continuam sendo presenças constantes e essenciais em minha vida. Poder continuar compartilhando momentos especiais com vocês é maravilhoso.

Às minhas amigas da Pós-Graduação, Lorraine, Analú, Juliana, Lizandra e Lorena por todos os momentos vividos, pelas conversas, convivência e por todo aprendizado durante este período. A vida é muito melhor quando compartilhada e agradeço por poder compartilhar diversos momentos dessa trajetória com vocês.

À minha amiga e eterna coorientadora Luciana, que me apresentou o mundo da pesquisa e até hoje me ensina tanto sobre a vida acadêmica. Mais do que

orientações, compartilha comigo também muitos momentos de felicidade. Sua ajuda foi fundamental nessa jornada. Expresso aqui minha gratidão e admiração.

Aos alunos de iniciação científica que foram confiados a mim, Ariele, Julia e, em especial, Breno que contribuiu ativamente para o desenvolvimento deste trabalho. Quem ensina aprende ao ensinar, agradeço pelos aprendizados e companhia ao longo desta caminhada.

Aos alunos do Grupo de Pesquisa em Biopolímeros e Biomateriais (BiopolMat), em especial Molíria, pela ajuda ativa no desenvolvimento deste trabalho e pela disponibilidade em sempre me atender e esclarecer minhas dúvidas. Sabemos os desafios que tivemos que enfrentar no desenvolvimento do projeto e agradeço enormemente pelo seu apoio e persistência. Expresso também meu agradecimento por poder utilizar a estrutura do laboratório BiopolMat para realizar parte dos testes neste trabalho desenvolvidos e pelo auxílio dos colegas.

À banca avaliadora do meu Exame de Qualificação, Profa. Denise Spolidorio e Profa. Elisa Giro, por suas contribuições valiosas que aprimoraram significativamente este trabalho.

Aos professores do Departamento de Morfologia e Clínica Infantil, que estão sempre dispostos e não hesitam em compartilhar seus conhecimentos. Agradeço por contribuírem de forma tão importante na minha formação profissional.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara, em especial Cristiano, pelo excelente trabalho, pela atenção, paciência e eficiência em atender.

Por fim, à Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-UNESP), representada por sua diretora Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia e vice-diretora Profa. Dra. Elaine Pereira da Silva Tagliaferro, que por meio de todos os seus professores, funcionários e alunos, foram fundamentais em minha formação profissional desde o início. A grandeza desta Instituição é inegável e poder fazer parte dela é uma honra.

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

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.”
João Guimarães Rosa*

* Rosa, JG. Grande sertão: Veredas. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1986.

Gimenes MS. Desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina para controle de biofilme de *Streptococcus mutans* [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

RESUMO

Os avanços tecnológicos têm possibilitado o desenvolvimento de novos biomateriais para terapias antimicrobianas complementares, com destaque para aqueles baseados em materiais naturais. A fibroína de seda, um polímero natural, tem sido amplamente explorada em sistemas de liberação controlada de fármacos no campo farmacêutico, porém seu potencial na Odontologia ainda é pouco estudado. Neste estudo, foram desenvolvidas e caracterizadas nanopartículas de fibroína de seda contendo morina (NPFS-M), um composto natural com conhecido potencial antimicrobiano, para avaliar sua atividade contra *Streptococcus mutans*. As nanopartículas foram sintetizadas a partir de casulos de *Bombyx mori* e caracterizadas por espalhamento dinâmico da luz (DLS) no dia do seu desenvolvimento e após 7, 15 e 30 dias, a fim de avaliar sua estabilidade. A sua estrutura secundária foi avaliada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e sua morfologia foi determinada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Além disso, foram analisadas a eficiência de encapsulação e a liberação *in vitro* do fármaco em diferentes valores de pH. A atividade antimicrobiana, antiacidogênica e antibiofilme das NPFS-M foi avaliada em biofilmes de *S. mutans* por meio da análise da viabilidade microbiana (UFC/mL), acidogenicidade do biofilme e biomassa (coloração com cristal violeta). Os resultados mostraram que a formulação apresentou valores ideais de tamanho de partícula ($53,5 \pm 3,7$ nm), índice de polidispersão ($0,352 \pm 0,032$) e potencial zeta ($-45,9 \pm 0,60$ mV) e se manteve estável durante o período analisado, com morfologia homogênea, sem sinais de aglomeração, superfície porosa e estrutura cristalina. A eficiência de encapsulação de morina foi de 55%, apresentando uma liberação gradual e dependente do pH, sendo de 69% em pH 7,4, 59% em pH 6,0 e 16% em pH 4,5. Além disso, as NPFS-M reduziram significativamente a biomassa de *S. mutans*, a viabilidade microbiana e a acidogenicidade em comparação aos controles. Esses achados indicam o potencial do sistema desenvolvido, sugerindo novas possibilidades para o uso de nanopartículas de fibroína de seda em formulações voltadas ao controle de biofilmes orais.

Palavras – chave: Cárie dentária. Biofilmes. Produtos biológicos.

Gimenes MS. Development of silk fibroin-based nanoparticles containing morin for *Streptococcus mutans* biofilm control [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

ABSTRACT

Technological advancements have enabled the development of new biomaterials for complementary antimicrobial therapies, particularly those based on natural materials. Silk fibroin, a natural polymer, has been widely explored for controlled drug delivery systems in the pharmaceutical field, although its potential in dentistry remains underexplored. In this study, silk fibroin nanoparticles containing morin (NPSF-M), a natural compound with well-known antimicrobial potential, were developed and characterized to evaluate their antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*. The nanoparticles were synthesized from *Bombyx mori* cocoons and characterized using dynamic light scattering (DLS) to determine particle size, polydispersity index, and zeta potential on the day of synthesis and after 7, 15 and 30 days to assess their stability. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was employed to analyze their secondary structure, and transmission electron microscopy (TEM) was used to evaluate morphology. Additionally, the encapsulation efficiency and in vitro drug release at different pH values were investigated. The antimicrobial, anti-acidogenic, and anti-biofilm activities of NPSF-M were assessed in *S. mutans* biofilms by analyzing microbial viability (CFU/mL), biofilm acidogenicity, and biomass (crystal violet staining). The results showed that the formulation exhibited ideal particle size (53.5 ± 3.7 nm), polydispersity index (0.352 ± 0.032), and zeta potential (-45.9 ± 0.60 mV), remaining stable throughout the analyzed period. The nanoparticles displayed a homogeneous morphology, with no signs of aggregation, porous surfaces and crystalline structure. The morin encapsulation efficiency was 55%, showing gradual and pH-dependent release: 69% at pH 7.4, 59% at pH 6.0, and 16% at pH 4.5. Furthermore, NPSF-M significantly reduced *S. mutans* biofilm biomass, microbial viability, and acidogenicity compared to the controls. These findings highlight the great potential of the developed system, suggesting new possibilities for the use of silk fibroin nanoparticles in the control of oral biofilms.

Keywords: Dental caries. Biofilms. Biological products.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 Objetivos Específicos.....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Cárie Dentária	16
3.2 Flavonoides	19
3.3 Morina.....	22
3.4 Nanopartículas	26
3.5 Fibroína de Seda	28
4 MATERIAL E MÉTODO	32
4.1 Materiais	32
4.2 Síntese das Nanopartículas de Fibroína de Seda Contendo Morina (NPFS-M)	32
4.3 Caracterização das NPFS-M.....	33
4.3.1 Tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta	33
4.3.2 Caracterização estrutural (FTIR) e óptica (UV-Vis).....	34
4.3.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	34
4.3.4 Eficiência de encapsulação (EE%)	34
4.3.5 Liberação <i>in vitro</i> de morina	35
4.4 Atividade Antimicrobiana e Antibiofilme das NPFS-M Contra <i>Streptococcus mutans</i>	35
4.5 Planejamento Estatístico e Análise de Dados	36
5 RESULTADO	37
5.1 Caracterização das NPFS-M.....	37

5.1.1 Tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta	37
5.1.2 Caracterização estrutural (FTIR) e óptica (UV-Vis).....	38
5.1.3 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	39
5.1.4 Eficiência de encapsulação (EE%)	40
5.1.5 Liberação <i>in vitro</i> de morina	40
5.2 Atividade Antimicrobiana e Antibiofilme das NPFS-M Contra <i>Streptococcus mutans</i>	42
 6 DISCUSSÃO	 44
 7 CONCLUSÃO	 49
 REFERÊNCIAS	 50

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é definida como uma doença dinâmica, multifatorial, não transmissível, mediada por biofilme e modulada pela dieta, determinada por fatores biológicos, comportamentais, psicossociais e ambientais e que tem como consequência o desenvolvimento da lesão cavitada¹. Apesar de ser uma doença passível de prevenção e controle², a cárie dentária é considerada a mais predominante das doenças bucais³. No Brasil, dados recentes (SB Brasil 2021-2022)⁴ indicam uma acentuação da polarização da doença, com menor número de pacientes concentrando um maior número e severidade das lesões de cárie, destacando a necessidade de novas estratégias de prevenção.

Para o desenvolvimento da doença, os microrganismos presentes na cavidade oral precisam aderir à superfície dentária e formar biofilmes. A ingestão frequente de açúcar promove a produção persistente de ácido por bactérias, reduzindo o pH bucal. Em condições biológicas, o pH é facilmente neutralizado pelos sistemas tamponantes salivares. No entanto, o consumo frequente de açúcar, assim como o tempo de retenção de carboidratos fermentáveis na cavidade oral, pode impedir esses mecanismos, iniciando a doença e a desmineralização do esmalte⁵. Caso o microambiente acidificado persista, ocorre a substituição de bactérias não patogênicas por bactérias acidúricas e acidogênicas⁶. Nesse contexto, *Streptococcus mutans* é especialmente relevante devido aos seus fatores de virulência. Além de ser altamente acidogênico, é capaz de sobreviver em ambientes de baixo pH, desempenhando um papel crucial na etiologia da cárie dentária⁷.

As principais estratégias para o controle da cárie dentária envolvem a remoção mecânica dos biofilmes, a utilização de produtos fluoretados e controle dietético⁸. No entanto, em pacientes que apresentam alto risco para o desenvolvimento da doença, essas medidas podem não ser totalmente eficazes, sendo necessário o uso de terapias complementares, como o controle químico do biofilme oral⁹. A clorexidina é amplamente conhecida para essa finalidade, contudo, seu uso prolongado pode causar diversos efeitos adversos¹⁰. Além disso, seu efeito no controle de biofilmes maduros é limitado, pois apresenta baixa efetividade em biofilmes já desenvolvidos¹¹ e não há evidências científicas a respeito de sua eficácia na prevenção da cárie dentária^{12,13}. Embora os agentes fluoretados possam interferir no processo carioso ao reduzir a desmineralização e aumentar a remineralização, seu efeito na inibição da

formação do biofilme dentário - essencial para o desenvolvimento da doença – é limitado¹⁴.

Diante desses desafios, substâncias naturais com propriedades antimicrobianas têm se destacado devido ao seu efeito promissor no controle do biofilme oral, por não induzirem resistência microbiana, causando poucos efeitos colaterais^{15,16}. A morina (3, 5, 7, 2', 4' – pentahidroxiflavona) é um flavonoide de pigmento amarelo encontrado em plantas, frutas e ervas, especialmente da família Moraceae. Estudos demonstram que a morina possui várias propriedades biológicas e farmacológicas, como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anticancerígenos, antidiabéticos, cardioprotetores e hepatoprotetores. Ainda, estudos indicam que a morina apresenta potencial antimicrobiano, podendo interferir na maturação do biofilme, destruir a membrana celular, regular negativamente os mecanismos de resistência bacteriana, além de apresentar baixa citotoxicidade^{17,18}. No entanto, a morina possui estabilidade limitada, podendo ser facilmente degradada ou transformada em compostos inativos. Sua baixa solubilidade e biodisponibilidade também são desafios para a sua distribuição no local desejado^{19,20}. O desenvolvimento de sistemas baseados em polímeros naturais para a encapsulação do composto ativo é considerado uma excelente alternativa para melhorar essas limitações.

Com isso, há um interesse crescente no estudo e desenvolvimento de nanopartículas poliméricas, principalmente utilizando biopolímeros. A literatura documenta amplamente que as nanopartículas podem penetrar mais facilmente em biofilmes maduros, células e na matriz do biofilme²¹⁻²³. Além disso, quanto menor o diâmetro da nanopartícula, maior é a área de superfície e mais acentuado é o efeito antimicrobiano do agente, pois ele é entregue diretamente à bactéria, permitindo o uso de doses menores e reduzindo a toxicidade do medicamento em comparação com sua forma livre^{21,24}. Adicionalmente, essa tecnologia melhora a estabilidade do composto ativo e ajuda a preservá-lo em ambientes com alta umidade, acidez, calor, altos níveis de oxigênio e exposição à luz – condições frequentemente presentes na cavidade oral^{25,26}. Assim, essa abordagem pode atuar em nível molecular com maior afinidade e eficiência em relação à micro e macro componentes²⁷.

Dentre as várias opções de biopolímeros, a fibroína de seda (FS) tem sido extensivamente utilizada no campo biomédico devido à sua versatilidade, destacando-se por sua biodegradabilidade, excelente biocompatibilidade, propriedades mecânicas

superiores às de outros polímeros naturais e capacidade de se ligar a diversos medicamentos, podendo estabilizar tanto moléculas hidrofílicas quanto hidrofóbicas em solução aquosa. Essas características, juntamente às condições de preparo favoráveis, tornam as nanopartículas baseadas em FS (NPFS) um sistema promissor para a administração controlada de medicamentos²⁸⁻³⁰. Além disso, as propriedades físicas e químicas das NPFS podem ser projetadas para melhorar a eficiência terapêutica de diferentes compostos bioativos³¹⁻³⁴, controlando o comportamento de liberação por meio do ajuste de sua cristalinidade, que está associada ao aumento do conteúdo de folha β na estrutura da fibroína³⁵. Dessa forma, estratégias para criar partículas com variados tamanhos e conformações secundárias e com maior estabilidade têm sido exploradas^{32,34}. Ademais, NPFS demonstraram liberação dependente do pH³¹, o que apresenta uma vantagem adicional para o controle do biofilme cariogênico.

Dada a elevada prevalência de cárie dentária, o desenvolvimento de nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina se mostra uma alternativa interessante para o controle do biofilme oral.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, é possível concluir que:

- As nanopartículas baseadas em fibroína de seda contendo morina foram desenvolvidas e sintetizadas com sucesso;
- As nanopartículas apresentaram tamanho nanométrico, distribuição uniforme e estabilidade ao longo do período de análise, conforme confirmado pelas imagens de MET. Além disso, apresentaram estrutura cristalina e mostraram-se eficientes na encapsulação da morina;
- O perfil de liberação das nanopartículas foi gradual e dependente do pH;
- As nanopartículas demonstraram atividade antimicrobiana, antibiofilme e antiacidogênica contra *S. mutans*.

REFERÊNCIAS*

1. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A et al. Terminology of dental caries and dental caries management: consensus report of a workshop organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020; 54(1): 7-14.
2. Phantumvanit P, Makino Y, Ogawa H, Rugg-Gunn A, Moynihan P, Petersen PE et al. WHO Global Consultation on Public Health Intervention against Early Childhood Caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2018; 46(3): 280-7
3. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015; 94(5): 650-8.
4. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Primária à Saúde, Departamento de Saúde da Família. SB Brasil 2021-2022: Pesquisa nacional de saúde bucal: projeto técnico. Brasília: Ministério da Saúde; 2022.
5. Mathur VP, Dhillon JK. Dental caries: a disease which needs attention. *Indian J Pediatr.* 2018; 85(3): 202-6
6. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res.* 2008; 42(6): 409-18.
7. Mattos-Graner RO, Klein MI, Smith DJ. Lessons learned from clinical studies: roles of mutans streptococci in the pathogenesis of dental caries. *Curr Oral Health Rep.* 2014; 1: 70-8.
8. Rabe P, Twetman S, Kinnby B, Svensäter G, Davies JR. Effect of fluoride and chlorhexidine digluconate mouthrinses on plaque biofilms. *Open Dent J.* 2015; 9: 106-11.
9. Jafer M, Patil S, Hosmani J, Bhandi SH, Chalisserry EP, Anil S. Chemical plaque control strategies in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *J Contemp Dent Pract.* 2016; 17(4): 337-343.
10. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine—pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015; 19(7): 1321-6.
11. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2007; 78(11): 2127-34.
12. Saleem HG, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiol.* 2016; 16: 214.

* 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>

13. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010; 89(11): 1187-97.
14. Tenuta LM, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res*. 2010; 24(1): 9-17.
15. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens*. 2020; 9(7): 569.
16. Huang L, Ahmed S, Gu Y, Huang J, An B, Wu C, Zhou Y, Cheng G. The effects of natural products and environmental conditions on antimicrobial resistance. *Molecules*. 2021; 26(14): 4277
17. 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: 111511.
18. Caselli A, Cirri P, Santi A, Paoli P. Morin: a promising natural drug. *Curr Med Chem*. 2016; 23(8): 774-91.
19. Shoji Y, Nakashima H. Nutraceuticals and delivery systems. *J Drug Target*. 2004; 12(6): 385-91.
20. Yazdanshenas R, Gharib F. Solubility and thermodynamic functions measurement of morin hydrate in different alcohols. *J Mol Liq*. 2017; 233(C): 9–14.
21. Liu Y, Shi L, Su L, Van der Mei HC, Jutte PC, Ren Y, et al. Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for biofilm-infection control. *Chem Soc Rev*. 2019; 48(2): 428-46.
22. Kim MH. Nanoparticle-based therapies for wound biofilm infection: opportunities and challenges. *IEEE Trans Nanobioscience*. 2016; 15(3): 294-304.
23. Zhou K, Li C, Chen D, Pan Y, Tao Y, Qu W, Liu Z, Wang X, Xie S. A review on nanosystems as an effective approach against infections of *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomedicine*. 2018; 13: 7333-47.
24. Chen H, Gu L, Liao B, Zhou X, Cheng L, Ren B. Advances of anti-caries nanomaterials. *Molecules*. 2020; 25(21): 5047.
25. Katouzian I, Jafari SM. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends Food Sci Technol*. 2016; 53: 34-48.
26. Noh J, Kim J, Kim JS, Chung YS, Chang ST, Park J. Microencapsulation by pectin for multi-components carriers bearing both hydrophobic and hydrophilic active agents. *Carbohydr Polym*. 2018; 182: 172-9.

27. Oliveira AF, Sousa EB, Fernandes NL, Meira IA, Lavôr JR, Chaves AM, Sampaio FC. Effect of treatment time on performance of nano-encapsulated fluoride dentifrices for remineralization of initial carious lesions: an in vitro study. *Acta Odontol Latinoam*. 2021; 34(1): 56-62.
28. Germershaus O, Werner V, Kutscher M, Meinel L. Deciphering the mechanism of protein interaction with silk fibroin for drug delivery systems. *Biomaterials*. 2014; 35(10): 3427-34.
29. Li AB, Kluge JA, Guziewicz NA, Omenetto FG, Kaplan DL. Silk-based stabilization of biomacromolecules. *J Control Release*. 2015; 219: 416-30.
30. Wongpinyochit T, Uhlmann P, Urquhart AJ, Seib FP. PEGylated silk nanoparticles for anticancer drug delivery. *Biomacromolecules*. 2015; 16(11): 3712-22.
31. Xiao L, Lu G, Lu Q, Kaplan DL. Direct formation of silk nanoparticles for drug delivery. *ACS Biomater Sci Eng*. 2016; 2(11): 2050-7.
32. da Silva RR, Dominguez CT, dos Santos MV, Barbosa-Silva R, Cavicchioli M, Christovan LM, de Melo LS, Gomes ASL, de Araújo CB, Ribeiro SJL. Silk fibroin biopolymer films as efficient hosts for DFB laser operation. *J Mater Chem C*. 2013; 1(43): 7181-90
33. Schultz I, Vollmers F, Lühmann T, Rybak JC, Wittmann R, Stank K, et al. Pulmonary insulin-like growth factor I delivery from trehalose and silk-fibroin microparticles. *ACS Biomater Sci Eng*. 2015; 1(2): 119-29.
34. Abdel-Fattah WI, Atwa N, Ali GW. Influence of the protocol of fibroin extraction on the antibiotic activities of the constructed composites. *Prog Biomater*. 2015; 4: 77-88.
35. Murphy AR, Kaplan DL. Biomedical applications of chemically-modified silk fibroin. *J Mater Chem*. 2009; 19(36): 6443-6450.
36. GBD 2017 Oral Disorders Collaborators, Bernabe E, Marcenes W, Hernandez CR, Bailey J, Abreu LG. Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017: A systematic analysis for the global burden of disease 2017 study. *J Dent Res*. 2020; 99(4): 362-373.
37. Valen H, Scheie AA. Biofilms and their properties. *Eur J Oral Sci*. 2018; 126(1): 13-18.
38. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res*. 2009; 88(11): 982-990.
39. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(18):12-22.
40. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14(9): 563-75.

41. Liu Y, Ren Z, Hwang G, Koo H. Therapeutic strategies targeting cariogenic biofilm microenvironment. *Adv Dent Res.* 2018; 29(1): 86-92.
42. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res.* 2011; 90(3): 294-303.
43. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res.* 2011; 45(1): 69-86.
44. Liao Y, Brandt BW, Li J, Crielaard W, Van Loveren C, Deng DM. Fluoride resistance in *Streptococcus mutans*: a mini review. *J Oral Microbiol.* 2017; 9(1): 1344509.
45. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* 2001; 65(10): 1028-1037.
46. Sälzer S, Slot DE, Van der Weijden FA, Dörfer CE. Efficacy of inter-dental mechanical plaque control in managing gingivitis--a meta-review. *J Clin Periodontol.* 2015; 42(16): 92-105.
47. Van der Weijden FA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis a meta review. *J Clin Periodontol.* 2015; 42(16): 77-91.
48. Needleman I, Nibali L, Di Iorio A. Professional mechanical plaque removal for prevention of periodontal diseases in adults-systematic review update. *J Clin Periodontol.* 2015; 42(16): 12-35.
49. Bradshaw DJ, Lynch RJ. Diet and the microbial aetiology of dental caries: new paradigms. *Int Dent J.* 2013; 63(2): 64-72.
50. Harris R. Biology of the children of Hopewood House, Bowral, Australia. 4. Observations on dental-caries experience extending over five years (1957-61). *J Dent Res.* 1963; 42: 1387-1399.
51. Cury JA, do Amaral RC, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP. Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118(4): 370-375.
52. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019; 3(3): CD007868
53. ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ. The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res.* 2006; 40(2): 136-141.
54. Ingale PC, Tandon N, Mohapatra A, Pavithra BN, Roy A, Bhargava T. Recent Advances in Caries Prevention-An Update. *J Pharm Bioallied Sci.* 2024; 16(1): 35-37.

55. Kalaivani, V., & Ramiya, R.A. (2021). Recent advances in caries prevention – A review article. *Int J of Community Dent.* 2021; 9: 66 - 9.
56. Stockley C, Teissedre PL, Boban M, Di Lorenzo C, Restani P. Bioavailability of wine-derived phenolic compounds in humans: a review. *Food Funct.* 2012; 3(10): 995-1007.
57. Di Lorenzo C, Colombo F, Biella S, Stockley C, Restani P. Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients.* 2021; 13(1): 273.
58. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79(5): 727–47
59. D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* 2007; 43(4): 348-361.
60. Nabavi S.M., Šamec D., Tomczyk M., Milella L., Russo D., Habtemariam S., et al. Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnol. Adv.* 2018; 38: 107316.
61. Murota K, Nakamura Y, Uehara M. Flavonoid metabolism: the interaction of metabolites and gut microbiota. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2018; 82(4): 600-10.
62. Tan OJ, Loo HL, Thiagarajah G, Palanisamy UD, Sundralingam U. Improving oral bioavailability of medicinal herbal compounds through lipid-based formulations - A Scoping Review. *Phytomedicine.* 2021; 90: 153651.
63. Zhao J, Yang J, Xie Y. Improvement strategies for the oral bioavailability of poorly water-soluble flavonoids: An overview. *Int J Pharm.* 2019; 570: 118642.
64. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent.* 2009; 37(6): 413-423.
65. Cushnie TP, Lamb AJ. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents.* 2011; 38(2): 99-107.
66. Gutiérrez-Venegas G, Gómez-Mora JA, Meraz-Rodríguez MA, Flores-Sánchez MA, Ortiz-Miranda LF. Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque. *Heliyon.* 2019; 5(12): e03013.
67. Wu D, Hao L, Liu X, Li X, Zhao G. The Anti-Biofilm Properties of Phloretin and Its Analogs against *Porphyromonas gingivalis* and Its Complex Flora. *Foods.* 2024; 13(13): 1994.
68. Rudin L, Bornstein MM, Shyp V. Inhibition of biofilm formation and virulence factors of cariogenic oral pathogen *Streptococcus mutans* by natural flavonoid phloretin. *J Oral Microbiol.* 2023; 15(1): 2230711.
69. Han S, Abiko Y, Washio J, Luo Y, Zhang L, Takahashi N. Green Tea-Derived Epigallocatechin Gallate Inhibits Acid Production and Promotes the Aggregation

- of *Streptococcus mutans* and Non-Mutans *Streptococci*. *Caries Res.* 2021; 55(3): 205-214.
70. Memariani H, Memariani M, Ghasemian A. An overview on anti-biofilm properties of quercetin against bacterial pathogens. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019; 35(9): 143.
 71. Gutiérrez RM, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* 2008; 117(1): 1-27.
 72. Venu Gopal, J. Morin hydrate: botanical origin, pharmacological activity and its applications: a minireview. *Pharmacogn J.* 2013; 5: 123–26.
 73. Thakur K, Zhu YY, Feng JY, Zhang JG, Hu F, Prasad C et al. Morin as an imminent functional food ingredient: an update on its enhanced efficacy in the treatment and prevention of metabolic syndromes. *Food Funct.* 2020; 11(10): 8424-43.
 74. Nag D, Dastidar DG, Chakrabarti G. Natural flavonoid morin showed anti-bacterial activity against *Vibrio cholera* after binding with cell division protein FtsA near ATP binding site. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2021; 1865(8): 129931
 75. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Curr Med Chem.* 2015; 22: 132-49
 76. Dramsi S, Bierne H. Spatial Organization of Cell Wall-Anchored Proteins at the Surface of Gram-Positive Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2017; 404:177-201.
 77. Kumari P, Bowmik S, Paul SK, Biswas B, Banerjee S, Murty US et al. Sortase A: A chemoenzymatic approach for the labeling of cell surfaces. *Biotechnol Bioeng.* 2021; 118(12): 4577-89
 78. Xu H, Ziegelin G, Schröder W, Frank J, Ayora S, Alonso JC, Lanka E, Saenger W. Flavones inhibit the hexameric replicative helicase RepA. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29(24): 5058-66.
 79. Yang, JY., Lee, HS. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of morin isolated from mulberry fruits (*Morus alba* L.). *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2012; 55, 485–89.
 80. Chemmugil P, Lakshmi PTV, Annamalai A. Exploring Morin as an anti-quorum sensing agent (anti-QSA) against resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog.* 2019; 127: 304-315.
 81. 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.

82. 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: 1944-58.
83. 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.
84. Sales LS, Gimenes MDS, Meneguín AB, Barud HDS, Achcar JA, Brighenti FL. Development of multiparticulate systems based on natural polymers for morin controlled release. *Int J Biol Macromol*. 2023; 228: 1-12.
85. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 2019; 25(1): 112.
86. NNI – National Nanotechnology Initiative [homepage na Internet]. Alexandria, VA: National Nanotechnology Initiative; c2021 [acesso em 2025 jan 14]. Disponível em: <https://www.nano.gov/>
87. Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat Rev Drug Discov*. 2021; 20(2): 101-124.
88. Mary SM, Ramakrishnan M, Sudalaimani Paulpandian SD, Rajeshkumar S, Pringle J. Application of nanoparticles in Dentistry. *Bioinformation*. 2023; 19(1): 14-18.
89. Benoit DSW, Sims KR Jr, Fraser D. Nanoparticles for Oral Biofilm Treatments. *ACS Nano*. 2019; 13(5): 4869-75.
90. Gupta A, Landis RF, Rotello VM. Nanoparticle-Based Antimicrobials: Surface Functionality is Critical. *F1000Res*. 2016; 5: 1-10
91. Wang LS, Gupta A, Rotello VM. Nanomaterials for the Treatment of Bacterial Biofilms. *ACS Infect Dis*. 2016; 2(1): 3-4.
92. Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release*. 2011; 156(2): 128-145.
93. Li X, Yeh YC, Giri K, et al. Control of nanoparticle penetration into biofilms through surface design. *Chem Commun (Camb)*. 2015;51(2):282-285.
94. Sims KR, Liu Y , Hwang G , Jung HI , Koo H , Benoit DSW . Enhanced design and formulation of nanoparticles for anti-biofilm drug delivery. *Nanoscale*. 2018; 11(1): 219-236.
95. Zhou J, Horev B, Hwang G, Klein MI, Koo H, Benoit DS. Characterization and optimization of pH-responsive polymer nanoparticles for drug delivery to oral biofilms. *J Mater Chem B*. 2016; 4(18): 3075-3085.

96. Wong Po Foo C, Kaplan DL. Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54(8): 1131-43.
97. von Byern J, Chandler P, Merritt D, Adlassnig W, Stringer I, Meyer-Rochow VB et al. Biomechanical properties of fishing lines of the glowworm *Arachnocampa luminosa* (Diptera; Keroplatidae). *Sci Rep.* 2019; 9(1): 3082.
98. Vepari C, Kaplan DL. Silk as a Biomaterial. *Prog Polym Sci.* 2007; 32(8-9): 9
99. Pollini M, Paladini F. The Emerging Role of Silk Fibroin for the Development of Novel Drug Delivery Systems. *Biomimetics (Basel).* 2024; 9(5): 295.
100. Melke J, Midha S, Ghosh S, Ito K, Hofmann S. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2016; 31: 1-16.
101. Jiao Z, Song Y, Jin Y, Zhang C, Peng D, Chen Z et al. In vivo characterizations of the immune properties of sericin: an ancient material with emerging value in biomedical applications. *Macromol Biosci.* 2017; 17(12): 10.
102. Lamboni L, Gauthier M, Yang G, Wang Q. Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. *Biotechnol Adv.* 2015; 33(8): 1855-67.
103. Zhou CZ, Confalonieri F, Jacquet M, Perasso R, Li ZG, Janin J. Silk fibroin: structural implications of a remarkable amino acid sequence. *Proteins.* 2001; 44(2): 119-122.
104. Wang Y, Rudym DD, Walsh A, Abrahamsen L, Kim HJ, Kim HS et al. In vivo degradation of three-dimensional silk fibroin scaffolds. *Biomaterials.* 2008; 29(24-25): 3415-28.
105. Bucciarelli A, Motta A. Use of *Bombyx mori* silk fibroin in tissue engineering: From cocoons to medical devices, challenges, and future perspectives. *Biomater Adv.* 2022; 139: 212982.
106. Chou KC, Chen CT, Cherng JH, Li MC, Wen CC, Hu S et al. Cutaneous regeneration mechanism of β -sheet silk fibroin in a rat burn wound healing model. *Polymers (Basel).* 2021; 13(20): 3537.
107. Mazurek Ł, Szudzik M, Rybka M, Konop M. silk fibroin biomaterials and their beneficial role in skin wound healing. *Biomolecules.* 2022; 12(12): 1852.
108. Dorishetty P, Dutta NK, Choudhury NR. Silk fibroins in multiscale dimensions for diverse applications. *RSC Adv.* 2020; 10(55): 33227-47.
109. Wang J, Yin Z, Xue X, Kundu SC, Mo X, Lu S. Natural non-mulberry silk nanoparticles for potential-controlled drug release. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(12): 2012.
110. Fu F., Liu D., Wu Y. Silk-based conductive materials for smart biointerfaces. *Smart Med.* 2023; 2: e20230004.

111. Yavuz B, Chambre L, Harrington K, Kluge J, Valenti L, Kaplan DL. Silk fibroin microneedle patches for the sustained release of levonorgestrel. *ACS Appl Bio Mater*. 2020; 3(8): 5375-82.
112. Qu J, Liu Y, Yu Y, Li J, Luo J, Li M. Silk fibroin nanoparticles prepared by electrospray as controlled release carriers of cisplatin. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014; 44: 166-174.
113. Karatepe UY, Ozdemir T. Improving mechanical and antibacterial properties of PMMA via polyblend electrospinning with silk fibroin and polyethyleneimine towards dental applications. *Bioact Mater*. 2020; 5(3): 510-515.
114. Brighenti FL, Salvador MJ, Delbem AC, Oliveira MA, Soares CP, Freitas LS, Koga-Ito CY. Systematic screening of plant extracts from the Brazilian Pantanal with antimicrobial activity against bacteria with cariogenic relevance. *Caries Res*. 2014; 48(5): 353-60.
115. Albuquerque YE, Danelon M, Salvador MJ, Koga-Ito CY, Botazzo Delbem AC, 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: 631-43.
116. Jangid AK, Pooja D, Kulhari H. Determination of solubility, stability and degradation kinetics of morin hydrate in physiological solutions. *RSC Adv*. 2018; 8(50): 28836-42.
117. Kováč J, Slobodníková L, Trajčíková E, Rendeková K, Mučaji P, Sychrová A et al. Therapeutic potential of flavonoids and tannins in management of oral infectious diseases: a review. *Molecules*. 2022; 28(1): 158.
118. Liu Y, Yang G, Jin S, Xu L, Zhao CX. Development of High-Drug-Loading Nanoparticles. *Chempluschem*. 2020; 85(9): 2143-57.
119. Shi P, Abbah SA, Saran K, Zhang Y, Li J, Wong HK, Goh JC. Silk fibroin-based complex particles with bioactive encrustation for bone morphogenetic protein 2 delivery. *Biomacromolecules*. 2013; 14(12): 4465-74
120. Xie MX, Long M, Liu Y, Qin C, Wang YD. Characterization of the interaction between human serum albumin and morin. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1760(8): 1184-91.
121. Sales LS. Evaluation of morin and carvacrol loaded-nanoparticles on oral polymicrobial biofilm control [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.
122. Bruschi M. Strategies to Modify the drug release from pharmaceutical systems. 1st ed. Cambridge: Woodhead Publishing; 2015.
123. Hixson, A.W., & Crowell, J.H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Ind Eng Chem Res*. 1931; 23: 1002-9.

124. Lin PC, Lin S, Wang PC, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnol Adv.* 2014; 32(4): 711-26.
125. Queiroz-Souza P, Galue-Parra A, Moraes LS, Macedo CG, Rodrigues APD, Marinho VHS et al. Polymeric nanoparticles containing kojic acid induce structural alterations and apoptosis-like death in *Leishmania* (*Leishmania amazonensis*). *Front Pharmacol.* 2024; 15: 1331240.
126. Montalbán MG, Coburn JM, Lozano-Pérez AA, Cenis JL, Vllora G, Kaplan DL. Production of curcumin-loaded silk fibroin nanoparticles for cancer therapy. *Nanomaterials (Basel).* 2018; 8(2): 126.
127. Mondal S, Das S, Mahapatra PK, Saha KD. Morin encapsulated chitosan nanoparticles (MCNPs) ameliorate arsenic-induced liver damage through improvement of the antioxidant system and prevention of apoptosis and inflammation in mice. *Nanoscale Adv.* 2022; 4(13): 2857-72.
128. Hua Z, Li Y, Chen T, Wu D, Xu Y, Hu JN. Morin-based nanoparticles for regulation of blood glucose. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2024; 16(17): 21400-14.
129. Koo H, Falsetta ML, Klein MI. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. *J Dent Res.* 2013; 92(12): 1065-73.