

Espécies Aromáticas do Cerrado Maranhense com Potencial Antibacteriano Frente ao *Streptococcus mutans*

Aromatic Species from the Cerrado of Maranhão with Antibacterial Potential Against *Streptococcus mutans*

Roberto César Duarte Gondim^{*a}; Silvia Cristina Heredia-Vieira^a; Rosemary Matias^a; Odair S. Monteiro^b; Patrícia de Maria Silva Figueiredo^c

^aUniversidade Anhanguera Uniderp, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional. MS, Brasil.

^bUniversidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química. MA, Brasil.

^cUniversidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. MA, Brasil.

*E-mail: robertgondim2@hotmail.com

Resumo

Plantas aromáticas do Cerrado maranhense podem ser uma alternativa para prevenção e tratamento da cárie, uma doença que acomete a cavidade bucal e que é considerada um problema de saúde pública. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o potencial antibacteriano de óleos essenciais de espécies aromáticas da flora maranhense frente ao *Streptococcus mutans*, principal microrganismo associado à doença cárie. Para isso, folhas de *Lippia gracilis* Schauer, *Dizygostemon riparius* Scatigna & Colletta e *Ocimum gratissimum* L. foram coletadas no Cerrado maranhense, secas, separadamente, e submetidas à extração dos óleos essenciais (OEs) por hidrodestilação. Foram determinados os perfis químicos (GC-MS) e os potenciais antibacterianos através do método de difusão em ágar por discos e pela determinação das Concentrações Mínimas Inibitória (CIM) e Concentrações Mínimas Bactericidas (CBM). Os resultados demonstraram que em todos os OEs houve predominância de monoterpenos, os quais já são descritos pelo elevado potencial antibacteriano e que todos os OEs exerceram atividade bactericida frente ao *S. mutans*, destacando-se o óleo essencial da *O. gratissimum*, tendo sido o microrganismo considerado muito sensível ao óleo (15 mm) no método de difusão em ágar por discos e CIM e CBM de 0,585 µL/mL. Conclui-se que os OEs avaliados, principalmente de *O. gratissimum*, apresentaram potencial antibacteriano frente ao *S. mutans* podendo ter a possibilidade de serem utilizados na área odontológica.

Palavras-chave: Afecções Odontológicas. *Ocimum gratissimum* L.. Lamiaceae.

Abstract

Aromatic plants from the Maranhão Cerrado can be an alternative for the prevention and treatment of tooth decay, a disease that affects the oral cavity and is considered a public health problem. The objective of this study was to evaluate the antibacterial potential of essential oils from aromatic species of Maranhão flora against *Streptococcus mutans*, the main microorganism associated with caries disease. For this, leaves of *Lippia gracilis* Schauer, *Dizygostemon riparius* Scatigna & Colletta and *Ocimum gratissimum* L. were collected in the Cerrado of Maranhão, dried separately and subjected to extraction of essential oils (EOs) by hydrodistillation. The chemical profiles (GC-MS) and antibacterial potentials were determined using the agar disc diffusion method and by determining the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC). The results demonstrated that in all EOs there was a predominance of monoterpenes, which are already described by their high antibacterial potential and that all EOs exerted bactericidal activity against *S. mutans*, highlighting the essential oil of *O. gratissimum*, having been the microorganism considered very sensitive to oil (15 mm) in the agar disc diffusion method and MIC and MBC of 0.585 µL/mL. It is concluded that the EOs evaluated, mainly from *O. gratissimum*, showed antibacterial potential against *S. mutans* and could be used in the dental field.

Keywords: Dental Conditions. *Ocimum gratissimum* L. Lamiaceae.

1 Introdução

O principal problema de Saúde Pública que acomete a cavidade oral em populações menos favorecidas é a cárie (WHO, 2015), uma doença infecciosa acarretada por microrganismos que se acumulam nas superfícies dos dentes, formando o biofilme dental, que podem causar lesões cariosas (Flório *et al.*, 2004).

O *Streptococcus mutans* é o microrganismo que está diretamente relacionado ao início e à progressão da cárie devido à grande capacidade de aderir à estrutura dentária. Ele tem um alto potencial cariogênico por ser capaz de metabolizar rapidamente os açúcares da dieta humana (carboidratos fermentáveis), por diminuir o pH no ambiente bucal e por sobreviver neste ambiente, por produzir ácido

lático, o qual é responsável pela desmineralização no início do desenvolvimento da cárie e por promover uma maior competição entre microrganismos presentes na boca (Fejerskov, 2004; Flório *et al.*, 2004; Vásquez-Ccahuana, 2010). A cárie, em evolução, provoca a perda precoce dos dentes, principalmente em crianças e jovens adultos, causa dor e possui um tratamento com um custo muito elevado (Pithon *et al.*, 2017; Qiu *et al.*, 2020).

Para se evitar a incidência da cárie, tem-se os métodos mecânicos, sendo o mais eficaz, a escovação dentária, cuja eficácia é potencializada pelo uso de fios e cremes dentais, além de enxaguatórios bucais ou outros agentes químicos (Pithon *et al.*, 2017). Porém, estes métodos são, por muitas vezes, inacessíveis à população com condição socioeconômica

menos favorecida, pelo elevado custo (Silveira et al., 2021).

Métodos alternativos têm sido desenvolvidos para contornar esta problemática. São métodos que, além de serem tão eficazes quanto os convencionais na prevenção e controle da cárie, possuem menor custo. Alguns exemplos são escovas, fios e palitos dentais artesanais, além de soluções obtidas a partir de plantas medicinais, as quais podem ser utilizadas em dentifrícios e/ou enxaguatórios bucais (Barros, 2001; Mahmoud, 2009).

O emprego de fitoterápicos na prática clínica odontológica foi aprovado pelo Conselho Federal de Odontologia (CFO) em 2008, dois anos após a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), através da portaria n.º. 971, no Sistema Único de Saúde (SUS) (Ministério da Saúde, 2006). A partir de então, trabalhos com óleos essenciais (OEs) e extratos vegetais, como componentes de formulações fitoterápicas, têm demonstrado a eficácia da utilização dessa terapêutica nas afecções bucais. Isso, devido às diversas substâncias (metabólitos secundários) presentes nas plantas medicinais, as quais apresentam diferentes potenciais de uso (Amparo et al., 2020).

Plantas aromáticas, como as espécies *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae), *Dizygostemon riparius* Scatigna & Colletta (Plantaginaceae) e *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae), podem ser alternativas para o desenvolvimento de produtos que atuam como agentes terapêuticos, complementando a remoção mecânica de biofilme dentário (Santos et al., 2010) e já têm sido foco de estudos devido às suas propriedades antimicrobianas.

A grande incidência de cárie ainda é uma realidade da população do estado do Maranhão. Em 2010, segundo o levantamento epidemiológico em saúde bucal, o projeto SBBrazil trouxe a média do Índice CEO-D, CPO-D (índice de dentes cariados, perdidos e obturados/exame) e proporção dos componentes em relação ao CEO/CPO total, segundo o grupo etário e os domínios da pesquisa em São Luís/MA, sendo: 1,81 (5 anos), 2,66 (12 anos), 4,60 (15 a 19 anos), 12,56 (35 a 44 anos) e 26, 33 (65 a 74 anos). Em termos internacionais, úteis para comparações, o último estudo sobre carga de doença bucal no mundo foi realizado pela OMS em 2004. Na ocasião, o CPO médio mundial aos 12 anos (dados ponderados de 188 países) foi de 1,6 (Ministério da Saúde, 2011). Esses valores obtidos representam o grau de severidade da doença cárie, onde o índice CPOD de 0,1 a 1,1 (muito baixo), 1,2 a 2,6 (baixo), 2,7 a 4,4 (moderado), 4,5 a 6,5 (alto) e igual ou maior que 6,6 (muito alto).

O Maranhão é uma região com uma vasta biodiversidade de plantas do bioma Amazônico e do Cerrado, sendo comum a população fazer uso destas plantas para prevenção e tratamento de doenças, como para as afecções bucais, porém estas evidências não são relatadas na literatura, o que pode favorecer a utilização de plantas com potencial tóxico e/ou utilizadas de forma inadequada. Assim, o objetivo deste

trabalho foi o de realizar um estudo etnobotânico de plantas aromáticas do Cerrado maranhense como prática integrativa de higiene bucal e avaliar o potencial antimicrobiano, frente ao *S. mutans*, principal microrganismo associado à doença cárie.

2 Material e Métodos

2.1 Coleta do material vegetal

Folhas de *L. gracilis*, *D. riparius* e *O. gratissimum* foram coletadas no Parque Nacional da Chapada das Mesas, em Carolina-MA (7°19'S e 47°20'06'O), em São Benedito do Rio Preto-MA (3°19'27,9"S e 43°31'02,6'O) e no Horto Medicinal Berta Langes de Morretes, localizado na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), em São Luís-MA (2°33'13"S e 44°18'19"O), respectivamente. Todas as coletas foram feitas em abril/2020. As exsicatas da *L. gracilis* e da *O. gratissimum* foram depositadas no Herbário do Horto Medicinal Berta Langes de Morretes, localizado na UFMA, sob número 200170 e 5150, respectivamente; já a da *D. riparius* foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Campinas sob número 182792. A pesquisa foi registrada no Sistema de Acesso ao Patrimônio Genético sob código SisGen: *O. gratissimum* AA69F9B, *D. riparius* ABE3DB3 e *L. gracilis* A0D0821.

2.2 Extração dos óleos essenciais por hidrodestilação

As folhas de cada uma das espécies foram submetidas à secagem por 5 dias. As folhas secas (100 g) foram colocadas em contato com água destilada (500 mL), trituradas (tritador - TRF 400 2CV 1 Trapp®) e submetidas à hidrodestilação (Clevenger, Vidrolabor®) por 3 h. Os OEs extraídos foram separados da água com a adição de sulfato de sódio anidro, centrifugados (15 min) e acondicionados em vidro âmbar à 10 °C. Os rendimentos dos OEs foram expressos em porcentagem (%) com relação massa/massa através das medidas de densidade em relação aos volumes (v) obtidos dos OEs pela massa (m) dos materiais vegetais após determinação das umidades (Fabrowski, 2002), como descrito na fórmula:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{OEs}}{m \text{ materialvegetal} - (m \text{ materialvegetal} \times \% \text{umidade})}$$

2.3 Caracterização química dos óleos essenciais

Os OEs foram analisados por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) (Shimadzu®) utilizando um amostrador automático (Shimadzu®), sob as seguintes condições: DB-5 ms coluna capilar de sílica fundida (60 m x 0,25 mm; espessura da película = 0,25 mm); temperatura programada em 50 °C (5 min em modo isotérmico), 150 °C (4 °C min⁻¹ + 2 min em modo isotérmico), 250 °C (5 °C min⁻¹ + 5 min em modo isotérmico), 275 °C (10 °C min⁻¹, mais 15 min em modo isotérmico); temperatura do injetor à 250 °C, injeção tipo split (1 mL) e divisão de fluxo

ajustado para uma razão de 30:1. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste, com fluxo constante de 0,6 mL min⁻¹ e pressão de entrada de 16,5 psi. Os espectros de massa foram obtidos por impacto eletrônico à 70 eV. As temperaturas da câmara de ionização e a linha de transferência foram mantidas à 230 e 285 °C, respectivamente. Os dados quantitativos sobre os constituintes voláteis foram obtidos por normalização de área de pico, utilizando um CG acoplado ao detector FID, operado sob condições semelhantes ao sistema CG-EM.

Os índices de retenção dos constituintes voláteis de cada uma das espécies foram calculados utilizando uma série homóloga de n-alcenos (C8-C32, Sigma-Aldrich®), de acordo com Van den Dool e Kratz (1963). Os componentes individuais foram identificados por comparação de ambos os dados dos espectros de massas e índices de retenção de compostos autênticos, previamente analisados e armazenados em biblioteca particular, bem como com o auxílio de bibliotecas comerciais contendo índices de retenção e espectros de massas dos compostos voláteis comumente encontrados em OEs (Adams, 2007; Nist, 2005).

2.4 Atividade antibacteriana dos óleos essenciais

Os OEs essenciais obtidos (*L. gracilis*, *D. riparius* e *O. gratissimum*) foram submetidos à avaliação da atividade antibacteriana.

2.5 Amostra microbiana

A bactéria padrão utilizada para os testes foi a *S. mutans* UA 159, a qual foi cedida pelo Laboratório de Microbiologia Clínica, Departamento de Farmácia, da UFMA.

2.6 Padronização da suspensão bacteriana

A bactéria foi semeada em ágar sangue e mantida em estufa à 37 °C por 48 h em jarra de anaerobiose. Em seguida, as colônias isoladas foram suspensas em solução salina 0,9% estéril, segundo o padrão de turbidez da escala 0,5 de McFarland (1,5 x 10⁸ bactéria/mL) (CLSI, 2013).

2.7 Teste de susceptibilidade bacteriana

O potencial antibacteriano dos OEs foi avaliado pelo método de difusão em ágar por discos. As bactérias foram semeadas em meio sólido e testadas em discos de papel filtro embebidos com 10 µL dos OEs juntamente com discos clorexidina (20 µL - 0,02 mg/mL como controle e incubados a 37 °C/48 h). Após a incubação, foi medido o diâmetro de halo de inibição de crescimento, quando presente. Considerou-se como resultado a média das duas medidas, expressas em termos do diâmetro (mm) da zona de inibição do crescimento bacteriano (Guimarães *et al.*, 2010; Azevedo, 2014).

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizou-se a técnica de microdiluição. Para isso, em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 150 µL de caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth, Merck®) associado

à 1% de glicose e 1% de Tween 80 e 150 µL de cada óleo essencial (OE) a ser testado, os quais foram adicionados no primeiro poço de cada fileira da microplaca, prosseguindo-se assim, com diluições seriadas. Após as diluições, 6 µL da suspensão bacteriana foram adicionados em todos os poços. A microplaca foi incubada por 24/48 h à 37 °C e, em seguida, foram adicionados 30 µL do revelador resazurina 0,015%. As análises foram realizadas em triplicata e a CIM foi determinada conforme descrito pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020).

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi avaliada nas concentrações onde não houve crescimento do microrganismo no teste da MIC, através de semeadura em placa de Petri com ágar sangue. Após a incubação das placas em estufa bacteriológica por 24/48 h, houve a leitura do teste para verificar a presença de ação bactericida nas amostras do OE (CLSI, 2020), que é a menor concentração do ativo que inibe, pelo menos, 99,9% do inóculo bacteriano (Nakano, 2011).

3 Resultados e Discussão

Todos os OEs avaliados apresentaram potencial antibacteriano frente ao *S. mutans*. Pelo método de difusão em ágar por discos e considerando halos com diâmetro: ≤ 8 mm (não sensíveis), entre 8 e 14 mm (sensíveis), entre 14 e 20 mm (muito sensíveis) e ≥ 20 mm (extremamente sensíveis) (Moumni *et al.*, 2020), observou-se que o *S. mutans* foi sensível aos OEs de *L. gracilis* e de *D. riparius* e o microrganismo foi muito sensível ao OE de *O. gratissimum* (Quadro 1), demonstrando uma melhor atividade do OE de *O. gratissimum* frente aos outros OEs avaliados.

Quadro 1 - Potencial antibacteriano dos óleos essenciais da *Lippia gracilis*, *Dizygotomon riparius*, *Ocimum gratissimum* e dos controles positivo (clorexidina) e negativo frente ao *Streptococcus mutans*, com os respectivos halos de inibição (mm)

Espécies Vegetais/Controles	Halos de Inibição (mm)
<i>Lippia gracilis</i>	9
<i>Dizygotomon riparius</i>	13
<i>Ocimum gratissimum</i>	15
Clorexidina (Controle positivo)	28
Controle negativo	--

Nota: -- Não apresentou atividade antibacteriana.

Fonte: dados da pesquisa.

De acordo com os resultados das CIMs (Tabela 2), todos os OEs apresentaram potencial inibitório, sendo o OE de *O. gratissimum* o que apresentou maior potencial (0,585 µL/mL), seguido do OE de *D. riparius* (1,171 µL/mL) e da *L. gracilis* (2,343 µL/mL). O próximo passo consistiu em determinar as CBMs, evidenciando-se que além de os OEs terem sido capazes de impedir o crescimento microbiano, também foram bacteriostáticos, sendo a *L. gracilis* e *O. gratissimum* bacteriostáticos nas mesmas concentrações determinadas para as CIMs e a *D. riparius* em maior concentração (CIM = 1,171 µL/mL; CBM = 2,343 µL/mL) (Quadro 2).

Quadro 2 - Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CBM) dos óleos essenciais de *Lippia gracilis*, *Dizygotemon riparius* e *Ocimum gratissimum*, frente ao *Streptococcus mutans*

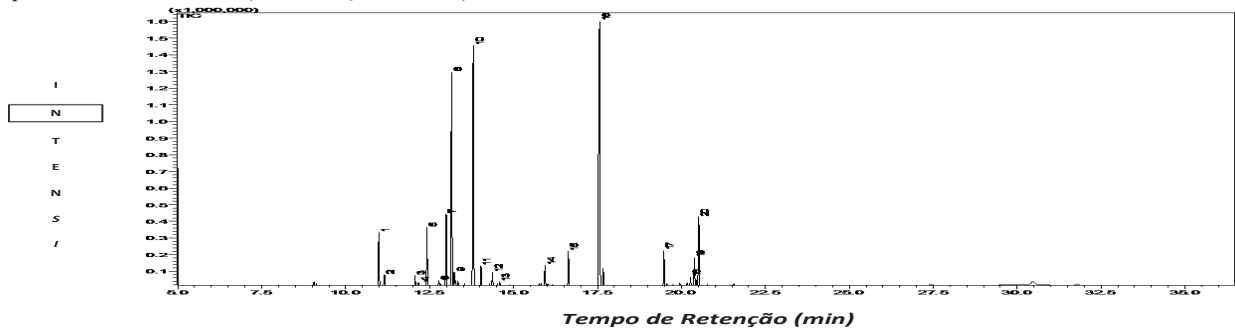
Espécies Vegetais	CIM (µL/mL)	CBM (µL/mL)	CN
<i>L. gracilis</i>	2,343	2,343	--
<i>D. riparius</i>	1,171	2,343	--
<i>O. gratissimum</i>	0,585	0,585	--

Nota: CN: Controle negativo; -- não houve crescimento da bactéria.

Fonte: dados da pesquisa.

De acordo com Fabri *et al.* (2020), a atividade antibacteriana de substâncias presentes em plantas medicinais parece ser maior frente a bactérias Gram-positivas, como é o caso do *S. mutans*, do que frente a Gram-negativas. Isso, devido às Gram-positivas possuírem apenas uma camada de peptidoglicano, o que torna essas bactérias mais susceptíveis às substâncias. Já os OEs, de uma forma geral, são descritos por serem capazes de acarretar alterações no perfil lipídico

Figura 1 - Cromatograma do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* obtido por Cromatografia Gasosa (CG-2010) acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM QP2010 Plus)



Fonte: dados da pesquisa.

Quadro 3 - Constituintes voláteis identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

Pico	RT	Área	Área %	Compostos Identificados*
1	10.987	533186	3,71	α -felandreno
2	11.152	104646	0,73	α -thujeno
3	12.067	89614	0,62	β -thujeno
4	12.171	28775	0,20	β -terpineno
5	12.420	537359	3,74	β -mirceno
6	12.776	40134	0,28	NI
7	12.992	700320	4,87	α -terpineno
8	13.156	2530862	17,61	<i>o</i> -cimeno
9	13.237	124295	0,86	<i>D</i> -limoneno
10	13.802	3080206	21,43	γ -terpineno
11	14.030	169124	1,18	β -terpineol
12	14.374	116556	0,81	β -Metilisoalilbenzeno
13	14.587	30489	0,21	Cis- β -terpineol
14	15.938	189449	1,32	Terpineno-4-ol
15	16.632	315419	2,19	Anisol, 2-isopropil-5-metil
16	17.564	4519294	31,46	Carvacrol
17	19.479	317705	2,21	Cariofileno
18	20.268	72734	0,51	α -cubebeno
19	20.387	251064	1,75	Azulene
20	20.515	619533	4,31	β -bisaboleno

Nota: NI: não identificado; RT: Tempo de retenção. *Compostos identificados de acordo com a biblioteca do equipamento - NIST08.

Fonte: dados da pesquisa.

e na morfologia de membranas celulares de bactérias, o que leva à ruptura das mesmas (Liu *et al.*, 2020).

No OE de *O. gratissimum*, que foi o que apresentou maior potencial bactericida, foram identificados 19 constituintes (Figura 1, Quadro 3), sendo a maioria da classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos, seguido dos hidrocarbonetos monoterpênicos oxigenados. Os compostos majoritários foram: carvacrol (31,46%), γ -terpineno (21,43%) e *o*-cimeno (17,61%). Em trabalho realizado com o OE desta mesma espécie, porém coletada na região norte do Brasil, também houve predominância de hidrocarbonetos monoterpênicos, no entanto, os compostos majoritários foram: eugenol, β -elemeno, β -cariofileno, isoeugenol, linalol, 1,8-cineol (eucaliptol), cimato de metila, α e β -pipeno, limoneno, estragol e timol (Rodrigues, 2006; Pinho, 2010). Desses, apenas o β -cariofileno foi evidenciado na composição da amostra avaliada em nosso estudo, de *O. gratissimum*.

Dos compostos majoritários identificados, é conhecido o potencial antimicrobiano do carvacrol. Ele é descrito por ser um inibidor do crescimento de bactérias Gram-positivas e negativas, por causar ruptura na integridade da membrana celular desses microrganismos. Há também a descrição do potencial do carvacrol de inibir o crescimento de biofilmes microbianos pré-formados ou de evitar a sua formação (Memar *et al.*, 2017). Khan; Khan; Ahmad (2017) descreveram que o carvacrol reduz significativamente a formação de biofilme formado por *S. mutans* e que os OEs que apresentam esse composto como majoritário podem ser usados em enxaguatórios bucais ou pastas dentífricas para controlar as bactérias orais e manter uma boa higiene oral.

Silva *et al.* (2010) descreveram sobre a importância das interações entre os compostos presentes nos OEs, como do *p*-cimeno e γ -terpineno, que aumentaram a ação antimicrobiana de compostos como o carvacrol e timol; o *p*-cimeno facilita o transporte do carvacrol por meio da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana.

O OE das folhas da *O. gratissimum* é descrito pelo potencial antibacteriano frente a bactérias Gram-negativas e positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella*

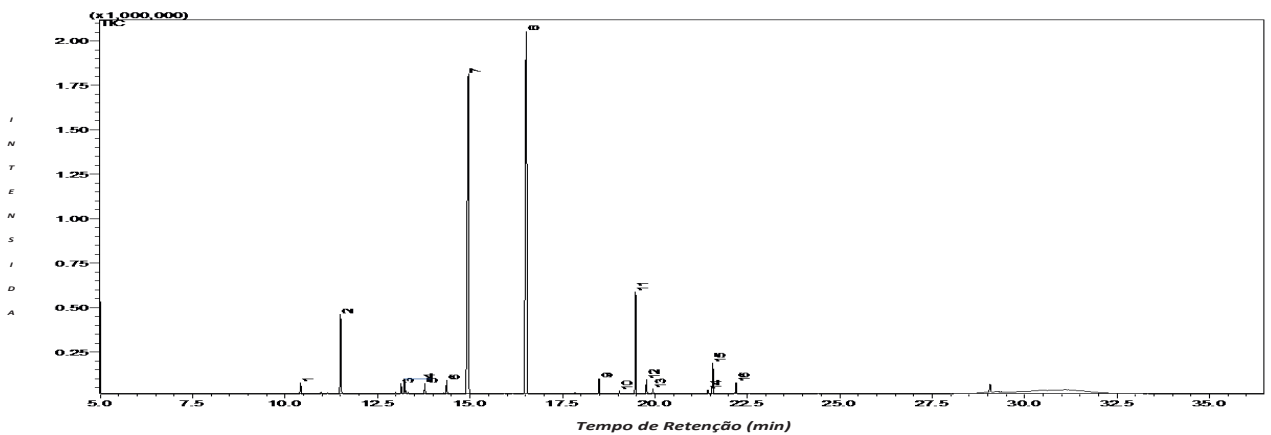
pneumoniae e *Proteus mirabilis*) (Matasyoh *et al.*, 2007). Frente a organismos dentários aeróbios, como *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus viridians*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus vulgaris*, tanto o OE puro, quanto como componente de pastas dentárias, demonstraram ação antibacteriana (Ahonkhai *et al.*, 2009).

Testes *in vitro* realizados com o OE das folhas de outra espécie do gênero *Ocimum*, a *O. sanctum* L., mostraram moderada atividade antibacteriana frente ao *S. mutans*, sendo descrito por poder ser utilizado para prevenir ou auxiliar no tratamento de cáries (Kaypetch *et al.*, 2015).

Quanto à *D. riparius*, a composição química do OE

desta espécie foi descrita pela primeira vez por Brandão *et al.* (2020). Os autores identificaram 34 compostos, sendo os monoterpenos oxigenados acetato de endo-fenchil (42,8 a 48%) e endo-fenchol (33,3 a 35%), os compostos majoritários, seguido do sesquiterpeno (*E*)-cariofileno (4,2 a 6,8%) e do óxido de cariofileno (2,3 a 3,3%). Em nosso estudo foram identificados 16 compostos (Figura 2, Quadro 4), sendo os majoritários os mesmos monoterpenos descritos por Brandão *et al.* (2020) (acetato de endo-fenchil - 43,4% e endo-fenchol - 36,5%), porém foi identificado um alceno bicíclico com um anel de seis membros em ponte □ o norbornano (5,3%).

Figura 2 - Cromatograma do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* obtido por Cromatografia Gasosa (CG-2010) acoplado à Espectrometria de Massas (CG-EM QP2010 Plus)



Fonte: dados da pesquisa.

Quadro 4 - Constituintes voláteis identificados no óleo essencial de *Dizygostemon riparius*

Pico	RT	Área	Área %	Compostos identificados*
1	10.417	98112	0,67	Norbornano
2	11.498	786038	5,37	Norbornano
3	13.136	87411	0,60	<i>o</i> -cimeno
4	13.227	127815	0,87	<i>D</i> -limoneno
5	13.778	84452	0,58	γ -terpineno
6	14.371	114625	0,78	1,3,3-trimetil-2-norbornanona
7	14.954	5348971	36,52	Endo-fenchol (α -fenchol)
8	16.528	6360759	43,41	Acetato de endo-fenchil
9	18.490	123294	0,84	Tetracosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-ona, ,6,10,15,19,23-hexametil, todos (<i>E</i>)
10	19.044	21576	0,15	Metileugenol
11	19.476	929063	6,34	Cariofileno
12	19.770	123751	0,84	Ácido 1,3,3-trimetil-biciclo[2.2.1]hept-2-il pentanoato
13	19.947	42251	0,29	α -cariofileno
14	21.433	36119	0,25	1,2,3,4,5,6-hexametil-3-ciclohexadieno
15	21.562	272287	1,86	Óxido de cariofileno
16	22.195	92131	0,63	4,4-dimetil-tetraciclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)] tridecan-9-ol

Nota: RT: Tempo de retenção; *Compostos identificados de acordo com a biblioteca do equipamento - NIST08.

Fonte: dados da pesquisa.

Da *D. riparius* não há nenhum trabalho que relaciona o potencial antibacteriano frente à *S. mutans*, o que caracteriza o nosso estudo como pioneiro. Há dados do potencial do OE das folhas de *Dizygostemon* sp., em que o MIC determinado foi de 1,34 mg/mL, tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus* (Dias *et al.*, 2018).

Sobre a espécie *L. gracilis*, a composição química da espécie já é bastante conhecida e descrita na literatura, sendo os monoterpenos, os compostos majoritários. Os monoterpenos apresentam diversas propriedades, como antimicótico, cardiovascular, antihelmíntico, anti-inflamatório e antibiótico (Santos *et al.*, 2011). Isso, devido à natureza lipofílica desta classe de compostos (Cristani *et al.*, 2007). Segundo Mendes *et al.* (2010), os monoterpenos identificados em maior concentração no OE desta espécie são o carvacrol, *o*-cimeno, γ -terpineno e *E*-cariofileno.

Há variação nos monoterpenos majoritários descritos para o OE da *L. gracilis* conforme a região do Brasil em que a planta é coletada. Segundo Gomes, Nogueira e Moraes (2011), as flutuações quantitativas dos componentes majoritários do OE de *L. gracilis*, provavelmente, pode ser relacionada com a localização geográfica, condições em que a planta foi cultivada e condições genéticas.

Diferentes amostras do OE da *L. gracilis*, coletadas em

Pernambuco/PE, apresentaram concentrações entre 36,4-45% do composto carvacrol, 37,4% do timol e 18,1-26,2% do ρ -cimeno. Todas as amostras apresentaram potencial antibacteriano frente *Salmonella choleraesuis-diarizonae*, *Enterobacter asburiae*, *Bacillus thuringiensis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *K. pneumoniae* e *E. hormaechei* (Albuquerque *et al.*, 2007). Santos *et al.* (2014) determinaram para o OE desta mesma espécie, cultivada sob diferentes práticas agrícolas, na região de Petrolina/PE, concentrações do monoterpene carvacrol (73,9 a 77%, composto majoritário), além do timol (4,9 a 10,3%), ρ -cimeno (1,68 a 3,19%), éter metil timol (0,46 a 2,36%) e o *E*-cariofileno (1,33 a 3,85%).

Segundo Suzuki, Flemming e Silva (2008), o carvacrol e o timol agem na membrana das células, alterando a atividade das mesmas, a permeabilidade, a atividade dos canais de cálcio, além de influenciarem na perda de íons potássio e perturbarem o equilíbrio iônico. Burt (2004) descreveu que o ρ -cimeno, de forma isolada, não apresenta potencial antibacteriano, porém, ele é um precursor biológico do carvacrol, ou seja, em sinergia, são eficazes no combate a bactérias.

Em avaliação *in vitro* do potencial antibacteriano do carvacrol presente no OE de uma outra espécie do mesmo gênero da *L. gracilis*, a *L. sidoides*, observou-se que a *S. mutans* foi a bactéria mais sensível frente ao carvacrol (Botelho *et al.*, 2007). O OE desta mesma espécie apresentou atividade antiaderente frente a *S. mutans*, tendo sua atividade comparada ao efeito da clorexidina, antibiótico padrão utilizado para a cavidade oral (Albuquerque *et al.*, 2012).

O OE das folhas secas de *L. gracilis*, coletada no Parque Nacional da Chapada das Mesas, Carolina-MA, com rendimento de 4,37%, teve, como composto majoritário, o monoterpene α -pineno (24,47%), seguido dos monoterpeneos 1,8-cineol (16,18%), β -pineno (11,89%) e limoneno (9,64%) (Monteiro *et al.*, 2020). Ashwinkumar *et al.* (2015), em seu estudo, mostraram que o limoneno, quando avaliado frente a diferentes patógenos (*S. pyogenes* (SF370) e 5 isolados clínicos), apresentou 75-95 % de atividade antibiofilme contra todos eles. Os autores descreveram que o limoneno tem como alvo principal, as proteínas associadas às superfícies das células das bactérias. Já em estudo de Bernades *et al.* (2010), os autores evidenciaram potencial do α -pineno e o β -pineno frente a diferentes cepas bacterianas responsáveis pelo processo cariogênico, dentre elas, o *S. mutans*.

As plantas medicinais têm chamado a atenção de pesquisadores por serem uma fonte promissora de substâncias que podem ser utilizadas no controle de microrganismos. Na literatura há diversos estudos demonstrando seus efeitos, em particular, antimicrobianos, frente a uma diversidade de microrganismos, até mesmo frente a cepas resistentes (Anibal, 2007). Nesse sentido, os OEs se destacam por serem produtos naturais que concentram grandes quantidades de fitoconstituintes com propriedades biológicas ativas, podendo servir como nova alternativa terapêutica à população, uma vez que são de fácil acesso e, por muitas vezes, cultiváveis,

como no caso da *O. gratissimum*, e estão disponíveis na flora brasileira.

4 Conclusão

Os OEs das espécies *L. gracilis*, *D. riparius* e *O. gratissimum* demonstraram potencial bactericida frente ao *S. mutans*, microrganismo com alto potencial cariogênico. Outros estudos precisam ser realizados, como do potencial destes OEs frente ao biofilme dentário, porém, com os resultados encontrados até o momento, tem-se que estes OEs, principalmente o de *O. gratissimum*, são agentes promissores antibacterianos com grandes chances de serem utilizados na área odontológica.

Referências

- AHONKHAI, I. et al. Atividades antimicrobianas dos óleos voláteis de *Ocimum bacilicum* L. e *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) contra alguns isolados dentários aeróbicos. *J. Ciênc. Farm. Paquistão*, v.22 n.4, p.405-409, 2009.
- ALBUQUERQUE, U.P. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *J. Ethnopharm.*, v.114, p.325-354, 2007. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>.
- ALBUQUERQUE, A.C.L. et al. he anti-adherence effect of *Lippia sidoides* Cham. Extract against microorganisms of dental biofilm. *Rev Bra. Plantas Med.s*, v.15, p.41-46, 2012. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100005>.
- ANIBAL, P.C. Potencial de ação antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas na inibição de *Candida* spp, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. Piracicaba: Universidade Estadual de Campinas, 2007
- AZEVEDO, S. M. *Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos*. Portugal: Universidade Fernando Pessoa, 2014.
- BORGHI, W. M. M. C.; MOIMAZ, S. A. S.; SALIBA, N.A. Métodos Alternativos para a higiene bucal e terapêutica odontológica. *Revista do Instituto de Ciências da Saúde*, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 309-314, 2005.
- BOTELHO, M.A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.40, p.349-356, 2007. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2007000300010>.
- BRANDÃO, C.M. et al. Composition and larvicidal activity of the oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a new aromatic species occurring in Maranhão, Brazil. *Chem. Biodiver.* v.17, n.11, p.462, 2020. doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000462>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Projeto SB Brasil 2003: condições de bucal da população brasileira 2002-2003: resultados principais*. Brasília: MS, 2004. doi: <https://doi.org/10.1590/1413-81232022277.22122021>.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.*, v.94, n.3, p.223-253, 2004. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico*; Norma Aprovada. Órgão emissor: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.
- CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility*

- testing. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- FABRI, R.L. et al. Potencial antimicrobiano, citotóxico e leishmanicida do extrato em diclorometano das partes aéreas de *Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae). *Rev. Eletr. Farm.*, v.17, n.1, 2020. doi: <https://doi.org/10.5216/ref.v17.54330>.
- FABROWSKI, F.J. *Eucaliptus smithii* R. T. BAKER (Myrtaceae) como espécie 75 produtora de óleo essencial no sul do Brasil. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2002.
- GOMES, S.V.F.; NOGUEIRA, P.C.L.; MORAES, V.R.S. Aspestos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclética Quím.*, v.36, n.1, p.64-77. 2011. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702011000100005>.
- KHAN, S.T.; KHAN, M.; AHMAD, J. Thymol and carvacrol induce autolysis, stress, growth inhibition and reduce the biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *AMB Express*, v.7, p.49, 2017. doi: <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0344-y>.
- MATASYOH, L.G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. *Afric. J. Biotechnol.*, v.6, p.760-765, 2007.
- MEMAR, M.Y. et al. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents. *Rev. Med. Microbiol.*, v.28, n.2, p.63-68, 2017. doi: [10.1097/MRM.000000000000100](https://doi.org/10.1097/MRM.000000000000100).
- MENDES, S.S. et al. Avaliação dos efeitos analgésico e anti-inflamatório do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis*. *J. Ethnopharmacol.*, v.129, n.3, p.391-397, 2010.
- MONTEIRO, I.N. et al. Toxicity of the *Lippia gracilis* essential oil chemotype, pinene-cineole-limonene, on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.*, v.41, n.1, p.181-187, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00191-y>.
- MOUMNI, S. et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of some Lamiaceae species essential oils from Tunisia. *BMC Compl. Med. Ther.*, v.20, n.1, p.103-118, 2020.
- NAKANO, V. *Antimicrobianos, teste de susceptibilidade*. São Paulo: USP, 2011.
- PITHON, M.M. et al. Efetividade de diferentes métodos mecânicos de remoção de placa bacteriana em pacientes com aparelho ortodôntico fixo: uma revisão sistemática /metanálise. *Biosc. J.*, v.33, n.2, 2017.
- SANTOS, I.R. et al. Óleo essencial de *Thymus vulgaris*: elaboração de enxaguatório bucal e avaliação do efeito in vitro na formação de placa bacteriana. *Latin Am. J. Pharm.*, v.29, n.6, p.941-7, 2010.
- SANTOS, M.M. et al. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* "in vitro". *Summa Phytopathol.*, v.40, n.3, p.277-280, 2014. doi: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1958>.
- SANTOS, M.R.V. et al. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Braz. J. Pharmacog.*, v.21, n.4, p.764-771, 2011. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000119>.
- SILVA, J.P.L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteritidis*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.30, p.136-141, 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500021>.
- SILVEIRA, A.B.V. et al. Quais fatores de risco determinam a cárie dentária nos dias atuais? Uma scoping review. *Res. Soc. Develop.* v.10, n.7, p.e24810716548-e24810716548, 2021. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16548>.
- SUZUKI, O.H.; FLEMMING, J.S.; SILVA, M.E.T. **Uso de óleos essenciais na alimentação de leitões**. *Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Amb.*, v.6, n.4, p.519-526, 2008. doi: <https://doi.org/10.7213/cienciaanimal.v6i4.11648>.
- WHO - World Health Organization. Prevention is better than treatment. *Bull World Health Org*, v.93, p.594-5, 2015.