

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ODONTOLOGIA

**Extrato vegetal incorporado ao cimento de ionômero
de vidro como agente fotossensibilizador para
Terapia Fotodinâmica antimicrobiana sobre
*Streptococcus mutans***

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

MICHELLE MAZZIERO MACEDO CHIODE

SÃO PAULO

2021

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ODONTOLOGIA

**Extrato vegetal incorporado ao cimento de ionômero
de vidro como agente fotossensibilizador para
Terapia Fotodinâmica antimicrobiana sobre
*Streptococcus mutans***

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cíntia Helena Coury Saraceni

MICHELLE MAZZIERO MACEDO CHIODE

SÃO PAULO
2021

Chiode, Michelle Mazziero Macedo.

Extrato vegetal incorporado ao cimento de ionômero de vidro como agente fotossensibilizador para Terapia Fotodinâmica antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* / Michelle Mazziero Macedo Chiode. - 2021.

40 f. : il. color.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2021.

Área de concentração: Dentística.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cíntia Helena Coury Saraceni.

1. *S. mutans*. 2. Cimento de Ionômero de Vidro. 3. Extrato vegetal. 4. Terapia Fotodinâmica. I. Saraceni, Cíntia Helena Coury (orientadora). II. Título.

MICHELLE MAZZIERO MACEDO CHIODE

**Extrato vegetal incorporado ao cimento de ionômero
de vidro como agente fotossensibilizador para
Terapia Fotodinâmica antimicrobiana sobre
*Streptococcus mutans***

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

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/_____
Prof. Dr. Sérgio Luiz Pinheiro
Pontifícia Universidade Católica – PUC - Campinas

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

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Cíntia Helena Coury Saraceni
Universidade Paulista – UNIP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido e filhos que me acompanharam nessa jornada de estudos. Pela paciência e compreensão quando eu estava cansada, quando eu não pude ir às reuniões escolares, pelas vezes que eu apenas quis ficar em casa e descansar. Muito obrigada por me incentivarem tanto e ajudarem quando mais precisei. Amo vocês. Aos meus pais por sempre me incentivarem e apoiarem a estudar, como o maior bem que eu poderia me apossar: a educação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, Autor da minha vida, minha Rocha e Fortaleza, em quem confio sempre...Pela inteligência e saúde.

Aos meus pais por acreditarem em meu potencial e me incentivarem a continuar estudando. Por tantos dias que me ajudaram cuidando com amor dos meus filhos.

À minha querida orientadora, Prof^a Cíntia, me acolheu, me incentivou, me ensinou e me fez amar a Dentística. Obrigada por estar sempre alegre, disponível e ser tão compreensiva.

Aos meus colegas de mestrado: Marcos Vinícius Salvador, Alessandra Sayuri Tuzita e Gabriel Colonello por tornar a jornada leve e divertida.

Em especial à querida professora Ivana Suffredini e Jefferson Souza pelo tempo dispendido no laboratório de pesquisa da UNIP Paulista para que este experimento fosse realizado. Obrigada pelos momentos de aprendizado tão relevantes para mim. Um agradecimento especial à Fernanda Kabadayan na colaboração da realização deste trabalho.

Aos professores queridos que lapidaram a minha mente e me levaram a voar longe.

Aos funcionários que trabalham na UNIP, nos elevadores, na secretaria, na recepção e portaria: meu muito obrigada.

A CAPES por me proporcionar uma bolsa de estudos e com isso pude realizar meu sonho de me tornar MESTRE.

“Ninguém é tão grande que não possa aprender nem tão pequeno que não possa ensinar.”

Esopo

RESUMO

Objetivos: Este trabalho visou avaliar a ação do extrato vegetal de *Dioscorea altissima* incorporado ao cimento de ionômero de vidro como potencial fotossensibilizador para terapia fotodinâmica (PDT) sobre cultura planctônica de *Streptococcus mutans*. **Material e método:** Foram confeccionadas 96 amostras de cimento de ionômero de vidro (CIV) e outras 96 do CIV incorporado de extrato vegetal na proporção de 2% peso/peso, que foram divididas nos seguintes grupos (n=24): G1- CIV; G2- CIV + LASER; G3- CIV/EXTRATO; G4- CIV/EXTRATO + LASER; G5- CIV + AZUL DE METILENO (AM); G6- CIV + PDT (AM + LASER); G7- CIV/EXTRATO + AM e G8- CIV/EXTRATO + PDT (AM + LASER). O protocolo de irradiação para PDT foi: laser de diodo em 660 nm, 100 mW, 5 J e 150 J/cm², por 50 s. Nos grupos em que foi utilizado o azul de metileno como fotossensibilizador, obedeceu-se o período de pré-irradiação de 5 min. Após a realização do teste de viabilidade celular com MTT, a ação antimicrobiana de 24h sobre biofilme formado por *Streptococcus mutans* foi avaliada por absorbância em leitor de microplacas Elisa. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnoff, seguido de ANOVA One-way. O teste de Tukey foi aplicado para comparação múltiplas entre as médias dos grupos ($\alpha < 0,05$). **Resultados:** O grupo G6- CIV + PDT (AM+LASER) foi o que apresentou maior inibição, seguido dos grupos G4- CIV/EXTRATO + LASER, G5- CIV + AM, G7- CIV/EXTRATO + AM e G8- CIV/EXTRATO + PDT (AM+LASER), que apresentaram resultados semelhantes ($p > 0,05$). Os grupos G2- CIV + LASER e G3- CIV/EXTRATO, também semelhantes entre si ($p > 0,05$), apresentaram-se como os menos ativos, em relação aos demais. **Conclusões:** A incorporação do extrato da planta *Dioscorea altissima* potencializou a ação antimicrobiana do CIV sobre *S. mutans* e quando associado ao laser, o cimento experimental teve ação antimicrobiana semelhante à PDT (AM + LASER), o que pode indicar a possibilidade da ação como uma alternativa fitoterápica de fotossensibilizador para PDT, em substituição ao azul de metileno.

Palavras-Chave: *S. mutans*. Cimento de Ionômero de Vidro. Extrato vegetal. Terapia Fotodinâmica.

ABSTRACT

Objectives: This search aimed to evaluate the action of vegetal extract of *Dioscorea altissima* incorporated to the glass ionomer cement as a potential photosensitizer to the photodynamic therapy (PDT) on planktonic culture of *Streptococcus mutans*.

Material and method: It were prepared 96 samples of the glass ionomer cement (GIC) plus 96 samples of GIC with vegetal extract in the proportion of 2% w/w, that were divided in the following groups (n=24): G1- GIC; G2- GIC + LASER; G3- GIC/EXTRACT; G4- GIC/EXTRACT + LASER; G5- GIC + METHYLENE BLUE (MB); G6- GIC+ PDT (MB + LASER); G7- GIC/EXTRACT + MB e G8- GIC/EXTRACT + PDT (AM + LASER). The parameters adopted for laser application were the following: Laser of diode in 660 nm, 5 J, 150 J/cm², and 100 mW per 50 s. In the groups in which methylene blue was used as a photosensitizer, the pre-irradiation period of 5 min was observed. After the test of cell viability with MTT, the antimicrobials effects of the samples were evaluated based on the absorbance in Elisa reader. The collected data were submitted to normality test of Kolgomorov-Smirnoff, followed by the ANOVA One-way. The Turkey's test was applied for multiple comparisons among the groups of samples ($\alpha < 0,05$). **Results:** The group G6- GIC + PDT (MB+LASER) revealed largest inhibition, followed by groups G4- GIC/ EXTRACT + LASER, G5- GIC + MB, G7- GIC/ EXTRACT + MB and G8- GIC/ EXTRACT + PDT (MB+LASER), that had similar results ($p > 0,05$). The Groups G2- GIC + LASER and G3- GIC/ EXTRACT, that were similar ($p > 0,05$) revealed less actives compared to the others. **Conclusions:** Incorporation of the extract of the vegetal plant *Dioscorea altissima* enhanced the antimicrobials effects of GIC on the *S. mutans* and, when it was associated to Laser (G4), the experimental cement had antimicrobials effects similar to the PDT (MB+LASER) which appoints to the possibility of action as a phytotherapeutic alternative of photosensitizer for PDT, replacing methylene blue.

Key-words: *S. mutans*, Glass ionomer cement, vegetal extract, Photodynamic Therapy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 CONCLUSÃO GERAL	17
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	18

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cárie é uma doença crônica, de progressão lenta, que afeta pessoas de todas as idades ao redor do mundo [1][2] [3]. Ela resulta da interação de diferentes fatores como a dieta, a presença de bactérias, o hospedeiro e fatores de ordem social [4]. O microorganismo *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) é a principal bactéria relacionada com a formação e progressão da doença. É uma bactéria Gram-positiva e sacarose-dependente, um açúcar comumente presente na nossa dieta [5].

A bactéria consegue se aderir à superfície dental através dos subprodutos da fermentação da sacarose, como os ácidos extracelulares e polissacarídeos. Uma vez aderida à superfície ou em fissuras, ela forma o biofilme dental e permanece utilizando a sacarose na modificação do pH oral [5][6][7][8]. A queda do pH local altera o processo de mineralização/desmineralização dentária, resultando em dissolução da superfície do esmalte e a formação da cárie [4][8].

Uma vez ocorrida a dissolução do esmalte, caso não haja alguma ação que interrompa o ciclo de progressão do processo, a desmineralização atinge a dentina. A dentina cariada pode se apresentar em diferentes camadas, na dependência da quantidade de bactérias presentes e consequente grau de desmineralização. A camada mais superficial e contaminada é denominada dentina infectada. Essa dentina é de fácil remoção com instrumentos manuais como escariadores. Logo abaixo, há uma camada menos amolecida, que se destaca em lascas, denominada dentina afetada. Abaixo dessa camada a dentina já se apresenta com consistência endurecida [2]

O abordagem clássica de remoção total da cárie compreende a remoção das dentinas infectada e afetada através de brocas esféricas em baixa rotação. Essa técnica propicia uma remoção traumática à biologia do elemento dental, pela geração de calor, pressão e vibração do instrumento rotatório sobre a dentina, além de uma remoção de tecido maior do que a necessária [9] [9][10][11][12].

Os conceitos atuais de abordagem da cárie preveem princípios de mínima intervenção que se baseiam na possibilidade de reparação e remineralização da dentina afetada, desde que esta seja devidamente descontaminada e selada. Essa abordagem preconiza a remoção parcial e atraumática da dentina cariada, com

posterior aplicação de materiais que possam auxiliar na descontaminação bacteriana e ainda auxiliar no processo de remineralização [7][9][10][11][12].

Um dos materiais mais usados em odontologia nas técnicas minimamente invasivas é o cimento de ionômero de vidro (CIV), que, por apresentar características como adesão à estrutura dentária por quelação do cálcio, biocompatibilidade e liberação de flúor. Essa liberação apresenta-se mais intensa nas primeiras 24 h, aumentando a resistência à desmineralização e promovendo a remineralização da estrutura dental. Devido a essa propriedade, o CIV é considerado um material com efeito bacteriostático [13]. O selamento da cavidade com este cimento, além do papel antimicrobiano, também permite o corte do suprimento nutricional bacteriano, resultando, assim no bloqueio da progressão da lesão de cárie [14].

Com o objetivo de incrementar a ação antimicrobiana do CIV, a literatura traz estudos que objetivam incorporar componentes a esse cimento, sem contudo alterar suas propriedades. Pinheiro SL *et al.* (2005) propuseram a incorporação de três antibióticos (ciprofloxacino, cefaclor e metronidazol) ao pó de um CIV de presa química e apresentaram resultado positivo na redução microbiana e consequente remineralização da dentina afetada [15].

Com a confirmação de que a descontaminação bacteriana é etapa preponderante para o sucesso da técnica de remoção parcial da cárie, outros agentes com propriedades antimicrobianas têm sido propostos em associação ao CIV, como quitosana e hidroxiapatita [16][17]. Ainda, estudos apontam a possibilidade de utilização de extratos vegetais com propriedades antimicrobianas isoladamente ou associados a cimentos como o CIV para este fim, uma vez que o Brasil é um país conhecido internacionalmente por possuir uma rica biodiversidade em seu território [18].

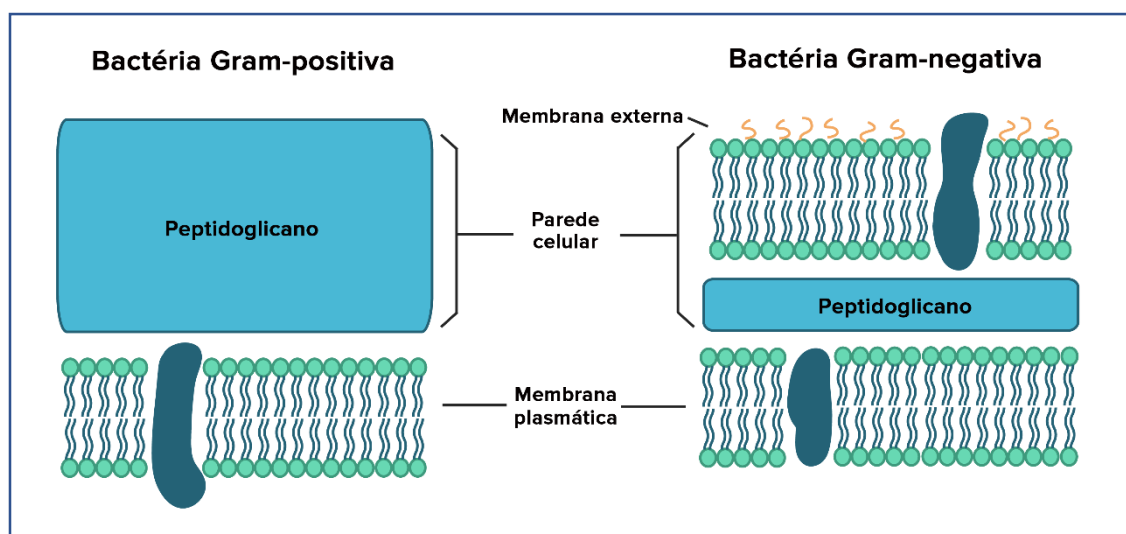
Saraceni *et al.* (2019) incorporaram extrato vegetal obtido da planta *Dioscorea altissima*, previamente testado quanto à sua ação antimicrobiana sobre *S. mutans*, ao cimento de ionômero de vidro e analisaram as propriedades mecânicas e antimicrobianas desse novo cimento, com resultados positivos [13]. A *Dioscorea altissima* é uma planta pertencente a essa biodiversidade, sendo encontrada na floresta amazônica.

Outra alternativa que tem se mostrado promissora na descontaminação da dentina é a terapia fotodinâmica (PDT), que foi aprovada em 1999 pela FDA (Food and Drug Administration) como tratamento de lesões pré-cancerosas na face e pele [21]. A PDT baseia-se na aplicação de uma fonte de luz de comprimento de onda específico sobre um fotossensibilizador, que na presença de oxigênio, produz espécies reativas de oxigênio- ROS (radicais hidroxil, oxigênio singlete e triplete) resultando em morte celular por alterações básicas das funções celulares [2][19][20].

Nos últimos anos, estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado resultados positivos no uso da PDT para tratamento das infecções odontológicas. As aplicações compreendem os processos proliferativos e infecções persistentes nas diversas áreas da odontologia como Periodontia, Endodontia, Cirurgia, Implante e também no tratamento das lesões de cárie [2][7][19].

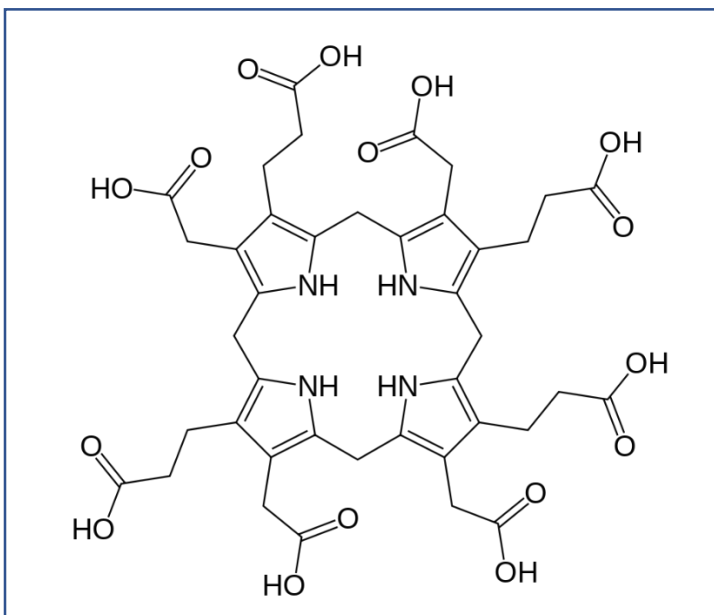
A atividade antimicrobiana da PDT vai depender do tipo de microorganismo envolvido (vírus, fungo ou bactéria), do tipo de fotossensibilizador e dos parâmetros da irradiação [19]. As bactérias Gram-positivas e negativas apresentam diferentes respostas à PDT em função da membrana citoplasmática. Enquanto as Gram-positivas apresentam-se mais permeáveis à ação do fotossensibilizador, as Gram-negativas apresentam dupla membrana citoplasmática restringindo a penetração do fotossensibilizador, sendo assim, menos sensíveis à PDT [22].

Figura 1 – Ilustração das diferenças entre as membranas citoplasmáticas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas



Os fotossensibilizadores são compostos derivados da hematoporfirina. Possuem uma estrutura formada por 4 anéis pirróis ligados entre si de forma cíclica, formando tetrapirróis e são classificadas de acordo com a estrutura química que possuem [21]. Um fotossensibilizante ideal deve ser uma substância estável à temperatura ambiente, ser citotóxica apenas na presença de luz, idealmente absorver comprimentos de onda em torno de 600 a 800 nm, penetrando nos tecidos e produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS) pela sua excitação [2][8][23].

Figura 2 – Tetrapirróis



Fonte: Wikipédia

Para a aplicação da PDT, os fotossensibilizadores comumente utilizados são o azul de metileno e azul de toluidina, sendo o azul de metileno largamente utilizado em estudos de *S. mutans* [14][20]. De acordo com Teófilo *et al.* (2020), o azul de toluidina e azul de metileno demonstraram os melhores resultados na redução bacteriana dentre diversos fotossensibilizadores estudados [24].

A literatura ressalta ainda que, em alguns trabalhos *in vitro*, o uso do laser isolado não seria capaz de promover redução significativa do número de colônias do biofilme para a eficácia da PDT [25]. Clinicamente, estudos apontam que as porfirinas autógenas presentes no tecido dentinário cariado podem interagir com o laser e propiciar redução microbiana, mesmo que inferior à redução obtida com a PDT. Esses resultados, portanto, corroboram a importância de uma substância

fotossensibilizadora, mesmo que autógena, quando se pretende uma ação antimicrobiana com o uso do laser.

O interesse crescente sobre as propriedades dos produtos naturais e componentes fitoterapêuticos propiciou estudos que propõem a utilização desses componentes como agentes fotossensibilizadores para PDT [23][26][27][28]. De acordo com Siewert e Stuppner (2019), “os primeiros medicamentos fotoativados relatados foram extratos de plantas” [29]. A clorofila, pigmento verde presente na maioria das plantas, contém o anel de cloro relacionado às porfirinas, que permite a absorção de um comprimento de onda de luz responsável pela fotoatividade das plantas [30].

Considerando-se essa possibilidade e o cimento experimental proposto por Saraceni *et al.* (2019), o presente estudo tem como objetivo avaliar a ação do extrato vegetal de *Dioscorea altissima* incorporado ao cimento de ionômero de vidro como potencial fotossensibilizador para terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre cultura planctônica de bactérias *S. mutans*.

2 CONCLUSÃO GERAL

A incorporação do extrato da planta *Dioscorea altissima* potencializou a ação antimicrobiana do CIV sobre *S. mutans* e quando associado ao laser, o cimento experimental teve ação antimicrobiana semelhante à PDT (AM + LASER), o que pode indicar a possibilidade do uso desse extrato como uma alternativa fitoterápica de fotossensibilizador para PDT em substituição ao azul de metileno. Novos estudos se fazem necessários para a implantação do extrato associado ao cimento de ionômero de vidro como substância fotossensibilizadora na realização da PDT *in vivo*.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- [1] Silva Jr ZS, Huang YY, Freitas LF, França CM, Botta SB, Ana PA, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KPS, Deana A, Leal CRL, Prates RA, Hamblin MR, Bussadori SK. Papain gel containing methylene blue for simultaneous caries removal and antimicrobial photoinactivation against *Streptococcus mutans* biofilms. *Sci. Rep.* 2016; 33270(6) :1-12.
- [2] Hakimiha N, Khoei F, Bahadro A, Fekrazad R. The susceptibility of *Streptococcus mutans* to antibacterial photodynamic therapy: a comparison of two different photosensitizers and light sources. *J Appl Oral Sci.* 2014; 22(2):80-4.
- [3] da Mota ACC, Leal CRL, Olivani S, Gonçalves MLL, Oliveira VA, Pinto MM, Bussadori SK. Case Report of Photodynamic Therapy in the treatment of dental caries on primary teeth. *J Lasers Med Sci.* 2016; 7(2): 131-133.
- [4] de Oliveira AB, Ferrisse TM, Marques RS, Annuzio SR, Brighenti FL, Fontana CR. Effect of photodynamic therapy on microorganisms responsible for dental caries: A systematic review and Meta-Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20:1-16.
- [5] Nemezio MA, Farias SSS, Borsatto MC, Aires CP, Corona SAM. Effect of methylene blue-induced photodynamic therapy on a *Streptococcus mutans* biofilm model. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017; 20:234-237.
- [6] Gong J, Park Howon, Lee J, Seo H, Lee S. Effect of photodynamic therapy on multispecies biofilms, including *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* and *Candida albicans*. *Photomed Laser Surg.* 2019; 20 (20): 1-6.
- [7] Paschoal MA, Duarte S, Santos-Pinto L. Photodynamic antimicrobial chemotherapy for prevention and treatment of dental caries: a critical review. *OA Dentistry.* 2013; 1(1): 1-5.
- [8] Garcia MT, Pereira AHC, Jorge AOC, Strixino JF, Junqueira JC. Photodynamic Therapy mediated by chlorin-type photosensitizers against *Streptococcus mutans* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018; 24: 256-261.
- [9] Guglielmi CAB, Simionato MRL, Ramalho KM, Imparato JCP, Pinheiro SL, Luz MAAC. Clinical use of photodynamic antimicrobial chemotherapy for the treatment of deep carious lesions. *J Biomed opt.* 2011; 16(8): 1-7.
- [10] Ornellas PO, Antunes LS, Motta PC, Mendonça C, Póvoa H, Fontes K, *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct for clinical partial removal of deciduous carious tissue: a minimally invasive approach. *Photochem Photobiol.* 2018; 94(6): 1240-8.
- [11] Neves PAM, Lima LA, Rodrigues FCN, Leitão TJ, Ribeiro CCC. Clinical effect of photodynamic therapy on primary carious dentin after partial caries removal. *Braz. Oral Res.* 2016; 30(1): 1-8.

- [12] Diniz IMA, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MRL, Marques MM. Antimicrobial Photodynamic Therapy: a promise candidate for caries lesions treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015;12(3):511-518.
- [13] Saraceni CHC, Kabadayan F, Lima B, Braga R, Cunha B, Suffredini I. Mechanical properties of a glass ionomer cement incorporated with Amazon extract. *Dent Mater J.* 2019; 38(3): 411-417.
- [14] Pinheiro SL, Segatti B, Pucca DS, Dutra PT. Dental acid etchant as a sensitizing agent in photodynamic therapy to reduce *S. mutans* in dentinal carious lesions. *Laser Med Sci.* 2019; 34: 305-309.
- [15] Pinheiro SL, Simionato MRL, Imparato JCP, Oda M. *Am J Dent.* 2005; 18(4): 261-4.
- [16] Debnath A, Kesavappa SB, Singh GP, Eshwar S, Jain V, Swamy M, Shetty P. Comparative Evaluation of antibacterial and adhesive properties of chitosan modified glass ionomer cement and conventional glass ionomer cement: An *In vitro* study. *J. Clin. Diagnostic Res.* 2017; 11(3):75-78.
- [17] Najeeb S, Khurshid Z, Zafar MS, Khan AS, Zohaib S, Martin JMN, Sauro S, Matinlinna JP, Rehman IU. Modifications in glass ionomer cements: Nano-sized fillers and bioactive nanoceramics. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 1134.
- [18] Uso de produtos naturais na Odontologia. *Revista da Associação Paulista de cirurgiões Dentistas.* São Paulo. 2019; 73(1):3.
- [19] Carrera ET, Dias HB, Corbi SCT, Marcantonio RAC, Bernardi ACA, Bagnato VS, et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Physics.* 2016; 26(12):123001-1-123001-13.
- [20] Rolim JPML, de-Melo MAS, Guedes SF, Albuquerque-Filho, FB, Souza JR, Nogueira NAP, Zanin ICJ, Rodrigues LKA. The antimicrobial activity of photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* using different photosensitizers. *J photochem photobiol B, Biol.* 2012; 106: 40-46.
- [21] Stájer A, Kajári S, Gajdács M, Musah-Eroje A, Baráth Z. Utility of photodynamic therapy in dentistry: current concepts. *Dent. J.* 2020; 8(43):1-22.
- [22] Kharkwall GB, Sharma SK, Huang Y, Dai T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for infections: Clinical applications. *Laser Surg Med.* 2011; 43(7): 755-67.
- [23] Mansoori B, Mohammadi A, Amin Doustvandi M, Mohammadnejad F, Kamari F, Gjerstorff MF, Baradaran B, Hamblin MR. Photodynamic therapy for cancer: role of natural products. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 26: 395-404.
- [24] Teófilo MIS, Russi TMAZ, Silva PGB, Balhaddad AA, Melo MAS, Rolim JPML. The impact os photosensitizers selection on bactericidal efficacy of PDT against cariogenic Biofilms: A systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis photodyn Ther.* 2020; 10(5):102046.
- [25] Yassaei S, Zandi H, Aghili H, Rafiei E, Mosayebi N. *Laser Ther.* 2018; 27(2):119-123.

- [26] Villacorta RB, Faith JRK, Tapang GA, Jacinto SD. Plant extracts as natural photosensitizers in photodynamic therapy: in vitro activity against human mammary adenocarcinoma MCF-7cells. *Asina Pac. J. Trop. Biomed.* 2016; 7(4): 358-366.
- [27] Jong WW, Tan PJ, Kamarulzaman FA, Mejin M, Lim D, Ang I, Naming M, Yeo TC, Ho ASHH, Teo SH, Lee HB. Photodynamic Activity of plant extract from Sarawak, Borneo. *Chem Biodivers.* 2013; 10: 1475-1486.
- [28] Azizi A, Shohrati P, Goudarzi M, Lawaf S, Rahimi A. Comparison of the effect of Photodynamic Therapy with curcumin and Methylene Blue on *Streptococcus mutans* bacterial colonies. *Photodiagnosis photodyn Ther.* 2019; 27: 203-209.
- [29] Siewert B, Stuppner H. The photoactivity of natural products - An overlooked potential of photomedicines? *Int. J. Photomed.* 2019; 60: 1-21.
- [30] Skalkos D, Gioti E, Stalikas CD, Meyer H, Papazoglou TG, Filippidis G. J. *Photochem Photobiol B: Biol.* 2006; 82: 146-151.