

UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

HEIDE MENDONÇA MOREIRA DE SOUZA

**EFETIVIDADE DO EXTRATO DE *PLANTAGO MAJOR* L.
FRENTE AO *STREPTOCOCCUS MUTANS***

São Paulo

2024

HEIDE MENDONÇA MOREIRA DE SOUZA

**EFETIVIDADE DO EXTRATO DE *PLANTAGO MAJOR* L.
FRENTE AO *STREPTOCOCCUS MUTANS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre Odontologia.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Cristina Lúcia Feijó Ortolani

Co-orientadora:
Prof.^a Dr.^a Ivana B. Suffredini

**São Paulo
2024**

Souza, Heide Mendonça Moreira de.
Efetividade do extrato de *Plantago major* L. frente ao
Streptococcus mutans / Heide Mendonça Moreira de Souza. - 2024.
15f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Odontologia, São Paulo, 2024.

Área de concentração: Clínica Odontológica.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cristina Lucia Feijó.
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ivana Barbosa Suffredini.

1. Tanchagem. 2. Plantaginacea. 3. Cromatografia em camada
delgada. 4. Biofilme dentário. 5. Fitoterapia. 6. Cárie dentária.
I. Feijó, Cristina Lucia (orientadora). II. Suffredini, Ivana Barbosa
(coorientadora). III. Título.

UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

**EFETIVIDADE DO EXTRATO DE *PLANTAGO MAJOR* L.
FRENTE AO *STREPTOCOCCUS MUTANS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre Odontologia.

Aprovado em:

Banca Examinadora

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Cristina Lúcia Feijó Ortolani
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Ivana Barbosa Suffredini
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Diego Portes Vieira Leite
Universidade Brasil



Vice-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa



Mensagem de agradecimento ao CAPES/PROSUP

Gostaria de manifestar minha mais profunda gratidão ao CAPES/PROSUP por ter me concedido a bolsa de estudos durante os dois anos de meu curso de Mestrado em Clínica Odontológica, na subárea de ortodontia, na Universidade Paulista. Este apoio financeiro foi fundamental para que eu pudesse dedicar-me integralmente aos meus estudos e à pesquisa, permitindo-me alcançar um alto nível de excelência acadêmica e profissional. Agradeço sinceramente pela confiança depositada em meu potencial e pelo investimento em minha formação. Este incentivo foi essencial para o meu desenvolvimento e será sempre lembrado com grande apreço.

Atenciosamente

Heide Mendonça Moreira de Souza

RESUMO

O presente estudo investiga o extrato de *Plantago major* L. frente ao *Streptococcus mutans*, utilizando métodos de disco difusão em ágar e bioautografia como testes antimicrobianos, além de testes antioxidantes com 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e β -caroteno. Avalia-se a capacidade antimicrobiana do extrato de *Plantago major* em comparação com a clorexidina 0,12% e 1%, reconhecida como padrão-ouro no controle bacteriano. Os resultados indicam que, embora os halos de inibição produzidos por *Plantago major* foram menores que os da clorexidina, o extrato apresentou uma atividade antimicrobiana consistente. Além disso, os testes antioxidantes demonstraram a capacidade do extrato de neutralizar radicais livres, sugerindo um benefício adicional na promoção da saúde bucal. Destaca-se a importância de avançar na exploração de fitoterápicos na odontologia para obter uma gestão eficaz do biofilme dental e prevenção da cárie, alinhando-se aos objetivos de saúde bucal sustentável e minimizando os impactos adversos dos tratamentos tradicionais. Este estudo conclui que *Plantago major* é uma opção terapêutica promissora. Ele pode servir como complemento aos tratamentos existentes, especialmente considerando a necessidade urgente de novas abordagens devido ao aumento da resistência antimicrobiana e aos efeitos colaterais dos antimicrobianos convencionais.

Palavras-chave: Tanchagem; Plantaginacea; Cromatografia em camada delgada; Biofilme dentário; Fitoterapia; Cárie dentária.

ABSTRACT

This study investigates the extract of *Plantago major* L. against *Streptococcus mutans*, using agar disk diffusion and bioautography methods as antimicrobial tests, in addition to antioxidant tests with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and β -carotene. The antimicrobial capacity of the *Plantago major* extract is evaluated in comparison with chlorhexidine 0.12% and 1%, recognized as the gold standard in bacterial control. The results indicate that although the inhibition zones produced by *Plantago major* were smaller than those of chlorhexidine, the extract showed consistent antimicrobial activity. Additionally, the antioxidant tests demonstrated the extract's ability to neutralize free radicals, suggesting an additional benefit in promoting oral health. The importance of advancing the exploration of phytotherapeutics in dentistry is highlighted to achieve effective dental biofilm management and caries prevention, aligning with sustainable oral health goals and minimizing the adverse impacts of traditional treatments. This study concludes that *Plantago major* is a promising therapeutic option. It can serve as a complement to existing treatments, especially considering the urgent need for new approaches due to the increase in antimicrobial resistance and the side effects of conventional antimicrobials.

Key-words: *Plantago*; Plantaginaceae; Thin-layer chromatography; Dental biofilm; Phytotherapy; Dental caries.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	7
CONCLUSÃO GERAL.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

INTRODUÇÃO GERAL

A cárie dentária representa uma das doenças crônicas mais prevalentes globalmente. Esta condição multifatorial é causada por diversos elementos, tais como a dieta alimentar, a anatomia dos dentes e a flora bacteriana presente na boca.[1] Neste contexto, *Streptococcus mutans* desempenha um papel central como agente causador da cárie dentária em seres humanos. O micro-organismo demonstra uma habilidade significativa na rápida metabolização de vários tipos de carboidratos, resultando na produção de ácido e assegurando sua sobrevivência em ambientes com baixo pH. Além disso, destaca-se por sua capacidade de produzir uma matriz extracelular, um fator crucial na formação de biofilme. Essa adaptabilidade permite que o *S. mutans* enfrente de modo eficaz os desafios ambientais comuns encontrados nos biofilmes orais, consolidando seu papel relevante nesse contexto [2].

Além de sua habilidade em gerar acidez, o *S. mutans* revela uma preferência por ambientes ácidos e desenvolveu estratégias que garantem sua sobrevivência nessas condições. Isso resulta em uma prevalência ampliada de *S. mutans* e outras bactérias que prosperam em ambientes ácidos [3-5].

O gerenciamento de infecções causadas por biofilmes microbianos representa um desafio global [6,7]. Ao longo dos anos, diversas estratégias têm sido adotadas para reduzir a presença de bactérias cariogênicas na cavidade oral e prevenir a formação de placas e cáries [8]. Essas abordagens englobam a diminuição do consumo de açúcar, a remoção mecânica da placa bacteriana e a utilização de agentes antissépticos como clorexidina, triclosan e cloreto de cetilpiridínio [9-11].

Amplamente reconhecida como a principal referência na prevenção da doença cárie, a clorexidina é extensivamente empregada devido à sua eficácia abrangente

contra bactérias. Classificada como uma bis-biguanida com carga positiva, a clorexidina é atraída para superfícies celulares negativamente carregadas, resultando na ruptura da membrana e liberação do conteúdo celular. Essa notável capacidade faz da clorexidina uma escolha proeminente na prevenção da cárie dentária [12].

Recentemente, pesquisadores têm focado significativamente no avanço de materiais que contenham clorexidina (CHX) para a prevenção de cáries dentárias [13,14]. Embora a CHX seja geralmente considerada segura, é importante não negligenciar seus efeitos secundários, especialmente em relação à resistência. Estudos têm validado que a exposição prolongada à CHX pode levar ao desenvolvimento de resistência por parte de *S. mutans* [15,16].

Estudos de Lindhe et al.,[17] observaram vários efeitos colaterais localizados associados ao uso de CHX, limitando assim sua aplicação como agente terapêutico. Esses efeitos secundários abrangem a descoloração dos dentes, alteração na percepção do paladar, irritação da mucosa oral, inchaço das glândulas parótidas e aumento na formação de cálculos supragengivais, resultantes do acúmulo de sais orgânicos e proteínas na saliva [18].

Ao longo da história, a investigação das propriedades medicinais das plantas tem sido uma prática contínua na busca por cura, tratamento e prevenção de doenças. Essa tradição ancestral reflete a constante procura por alternativas naturais que contribuam para aprimorar a qualidade de vida [19]. Em 1978, a Organização Mundial da Saúde [20] formalmente endossou a fitoterapia como uma prática eficiente em cuidados de saúde, incentivando a aplicação de plantas medicinais e preparações fitoterápicas [21]. Essa validação ressaltou as propriedades terapêuticas, preventivas e paliativas desses recursos naturais, sublinhando sua importância essencial no contexto da saúde global.

Plantago major L. é uma planta perene da família Plantaginaceae, originária da Europa e amplamente utilizada na medicina moderna e tradicional [22,23]. Suas folhas são predominantemente empregadas na preparação de extratos, óleos essenciais e pastas, com resultados notáveis no tratamento de feridas cutâneas. A eficácia é atribuída a diversos componentes fitoquímicos, como polissacarídeos, lipídios, derivados de ácido caféico, flavonoides, glicosídeos iridoides e terpenoides, conferindo propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, analgésicas, imunomoduladoras, anti-ulcerativas e antibióticas. Essas propriedades farmacológicas tornam *P. major* promissor para diversas aplicações biomédicas e regenerativas [24,25].

A eficácia cicatrizante do extrato de folhas foi confirmada por testes "*in vivo*" em animais e humanos, usando formas farmacológicas como pomada [26] e gel tópico [27]. Amini et al., (2010) exploraram o potencial regenerativo do extrato hidroalcoólico de *P. major* em queimaduras [28]. Experimentos "*in vivo*" em ratos variaram a concentração do extrato nos dias 7, 14 e 21. Análises histológicas revelaram variação significativa no grupo de animais que recebeu o extrato com concentração de 50% p/v, apresentando resultados terapêuticos a partir do 21º dia. Reina et al., (2013) examinaram os efeitos "*in vitro*" de baicaleína e aucubina (flavonoide e glicosídeo, respectivamente) presentes no extrato de folhas de *P. major*, evidenciando nenhuma citotoxicidade nos ensaios de lactato desidrogenase, além das boas propriedades antioxidantes da baicaleína, indicando seu potencial uso em curativos [29].

Em resumo, o presente estudo proporciona uma visão abrangente sobre a microbiota oral, o biofilme dental, *S. mutans*, a cárie dentária e o potencial antimicrobiano do extrato de *Plantago major*. A crescente importância da fitoterapia, especialmente no contexto da odontologia, destaca a necessidade contínua de

explorar alternativas naturais para o controle do biofilme dentário e a prevenção da cárie dental. O presente artigo relata o passo a passo de um experimento laboratorial utilizando extrato fluido de *Plantago major* como auxiliar no controle do *S. mutans* pelas técnicas de disco difusão em ágar e bioautografia para avaliar a atividade antimicrobiana e testes antioxidantes utilizando DPPH e β -caroteno.

Conclusão Geral

O presente estudo investigou o potencial do extrato de *Plantago major* como alternativa natural para o controle de *S. mutans*, um agente patogênico essencial no desenvolvimento de biofilmes orais e cárie dentária. Os resultados revelaram que, embora os halos de inibição gerados pelo extrato fossem inferiores aos da clorexidina, *Plantago major* exibiu uma consistente atividade antimicrobiana e propriedades antioxidantes notáveis. Essas descobertas reforçam o valor adicional do extrato na promoção da saúde bucal, integrando-se à busca por soluções naturais que possam tanto complementar quanto proporcionar vantagens sobre os métodos convencionais. *Plantago major* apresenta-se como uma opção promissora frente aos antimicrobianos sintéticos, oferecendo tratamento com menores efeitos adversos. As propriedades antioxidantes do extrato reforçam seu potencial terapêutico, sugerindo usos adicionais na prevenção de patologias bucais. O presente trabalho está alinhado com o movimento global por soluções de saúde mais sustentáveis e com menor impacto ambiental.

A eficácia clínica do extrato requer investigações futuras para aprimorar suas formulações e compreender melhor as possíveis sinergias com outros compostos. A adoção de extratos naturais como *Plantago major* pode mitigar os riscos relacionados aos efeitos adversos dos antimicrobianos tradicionais, resultando em uma saúde bucal menos comprometida. Contribui também para enriquecer as estratégias de manejo do biofilme dental e prevenção da doença cárie, adicionando opções complementares aos métodos já estabelecidos. A exploração de alternativas naturais surge como um vetor crucial frente ao aumento da resistência antimicrobiana, pavimentando o caminho para novas abordagens terapêuticas.

Em conclusão, *Plantago major* se destaca como um complemento valioso ao leque atual de antimicrobianos na odontologia, ainda que não seja um substituto completo. A análise equilibrada entre os benefícios e desafios evidencia a necessidade de pesquisa contínua para maximizar sua eficácia e aplicabilidade como uma opção complementar na manutenção e promoção da saúde bucal.

Referências bibliográficas

- 1- Thakur S, Habib R. Comparison of Antimicrobial Efficacy of Green Tea, Garlic with Lime, and Sodium Fluoride Mouth Rinses against *Streptococcus mutans*, Lactobacilli species, and *Candida albicans* in Children: A Randomized Double-blind Controlled Clinical Trial. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2017;10(3):234-9.
- 2- Chen DR, Lin HC. Research updates: cariogenic mechanism of *Streptococcus mutans*. *J Sichuan Univ Med Sci Ed*. 2022;53(2):208–213. doi: 10.12182/20220360508
- 3- Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res*. 2011;90(3):294–303. doi:10.1177/0022034510379602
- 4- Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr*. 2019;7. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018
- 5- Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of Oral streptococci. *Microbiol Spectr*. 2018;6(5). doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018
- 6- Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinkeel R. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*. 2023;11:1614.
- 7- Hanson KE, Banerjee R, Doernberg SB, Evans SR, Komarow L, Satlin MJ, Schwager N, Simner PJ, Tillekeratne LG, Patel R, et al. Priorities and Progress in Diagnostic Research by the Antibacterial Resistance Leadership Group. *Clin Infect Dis*. 2023;77(Suppl. 4):S314–S320.
- 8- Philip N, Suneja B. The revolutionary evolution in carious lesion management. *J Conserv Dent*. 2023;26:249–257. doi: 10.4103/jcd.jcd_54_23.
- 9- Yazicioglu O, Ucuncu MK, Guven K. Ingredients in commercially available mouthwashes: a review. *Int Dent J*. 2023;S0020-6539:437–439. doi: 10.1016/j.identj.2023.08.004.
- 10- Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of antibiotics/antimicrobial agents on dental caries. *Biomed Res Int*. 2020;2020:1– 11. doi: 10.1155/2020/5658212.
- 11- Marsh PD. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *J Dent*. 2010;38 Suppl 1:S11-5. doi: 10.1016/S0300-5712(10)70005-1.

- 12- Brookes Z, McGrath C, McCullough M. Antimicrobial mouthwashes: An overview of mechanisms—What do we still need to know? *Int Dent J*. 2023;73(Suppl 2):S64-S68.
- 13- Wang S, Fang L, Zhou H, Wang M, Zheng H, Wang Y, Weir MD, Masri R, Oates TW, Cheng L, et al. Silica nanoparticles containing nano-silver and chlorhexidine respond to pH to suppress biofilm acids and modulate biofilms toward a non-cariogenic composition. *Dent Mater*. 2024;40:179-189.
- 14- Boaro LCC, Campos LM, Varca GHC, dos Santos TMR, Marques PA, Sugii MM, Saldanha NR, Cogo-Müller K, Brandt WC, Braga RR, et al. Antibacterial resin-based composite containing chlorhexidine for dental applications. *Dent Mater*. 2019;35:909-918.
- 15- Huang S, Wu M, Li Y, Du J, Chen S, Jiang S, Huang X, Zhan L. The *dlt* operon contributes to the resistance to chlorhexidine in *Streptococcus mutans*. *Int J Antimicrob Agents*. 2022;59:106540.
- 16- Kaspar JR, Godwin MJ, Velsko IM, Richards VP, Burne RA. Spontaneously arising *Streptococcus mutans* variants with reduced susceptibility to chlorhexidine display genetic defects and diminished fitness. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(7).
- 17- Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 6th ed. Copenhagen: Blackwell Munksgaard; 2015.
- 18- Shah SV, Badakar CM, Hugar SM, Hallikerimath S, Gowtham K, Mundada MV. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and herbal mouth rinse on salivary *Streptococcus mutans* in children with mixed dentition: A randomized crossover study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2022 Jan 1;15(1):99–103.
- 19- Braga JCB, da Silva LR. Consumo de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: perfil de consumidores e sua relação com a pandemia de COVID-19. *Revista Brasileira de Revisão de Saúde*. 2021;1.
- 20- Organização Mundial da Saúde. *Declaração de Alma-Ata: primeira conferência internacional sobre cuidados primários de saúde*. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 1978.
- 21- Patrício KP, et al. O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. *Ciênc Saúde Coletiva* [online]. 2022;27(2):677-686.
- 22- Zubair M, Ekholm A, Nybom H, Renvert S, Widen C, Rumpunen K. Effects of *Plantago major* L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay. *J Ethnopharmacol*. 2012;141(3):825-830. doi: 10.1016/j.jep.2012.03.016.
- 23- - Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol*. 2000;71(1-2):1-21. doi: 10.1016/S0378-8741(00)00212-9.

- 24- Farid A, Sheibani M, Shojaii A, Noori M, Motevalian M. Evaluation of anti-inflammatory effects of leaf and seed extracts of *Plantago major* on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *J Ethnopharmacol.* 2022;298:115595. doi: 10.1016/j.jep.2022.115595.
- 25- Silva Neto, A.R.; Sousa, A.C.S.O.; Camboim, L.F.R.; da Silva, J.P.R.; Maia Filho, A.L.M.; Leal, F.R.; Costa, C.A.C.B.; Freitas, J.M.D.; de Freitas, J.D.; Marques, R.B.; Uchôa, V.T. Phytochemical profile and analgesic Activity of the extract from *Plantago major* L. *Rev. Virtual Quim.* 2023, 1-11. <http://doi.org/10.21577/1984-6835.20220104>
- 26- Keshavari A, Montaseri H, Akrami R, Saravestani HM, Khosravi F, Foolad S, Zardosht M, Zareie S, Saharkhiz MJ, Shahriarirad R. Therapeutic efficacy of great plantain (*Plantago major* L.) in the treatment of second-degree burn wounds: A case-control study. *Int J Clin Pract.* 2022;2022:4923277. doi: 10.1155/2022/4923277.
- 27- Ghanadian M, Soltani R, Homayouni A, Khorvash F, Jouabadi SM, Abdollahzadeh M. The effect of *Plantago major* hydroalcoholic extract on the healing of diabetic foot and pressure ulcers: A randomized open-label controlled clinical trial. *Int J Low Extrem Wounds.* 2022;2022:1-7. doi: 10.1177/15347346211070723.
- 28- Amini M, Kherad M, Mehrabani D, Azarpira N, Panjehshahin MR, Tanideh N. Effect of *Plantago major* on burn wound healing in rat. *J Appl Anim Res.* 2010;37:53-56. doi: 10.1080/09712119.2010.9707093.
- 29- Reina E, Al-Shibani N, Allam E, Gregson KS, Kowolik M, Windson J. The effects of *Plantago major* on the activation of the neutrophil respiratory burst. *J Tradit Complement Med.* 2013;3(4):268–272. doi: 10.4103/2225-4110.119706.