

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS
NA ATENÇÃO BÁSICA

JULIANA CAPPELLARI

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de
Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda**

Umuarama
2026

JULIANA CAPPELLARI

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de
Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica com área de concentração em Sistemas Produtivos e de Utilização de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.

Orientação: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior

Umuarama

2026

Ficha Catalográfica

C247e Cappellari, Juliana.

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda / Juliana Cappellari. – Umuarama : Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.

65 f.

Orientador: Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense –

UNIPAR.

1. Etnofarmacologia. 2. Medicina tradicional. 3. Periodontia.
4. Placa bacteriana. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II.
Título.

(21 ed.) CDD: 615.321

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado na Unipar no Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica da Universidade Paranaense e no Centro de Especialidades Odontológicas de Umuarama (CEO) como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica – Área de Concentração em Sistemas Produtivos e de Utilização de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, sob orientação do(a) Dr. Arquimedes Gasparotto Junior.

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

COPG: Coordenadoria da Pós-Graduação da Universidade Paranaense

JULIANA CAPPELLARI

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de
Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda**

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior (orientador)

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)

Universidade Paranaense (UNIPAR)

Prof. Dr. Fabrício Rios Santos (banca externa)

Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT)

Prof. Dr. Emerson Luiz Botelho Lourenço

UNIPAR (banca interna)

Umuarama, 09 de abril de 2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio constante, ao Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior pela orientação competente e dedicada, e aos colegas do Programa de Pós-Graduação pelo convívio e pelas contribuições ao longo desta trajetória. Estendo meus agradecimentos à UNIPAR pelo apoio estrutural e financeiro.

CAPPELLARI, Juliana.

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda. Orientador: Dr. Arquimedes Gasparotto Junior. Ano. 2026 Dissertação (Mestrado em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026

RESUMO

A espécie vegetal *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, pertencente à família Verbenaceae e popularmente conhecida como “burrito”, é amplamente utilizada na medicina tradicional no Brasil, na Argentina e no Paraguai, principalmente sob a forma de infusões e decocções, inclusive como componente do tereré. Apesar de seu uso popular consolidado e de relatos etnofarmacológicos que sugerem propriedades biológicas relevantes, ainda são limitadas as evidências científicas que comprovem sua eficácia e segurança em aplicações clínicas específicas, especialmente no contexto odontológico. Essa lacuna é particularmente relevante diante das limitações dos antissépticos convencionais, como a clorexidina — considerada padrão-ouro no controle químico do biofilme, mas associada a efeitos adversos como pigmentação dentária, alteração do paladar, descamação mucosa e potencial desequilíbrio da microbiota oral. Nesse cenário, a investigação de alternativas fitoterápicas seguras, eficazes e de menor custo torna-se pertinente, justificando a avaliação científica do extrato de *A. polystachya* como potencial agente adjuvante no controle do biofilme dental e na modulação de processos inflamatórios orais. Este ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo avaliou a eficácia e a segurança de uma solução bucal contendo extrato aquoso de *A. polystachya* (EAAP) no manejo da gengivite aguda induzida por placa bacteriana. Foram incluídos 24 indivíduos, alocados aleatoriamente em três grupos experimentais: EAAP 1%, gluconato de clorexidina 0,12% (controle positivo) e solução de NaCl 0,9% (placebo). Os tratamentos foram realizados por meio de bochechos por 60 segundos, duas vezes ao dia, durante 14 dias. O desfecho primário consistiu na variação do Índice de Sangramento Gengival (ISG) entre o dia 0 e o dia 14. O EAAP demonstrou redução significativa do ISG a partir do sétimo dia de tratamento em comparação ao grupo placebo, mantendo-se estatisticamente superior até o 14º dia. Contudo, observa-se que, ao final do período, a clorexidina apresentou uma redução absoluta superior à do extrato vegetal, o que demanda cautela na interpretação da magnitude de sua eficácia clínica comparativa. Não foram registrados eventos adversos significativos relacionados ao uso do EAAP. Os achados sugerem que a *A. polystachya* apresenta potencial terapêutico como alternativa fitoterápica segura para o controle da gengivite aguda, reforçando a relevância da investigação de espécies nativas sul-americanas no desenvolvimento de insumos odontológicos naturais.

Palavras-chave: Etnofarmacologia. Medicina Tradicional. Periodontia. Placa bacteriana.

CAPPELLARI, Juliana. **Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of the aqueous extract of *Aloysia polystachya* for the treatment of acute gingivitis.** Advisor: Dr. Arquimedes Gasparotto Junior. Year. 2026. Dissertation (Master's degree in Medicinal Plants and Phytotherapeutics in Basic Attention) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026.

ABSTRACT

The plant species *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, belonging to the Verbenaceae family and popularly known as “burrito,” is widely used in traditional medicine in Brazil, Argentina, and Paraguay, primarily in the form of infusions and decoctions, including as a component of tereré. Despite its consolidated popular use and ethnopharmacological reports suggesting relevant biological properties, scientific evidence confirming its efficacy and safety in specific clinical applications—especially in dentistry—remains limited. This gap is particularly relevant given the limitations of conventional antiseptics such as chlorhexidine, which is considered the gold standard for chemical biofilm control but is associated with adverse effects such as tooth staining, taste alteration, mucosal desquamation, and potential imbalance of the oral microbiota. In this scenario, investigating safe, effective, and lower-cost herbal alternatives becomes pertinent, justifying the scientific evaluation of *A. polystachya* extract as a potential adjuvant agent in dental biofilm control and the modulation of oral inflammatory processes. This randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluated the efficacy and safety of a mouthwash containing aqueous extract of *A. polystachya* (AEAP) in the management of plaque-induced acute gingivitis. Twenty-four individuals were included and randomly allocated into three experimental groups: 1% AEAP, 0.12% chlorhexidine gluconate (positive control), and 0.9% NaCl solution (placebo). Treatments consisted of rinsing for 60 seconds, twice daily, for 14 days. The primary outcome was the variation in the Gingival Bleeding Index (GBI) between day 0 and day 14. AEAP demonstrated a significant reduction in GBI starting from the seventh day of treatment compared to the placebo group, remaining statistically superior until the 14th day. However, it is observed that, by the end of the period, chlorhexidine showed a higher absolute reduction than the herbal extract, requiring caution in interpreting the magnitude of its comparative clinical efficacy. No significant adverse events related to the use of AEAP were recorded. The findings suggest that *A. polystachya* presents therapeutic potential as a safe herbal alternative for the control of acute gingivitis, reinforcing the relevance of investigating native South American species in the development of natural dental products.

Keywords: Ethnopharmacology. Traditional Medicine. Periodontics. Bacterial plaque.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo - Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda

- Figura 1** – Cromatograma de picos base obtido no modo de íon negativo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya*..... 61
- Figura 2** – Mapa de calor (heatmap) com dendrograma (A) e análise de componentes principais (PCA; B) referente à resposta dos tratamentos com o placebo, clorexidina 0,12% e o extrato aquoso obtido das folhas de *Aloysia polystachya* 1%(burrito) durante os dias 0, 7 e 14 62
- Figura 3** – Acompanhamento fotográfico da condição gengival (dias 0, 7 e 14) nos grupos: placebo (NaCl 0,9%), clorexidina 0,12% e EAAP 1% (extrato aquoso de *Aloysia polystachya*) 63

LISTA DE TABELAS

Artigo - Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda

Tabela 1 – Compostos identificados no extrato aquoso de *Aloysia polystachya* por Cromatografia Líquida com Detector de Arranjo de Diodos acoplada à Espectrometria de Massas (LC-DAD-MS)55

Tabela 2 – Efeitos do tratamento por 14 dias com o extrato aquoso obtido das folhas de *Aloysia polystachya* (EAAP) sobre o índice de sangramento gengival (ISG) de pacientes portadores de gengivite aguda induzida por placa bacteriana 59

LISTA DE SIGLAS

BOP Bleeding on Probing

CEPEH Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

CEO Centro de Especialidades Odontológicas

CLX Clorexidina

DAD Detector de Arranjo de Diodos

EAAP Extrato Aquoso de *Aloysia polystachya*

ESI Ionização por Eletrospray (*Electrospray Ionization*)

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power

GBI Gingival Bleeding Index

GC-MS Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

ISG Índice de Sangramento Gengival

OMS Organização Mundial da Saúde

PCA Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*)

SEM Erro Padrão da Média (*Standard Error of the Mean*)

SisGen Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFLC Cromatografia Líquida Ultra Rápida

UFGD Universidade Federal da Grande Dourados

UNIPAR Universidade Paranaense

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1.1 Introdução	19
1.2 Revisão da Literatura	21
1.3 Referências	29
1.4 Objetivo	35
CAPÍTULO 2 – ARTIGO	36
2.1 Artigo – Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda	37
Resumo	38
Abstract	39
Introdução	40
Material e Métodos	41
Coleta da espécie e identificação botânica	41
Preparo do extrato aquoso das partes aéreas de A. polystachya (EAAP)	41
Análises fitoquímicas	42
Desenho do estudo, cenário e participantes	42
Critérios de inclusão	42
Critérios de exclusão	43
Produtos, posologia e mascaramento	43
Delineamento experimental e fluxo de visitas	43
Avaliação da inflamação gengival	44
Monitoramento de eventos adversos	44
Desfechos do estudo	44

Análises estatísticas	45
Resultados	45
Caracterização química do EAAP	45
Efeitos do tratamento com o EAAP 1% na gengivite aguda	47
Discussão	48
Conclusão	50
Referências bibliográficas	51
CAPÍTULO 3 – APÊNDICES	65
APÊNDICE A – Questionário epidemiológico aplicado durante a anamnese ...	65
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	66
CAPÍTULO 4 – ANEXOS	68
ANEXO 1 – Normas da Journal of Herbal Medicine – ISSN 2210-8033	68
ANEXO 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPEH)	68

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de
Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda**

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda

INTRODUÇÃO

As doenças periodontais constituem um conjunto de condições inflamatórias de origem infecciosa, decorrentes da resposta do hospedeiro a uma comunidade microbiana organizada em biofilme dental, que acometem os tecidos de suporte dos dentes (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; CATON et al., 2018). Entre essas condições, a gengivite induzida pelo biofilme é a manifestação mais comum, caracterizada por uma inflamação reversível e restrita à gengiva, apresentando sinais clínicos como vermelhidão, edema e sangramento à sondagem. Quando não controlada, pode evoluir para a periodontite, condição crônica e destrutiva associada à perda de inserção periodontal e à reabsorção do osso alveolar (CHAPPLE et al., 2018).

A terapêutica convencional da gengivite envolve a remoção mecânica do biofilme, complementada, em alguns casos, pelo uso de agentes antimicrobianos químicos. Entre estes, o gluconato de clorexidina destaca-se como o padrão-ouro, dada sua eficácia comprovada na redução do biofilme e da inflamação gengival (SHRIMATHI et al., 2019). Entretanto, o uso prolongado desse antisséptico associa-se a efeitos adversos relevantes, como alteração do paladar, pigmentação dental e desconforto na mucosa oral (ZANATTA; RÖSING, 2007; GUIMARÃES et al., 2006).

Nesse cenário, cresce o interesse pela fitoterapia como alternativa terapêutica segura, acessível e culturalmente aceita. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a importância das plantas medicinais como recurso complementar e incentiva a investigação científica de espécies empregadas na medicina tradicional (OMS, 2002). Diversos estudos apontam que extratos vegetais podem apresentar atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias efetivas no manejo de doenças bucais, incluindo a gengivite (FRANCISCO, 2010; GOES et al., 2016).

A espécie vegetal *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, popularmente conhecida como “Burrinho” ou “Erva-Luíza” e pertencente à família Verbenaceae, é tradicionalmente utilizada em países da América do Sul — como Brasil, Argentina e Paraguai — na forma de infusões e decocções, especialmente no preparo do tereré (PEREIRA et al., 2011; FERRO;

PEREIRA, 2018). Estudos etnofarmacológicos e pré-clínicos indicaram propriedades cardioprotetoras (MORENO et al., 2024; MORENO et al., 2023; MARQUES et al., 2021), ansiolíticas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas de diferentes preparações obtidas da *A. polystachya* (GORZALCZANY et al., 2013; CARMONA et al., 2019; MOLLER et al., 2020).

Apesar do uso difundido e das evidências preliminares de potencial farmacológico, não foram identificados estudos clínicos que investiguem os efeitos da *A. polystachya* na cavidade oral. Considerando o impacto da gengivite na saúde pública e a necessidade de alternativas fitoterápicas, justifica-se a realização de ensaios clínicos para avaliar a efetividade e a segurança dessa espécie como solução bucal. Diante disso, propõe-se a condução de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo para investigar a eficácia da solução de *A. polystachya* no tratamento da gengivite. Pretende-se, assim, validar cientificamente o uso popular da planta e contribuir para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas inovadoras e acessíveis no contexto odontológico.

1.2 Revisão da Literatura

As manifestações clínicas das doenças gengivais têm sido observadas pela humanidade há mais de quatro mil anos. Ao longo dos séculos, as noções de causa, efeito e manejo dessas patologias foram, em grande parte, dominadas pela superstição, resultando em terapias de eficácia duvidosa — frequentemente subjetivas, paliativas, por vezes dolorosas e raramente exitosas. Somente em meados do século XX o conhecimento científico sobre as doenças gengivais começou a se consolidar, evidenciando o papel crucial do biofilme dental no início e na progressão da inflamação gengival (LÖE et al., 1965).

As doenças periodontais são infecções multifatoriais e polimicrobianas que afetam as estruturas de suporte e proteção dos dentes. Dentre as diferentes manifestações clínicas, a gengivite caracteriza-se como a fase reversível da doença periodontal, apresentando classicamente edema, alteração de cor e sangramento gengival espontâneo ou à sondagem (RAMOS et al., 2019). A cárie dentária e a inflamação gengival representam as condições de saúde bucal mais prevalentes globalmente, impactando a qualidade de vida e gerando um fardo econômico significativo, responsável por 5-10% dos gastos com saúde pública na maioria dos países industrializados (VAN DER PLOEG GR et al., 2024). Diferentemente de infecções em outras regiões do corpo, as infecções orais são polimicrobianas, o que pode complexificar o tratamento (CHUKKAPALLI et al., 2015).

Estudos relatam que aproximadamente 30 espécies bacterianas estão associadas à patogênese das doenças periodontais, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Dialister pneumosintes*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus magnus*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium saphenum*, *Eubacterium nodatum*, *Mogibacterium timidum* e *Enterococcus faecalis* (TELES et al., 2006). Adicionalmente, outras espécies foram consistentemente associadas à gengivite, como *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces israelii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas* spp., *Eubacterium* spp., *Campylobacter* spp., *Prevotella* spp. e *Treponema* spp. (LOESCHE; SYED, 1978; TANNER et al., 1998).

A colonização bacteriana primária é realizada predominantemente por cocos Gram-positivos anaeróbios facultativos. Após 24 horas, o biofilme é constituído principalmente por estreptococos, com prevalência do *S. sanguis*. Na fase subsequente, bastonetes Gram-positivos superam os estreptococos, e filamentos Gram-positivos, particularmente *Actinomyces* spp., tornam-se predominantes. A heterogeneidade da placa aumenta gradualmente, incorporando um grande número de microrganismos Gram-negativos (LINDHE et al., 2010). Embora a relação entre a placa bacteriana e a inflamação gengival seja amplamente aceita hoje, a confirmação definitiva da etiologia bacteriana ocorreu apenas após o clássico estudo de gengivite experimental (LÖE et al., 1965).

A doença periodontal associada à placa envolve a inflamação dos tecidos gengivais e de suporte. O estágio inicial, denominado gengivite associada à placa, é uma condição inflamatória reversível causada pelo acúmulo e persistência de biofilmes microbianos, manifestando-se clinicamente por eritema, edema, sensibilidade e sangramento (LÖE et al., 1965; SUZUKI, 1988). A severidade dos sinais e sintomas pode variar entre indivíduos e entre diferentes sítios na mesma denteição (TATAKIS; TROMBELLI, 2004; TROMBELLI et al., 2004). A suscetibilidade individual ao desenvolvimento da doença depende das respostas imunoinflamatórias aos patógenos periodontais, sendo modulada por fatores ambientais (CEKICI et al., 2014; KINANE; LAPPIN, 2001).

Clinicamente, a placa bacteriana torna-se visível após um ou dois dias de higiene oral ineficiente. Após 10 a 21 dias de acúmulo supragengival, surgem os sinais de gengivite (VAN DER WEIJDEN et al., 1994). O controle mecânico do biofilme, por meio de higiene oral profissional e pessoal, é fundamental para o tratamento e prevenção. A escovação, o uso do fio dental e de enxaguatórios antissépticos são eficazes na redução da inflamação gengival (GARMYN et al., 1998; CROCOMBE et al., 2012). O reconhecimento do biofilme como fator etiológico primário justifica o uso coadjuvante de enxaguatórios antimicrobianos (LÖE et al., 1965). Nesse contexto, destaca-se que a patogênese periodontal não se restringe à presença do biofilme, mas envolve uma resposta imunoinflamatória exacerbada do hospedeiro frente à disbiose microbiana. A alteração do equilíbrio ecológico da microbiota oral favorece a predominância de microrganismos patogênicos, estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que desempenham papel central na amplificação da resposta inflamatória e na destruição dos tecidos

periodontais (HAJISHENGALLIS, 2015; KINANE; STATHOPOULOU; PAPAPANOU, 2017). Essas citocinas ativam vias intracelulares de sinalização, especialmente a via do fator nuclear kappa B (NF- κ B), responsável pela regulação da expressão de mediadores inflamatórios, de metaloproteinases e de fatores associados à reabsorção óssea, contribuindo para a progressão da periodontite (HAJISHENGALLIS, 2014).

Historicamente, o uso de agentes químicos para o controle da placa e da gengivite focou em ações mais preventivas do que terapêuticas (LINDHE et al., 2010). Dentre os agentes líquidos, destaca-se a clorexidina, uma bisbiguanida desenvolvida na década de 1940 e introduzida como antisséptico em 1954 (LINDHE, 2010). O estudo pioneiro de Løe e Schiott (1970) demonstrou que bochechos com solução de gluconato de clorexidina a 0,2% inibiam a formação de placa e o desenvolvimento de gengivite na ausência de higienização mecânica.

A clorexidina apresenta amplo espectro de ação, sendo eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, leveduras e vírus (COLOMBO et al., 1998; DAVIES, 1973). Atua como bacteriostática em baixas concentrações (0,02–0,06%) e bactericida em concentrações mais elevadas (0,12–0,20%) (JENKINS; WADE, 1988). Sua substantividade — capacidade de se ligar à mucosa oral e ser liberada gradualmente — garante um efeito antibacteriano prolongado (LÖE; SCHIOTT, 1970). Atualmente, é considerada o agente químico mais efetivo na redução de *S. mutans* e do biofilme oral, sendo o "padrão-ouro" em estratégias preventivas (SHRIMATHI et al., 2019; OLTRAMARI-NAVARRO et al., 2009).

Estudos comparativos indicam que a concentração de 0,12% é superior às de 0,06% e 0,12% na prevenção da placa supragengival, embora não haja diferença significativa nos índices de gengivite entre as concentrações após três semanas (HAYDARI et al., 2017). Além disso, a clorexidina a 0,2% demonstra eficácia no controle de placa e gengivite independentemente da presença de etanol na formulação (JOSE et al., 2015). Esses achados reforçam sua posição como padrão-ouro no controle químico do biofilme dental. Contudo, apesar de sua reconhecida eficácia antimicrobiana, o uso prolongado da clorexidina está associado a efeitos adversos, como pigmentação dental e de restaurações, descamação da mucosa, aumento de cálculo supragengival, sensação de ardor, sensibilidade e alterações no paladar (VASCONCELOS, 2001). Tais efeitos podem comprometer a adesão do paciente ao tratamento e limitar sua utilização contínua em protocolos de manutenção periodontal. Assim, embora eficaz no curto prazo, a clorexidina apresenta restrições que dificultam seu emprego prolongado na prática clínica. Nesse cenário, torna-se pertinente a busca por alternativas terapêuticas capazes de

associar eficácia anti-inflamatória e antimicrobiana a uma melhor tolerabilidade e segurança para uso contínuo, especialmente aquelas de origem fitoterápica, que possam atuar tanto no controle do biofilme quanto na modulação da resposta inflamatória periodontal.

1.2.1 Plantas medicinais no tratamento das patologias orais

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma planta medicinal é qualquer vegetal que possua, em um ou mais de seus órgãos, compostos que possam ser utilizados com finalidades terapêuticas ou como base para a produção de substâncias destinadas a esses fins (OMS, 2002). As plantas medicinais constituem um importante recurso terapêutico para a atenção à saúde. A abrangência da utilização de produtos naturais é vasta e engloba fins variados, sobretudo em relação à saúde bucal (LINS et al., 2013).

Nos últimos anos, houve um aumento no uso de extratos vegetais em cremes dentais e enxaguantes bucais. O surgimento de patógenos multirresistentes e a necessidade de alternativas econômicas, seguras e eficazes impulsionaram a utilização de fitoquímicos naturais derivados de plantas em produtos de higiene bucal (RAJENDIRAN et al., 2021). Este alto consumo de produtos naturais, em comparação com medicamentos sintéticos, como os antibióticos, deve-se à grande margem de segurança e tolerabilidade dos agentes naturais. Além disso, os medicamentos sintéticos também demonstraram apresentar uma maior incidência de efeitos colaterais, alergias e resistência microbiana (WU et al., 2018; ISOLA et al., 2019).

A fitoterapia tem ganhado espaço no meio odontológico por apresentar produtos naturais com elevada atividade terapêutica, menor toxicidade e melhor biocompatibilidade, além de apresentar custos mais acessíveis ao público. Tais características fazem dessa terapia uma boa alternativa para o tratamento de problemas bucais, auxiliando os profissionais da odontologia e seus pacientes (GOES et al., 2016). A utilização regulamentada de fitoterápicos no setor odontológico só foi formalizada em 2008, quando a fitoterapia foi reconhecida como uma Prática Integrativa e Complementar pelo Conselho Federal de Odontologia (CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, 2008). Essa regulamentação encontra respaldo na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS, instituída pelo Ministério da Saúde, que prevê a inserção da fitoterapia na rede pública como estratégia terapêutica complementar, ampliando o acesso da população a tratamentos seguros e culturalmente aceitos (BRASIL, 2006).

A incorporação da fitoterapia no SUS apresenta relevância não apenas clínica, mas também econômica e social, ao favorecer a ampliação do acesso a terapias de menor custo,

estimular o uso sustentável da biodiversidade brasileira e promover o desenvolvimento de cadeias produtivas locais, em consonância com as diretrizes da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006; BRASIL, 2008). Assim, a valorização de recursos naturais com potencial terapêutico contribui para a redução de desigualdades em saúde e para o fortalecimento de políticas públicas voltadas à atenção integral e humanizada.

Na Odontologia, é comum o uso de produtos naturais, o que inclui a *Matricaria chamomilla* L. (camomila), *Punica granatum* L. (romã), *Apis mellifera* L. (própolis), *Malva sylvestris* L. (malva), *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) (MOTA; et al., 2018). Um estudo realizado por Bhadbhade et al. (2011) examinou a eficácia de um enxaguante bucal contendo extrato de romã, constatando propriedades antibacterianas significativas contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prenote-la intermedia*.

No contexto odontológico, a utilização da romã é direcionada ao combate de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas presentes no biofilme dental, evidenciando propriedades anticariogênicas e antimicrobianas (MENEZES et al., 2006). Machado e Oliveira (2014), em um estudo utilizando a aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva*), destacaram que essa planta é amplamente empregada pela população do Nordeste brasileiro no tratamento de diversas enfermidades, entre elas a dor de dente. Conforme analisado em diferentes pesquisas citadas pelos autores, a aroeira demonstrou possuir significativa atividade antimicrobiana, antifúngica e antiulcerogênica.

Silva et al. (2008) confirmaram a eficácia do extrato hidroalcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. no combate a bactérias orais, incluindo *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*. Um estudo feito por Valones et al. (2019) investigou a ação de uma pasta de dente feita a partir do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn., mostrando-se eficaz no controle do sangramento gengival e da placa bacteriana quando comparada ao creme dental convencional fluoretado.

Segundo o trabalho de Goes (2016), o uso de um enxaguatório bucal com 1% de *Matricaria chamomilla* L. resultou em uma redução significativa no índice de sangramento gengival após 15 [dias] de tratamento, enquanto o grupo placebo apresentou um aumento nesse índice. Outra espécie com uso oral bastante disseminado é a *Malva sylvestris*, a qual apresentou propriedades adstringentes e anti-inflamatórias (FILTER; FREITAS; PÉRICO, 2014). A literatura relata que os flavonoides e taninos são os metabólitos secundários responsáveis pela ação anti-inflamatória da espécie (MOREIRA; FERREIRA; HASHIZUME, 2012).

Estão disponíveis no mercado nacional formulações antissépticas à base de tintura de malva, quinosol e tirotricina, eficazes no tratamento de processos inflamatórios e infecciosos orais. Comercialmente conhecidas como Malvatricin (Daudt), são indicadas para o manejo de aftas, gengivites, amigdalites, faringites, estomatites e abscessos dentários. A recomendação de uso consiste em dissolver 10 mL da solução em meio copo de água morna, realizando bochechos ou gargarejos de três a quatro vezes ao dia (TORRES et al., 2000). Possui eficácia relatada contra bactérias presentes no biofilme periodontopatogênico, sendo, portanto, reconhecido como um fitoterápico eficaz para o uso clínico. Além disso, caracteriza-se pelo seu baixo custo, reduzida toxicidade e excelente biocompatibilidade (ECKER et al., 2015).

O *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) é uma especiaria amplamente utilizada na culinária ao redor do mundo (CORTÉS-ROJAS; DE SOUZA; OLIVEIRA, 2014). Dentre os diversos compostos bioativos que possui, destaca-se o eugenol, um monoterpene conhecido por suas variadas propriedades farmacológicas, incluindo ações antibacterianas (DIDRY; DUBREUIL; PINKAS, 1994), antifúngicas (PINTO et al., 2009) e anti-inflamatórias (DANIEL et al., 2009). Dessa forma, na prática odontológica, o cravo-da-índia é amplamente utilizado em procedimentos endodônticos devido às suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antissépticas (LIMA JÚNIOR; DIMENSTEIN, 2006).

1.2.2 *Aloysia polystachya*

Aloysia polystachya (Griseb.) Moldenke, conhecida popularmente como “burrito” ou “erva-Luíza”, é uma planta da família Verbenaceae, nativa da América do Sul, abrangendo regiões do Brasil, Argentina, Paraguai e Bolívia. Trata-se de uma planta aromática, subarborescente, que atinge até 1,5 m de altura. Apresenta ramos finos, quebradiços, esbranquiçados e decumbentes, de porte ereto quando jovem e de semiprostrado a prostrado quando adulta. Possui folhas alternas (raramente opostas), pecioladas, pequenas (com cerca de 3 cm de comprimento) e de cor verde-claro; as flores são numerosas e brancas (PEREIRA et al., 2011; FERRO; PEREIRA, 2018).

No Brasil, assim como no Paraguai, as folhas de *A. polystachya* são utilizadas no preparo da bebida aromática estimulante conhecida como tereré. A planta é também empregada na forma de decocção ou tintura para o tratamento de dores abdominais e enjoos (SORARU; BANDONI, 1978; ALONSO; DESMARCHELIER, 2005). Além disso, a espécie é utilizada popularmente como sedativa. No tratamento da ansiedade, a *A. polystachya* tem despertado

interesse por ser capaz de reduzir os níveis de ansiedade sem causar sedação (STELLA et al., 2016). Estudos pré-clínicos demonstraram os efeitos sedativos, ansiolíticos e antidepressivos do extrato hidroalcoólico das folhas de *A. polystachya* (FALZON; BALABANOVA, 2017; HELLIÓN IBARROLA et al., 2008; HELLIÓN IBARROLA et al., 2006). Adicionalmente, um ensaio clínico randomizado e controlado por placebo avaliou a eficácia das folhas pulverizadas da planta no tratamento de sintomas de ansiedade. Os resultados indicaram uma redução significativa nos escores da escala de ansiedade de Hamilton após 8 semanas de tratamento, sem efeitos colaterais significativos (CARMONA et al., 2019).

Investigações pré-clínicas também identificaram o potencial antitumoral (SOARES MACHADO et al., 2020), analgésico (ORTIZ et al., 2022) e cardioprotetor (MORENO et al., 2024; MORENO et al., 2023; MARQUES et al., 2021) da *A. polystachya*. Pesquisas indicam que a espécie possui compostos bioativos, incluindo flavonoides, terpenos e óleos essenciais (principalmente carvona e limoneno), reconhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Esses compostos podem ser eficazes no manejo de condições inflamatórias da cavidade oral, como gengivite, periodontite e estomatite (CARMONA et al., 2019; GORZALCZANY et al., 2013).

Pina et al. (2012) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito do momento da colheita das folhas na composição do óleo essencial de *A. polystachya*. Além disso, os autores investigaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, três espécies de *Candida* e *Trichophyton rubrum*. O perfil químico dos óleos essenciais variou de acordo com o horário da colheita, embora os compostos identificados tenham sido principalmente a carvona e o limoneno. A atividade antifúngica dos óleos essenciais contra isolados clínicos de *T. rubrum*, *Candida albicans*, *C. krusei* e *C. famata* foi evidenciada.

Paralelamente, Pérez-Zamora et al. (2016) demonstraram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *A. polystachya* contra *E. coli*, isolados clínicos de *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923 e *S. aureus* sensível à meticilina. Os principais compostos identificados foram carvona (78,9%) e limoneno (14,2%), estando a atividade antimicrobiana relacionada à presença desses constituintes.

Moller et al. (2020) desenvolveram um estudo visando determinar a composição química do óleo essencial de *A. polystachya* obtido de folhas coletadas no centro do Chile e avaliar suas atividades antioxidante e citotóxica. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) identificou oito compostos, sendo os mais abundantes a

R-carvona (91,03%), o R-limoneno (4,10%) e a diidrocarvona (1,07%). Nos testes sobre o estado redox (DPPH, H₂O₂, FRAP e TRAP), o óleo essencial apresentou boa atividade antioxidante em comparação com controles comerciais. Além disso, ensaios antiproliferativos realizados em três linhagens de células cancerígenas humanas (côlon HT-29, próstata PC-3 e mama MCF-7) revelaram valores de IC₅₀ de 5,85, 6,74 e 9,53 µg/mL, respectivamente, com índices de seletividade de 4,75, 4,12 e 2,92. Esses achados sugerem que o óleo essencial de *A. polystachya* possui potencial promissor para o desenvolvimento de tratamentos naturais contra o câncer.

Apesar de a *A. polystachya* ser amplamente utilizada no preparo de bebidas aromáticas, especialmente em práticas culturais que envolvem a retenção bucal da infusão para a intensificação do sabor, os possíveis efeitos dessa exposição direta e repetida sobre os tecidos gengivais ainda não foram devidamente investigados na literatura odontológica. Observa-se, portanto, uma lacuna científica relevante quanto à avaliação de sua segurança, biocompatibilidade e de seu potencial impacto sobre a mucosa oral e os tecidos periodontais. Paralelamente, evidências farmacológicas já descritas demonstram que a espécie apresenta propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas — características que sugerem potencial terapêutico no controle da gengivite e na modulação da resposta inflamatória associada ao biofilme dental. Nesse cenário, torna-se pertinente a investigação científica sistematizada dos efeitos do extrato de *A. polystachya* sobre parâmetros clínicos e biológicos relacionados à saúde gengival.

Assim, o presente estudo justifica-se pela necessidade de preencher essa lacuna na literatura odontológica, contribuindo para a validação científica de uma prática tradicional e para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas seguras, eficazes e acessíveis no âmbito da saúde bucal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHADDBHADE, S. J. et al. The antiplaque efficacy of pomegranate mouthrinse. *Quintessence International*, v. 42, n. 1, p. 29–36, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC). Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2008.

CARMONA, F. et al. *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) powdered leaves are effective in treating anxiety symptoms: a phase-2, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 242, art. 112060, 2019.

CATON, J. G. et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, Hoboken, v. 45, supl. 20, p. S1–S8, 2018.

CEKICI, A.; KANTARCI, A.; HASTURK, H.; VAN DYKE, T. E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, v. 64, p. 57–80, 2014.

CHAPPLE, I. L. C. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop. *Journal of Clinical Periodontology*, Hoboken, v. 45, supl. 20, p. S68–S77, 2018.

CHUKKAPALLI, S. S. et al. Polymicrobial oral infection with four periodontal bacteria orchestrates a distinct inflammatory response and atherosclerosis in ApoE-null mice. *PLoS One*, v. 10, n. 11, e0143291, 2015.

COLOMBO, A. P. V. et al. Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 25, n. 2, p. 169–180, 1998.

CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. Resolução CFO nº 82, de 25 de setembro de 2008. Reconhece e regulamenta o uso pelo cirurgião-dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 25 set. 2008.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; DE SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Cravinho (*Syzygium aromaticum*): um tempero precioso. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 4, n. 2, p. 90–96, 2014.

CROCOMBE, L. A. et al. Is self-interdental cleaning associated with dental plaque levels, dental calculus, gingivitis and periodontal disease? *Journal of Periodontal Research*, v. 47, n. 2, p. 188–197, 2012.

- DANIEL, A. N. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, p. 212–217, 2009.
- DAVIES, A. The mode of action of chlorhexidine. *Journal of Periodontal Research. Supplement*, v. 12, p. 68–75, 1973.
- DESMARCHELIER, C.; ALONSO, J. *Plantas medicinales para la atención primaria de la salud*. Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 2005. p. 52.
- DIDRY, N.; DUBREUIL, L.; PINKAS, M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 69, n. 1, p. 25–28, 1994.
- ECKER, A. C. L.; MARTINS, I. S.; KIRSCH, L.; LIMA, L. O.; STEFENON, L.; MOZZINI, C. B. Efeitos benéficos e maléficos da *Malva sylvestris*. *Journal of Oral Investigations*, v. 4, n. 1, p. 39–43, 2015.
- FALZON, C. C.; BALABANOVA, A. Phytotherapy: an introduction to herbal medicine. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, v. 44, n. 2, p. 217–227, 2017.
- FRANCISCO, K. S. F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Revista Saúde*, v. 4, n. 1, p. 18–24, 2010.
- FERRO, D.; PEREIRA, A. M. S. *Fitoterapia: conhecimentos tradicionais e científicos*. 1. Ed. São Paulo: Bertolucci, 2018.
- FILTER, M.; DE FREITAS, E. M.; PÉRICO, E. Influência de diferentes concentrações dos fitorreguladores ácido 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético na propagação vegetativa de *Malva sylvestris* L. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, p. 47–53, 2014.
- GARMYN, P.; VAN STEENBERGHE, D.; QUIRYNEN, M. Efficacy of plaque control in the maintenance of gingival health: plaque control in primary and secondary prevention. In: LANG, N. P.; ATTSTRÖM, R.; LÖE, H. (ed.). *Proceedings of the European Workshop on Mechanical Plaque Control*. Berlin: Quintessenz Verlag, 1998. p. 107–120.
- GORZALCZANY, S. et al. Anti-inflammatory activity of extracts from *Aloysia polystachya*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 146, n. 1, p. 173–176, 2013.
- GOES, P. et al. Clinical efficacy of a 1% *Matricaria chamomilla* L. mouthwash and 0.12% chlorhexidine for gingivitis control in orthodontic patients. *Journal of Oral Science*, v. 58, n. 4, p. 569–574, 2016.
- GUIMARÃES, A. R. D. et al. Self-perception of side effects by adolescents in a chlorhexidine-fluoride-based preventive oral health program. *Journal of Applied Oral Science*, v. 14, n. 4, p. 291–296, 2006.
- HAJISHENGALLIS, G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in Immunology*, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 3–11, 2014.

HAIJSHENGALLIS, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, London, v. 15, n. 1, p. 30–44, 2015.

HAYDARI, M. et al. Comparing the effect of 0.06%, 0.12% and 0.2% chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in experimental gingivitis. *BMC Oral Health*, v. 17, n. 1, p. 118, 2017.

HELLIÓN-IBARROLA, M. C. et al. The anxiolytic-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 105, n. 3, p. 400–408, 2006.

HELLIÓN-IBARROLA, M. C. et al. The antidepressant-like effects of *Aloysia polystachya* in mice. *Phytomedicine*, v. 15, n. 6–7, p. 478–483, 2008.

ISOLA, G.; POLIZZI, A.; MURAGLIE, S.; LEONARDI, R.; LO GIUDICE, A. Assessment of vitamin C and antioxidant profiles in saliva and serum in patients with periodontitis and ischemic heart disease. *Nutrients*, v. 11, n. 12, art. 2956, 2019. DOI: 10.3390/nu11122956

JENKINS, S.; WADE, W. O mecanismo de ação da clorexidina: um estudo do crescimento de placa em inserções de esmalte *in vivo*. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 15, p. 415–424, 1988.

JOSE, A. et al. Efficacy of alcohol-free or alcohol-containing chlorhexidine mouthrinses on gingival bleeding. *British Dental Journal*, v. 219, n. 3, p. 125–130, 2015.

KINANE, D. F.; LAPPIN, D. F. Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 59, n. 3, p. 154–160, 2001.

KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, London, v. 3, n. 17038, 2017.

LIMA JÚNIOR, J. F.; DIMENSTEIN, M. A fitoterapia na saúde pública em Natal/RN: visão do odontólogo. *Saúde em Revista*, v. 8, n. 19, p. 37–44, 2006.

LINDHE, J.; LANG, N. P.; KARRING, T. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

LINS, R. et al. Avaliação clínica de bochechos com extratos de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, p. 112–120, 2013.

LÖE, H.; SCHIOTT, C. R. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on plaque and gingivitis in man. *Journal of Periodontal Research*, v. 5, p. 79–83, 1970.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*, v. 36, p. 177–187, 1965.

LOESCHE, W. J.; SYED, S. A. Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. *Infection and Immunity*, v. 21, n. 3, p. 830–839, 1978.

- MACHADO, A. C.; OLIVEIRA, R. C. Medicamentos fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, p. 283–289, 2014.
- MARQUES, A. A. M. et al. Ethnopharmacological investigation of the cardiovascular effects of the ethanol-soluble fraction of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke leaves in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 274, art. 114077, 2021. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114077.
- MENEZES, S. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos do biofilme dental. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 2, p. 201–205, 2006.
- MOLLER, A. C. et al. Antioxidant and anti-proliferative activity of essential oil and main components from leaves of *Aloysia polystachya* harvested in Central Chile. *Molecules*, v. 26, n. 1, art. 131, 2020.
- MOREIRA, M. J. S.; FERREIRA, M. B. C.; HASHIZUME, L. N. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana dos componentes de um enxaguatório bucal contendo malva. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v. 12, n. 4, p. 505–509, 2012.
- MORENO, K. G. T.; DE ALMEIDA, T. L.; MARQUES, A. A. M.; DONADEL, G.; LOURENÇO, E. L. B.; DE ALMEIDA, D. A. T.; GASPAROTTO, A. Evidence of the cardioprotective effects of *Aloysia polystachya* in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 26, n. 1, p. 36–39, 2023. DOI: 10.1089/jmf.2022.0027.
- MORENO, K. G. T. et al. Cardioprotective effects of *Aloysia polystachya* essential oil on a rat model with multiple cardiovascular risk factors. *Planta Médica*, v. 90, n. 9, p. 708–716, 2024. DOI: 10.1055/a-2294-6922.
- MOTA, I. B. O.; CUNHA, L. S.; BRAGA, L. L. A.; LIMA, C. C.; DIETRICH, L. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos fitoterápicos usados para a saúde bucal. *Psicologia e Saúde em Debate*, v. 4, n. 1, p. 71-80, 2018.
- OLTRAMARI-NAVARRO, P. V. P. et al. Effectiveness of 0.50% and 0.75% chlorhexidine dentifrices in orthodontic patients. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, v. 136, n. 5, p. 651–656, 2009.
- ORTIZ, M. et al. Attenuation of pain and inflammation induced in mice treated orally with crude extract of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 12, n. 8, p. 102–111, 2022.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Estratégia da OMS sobre Medicina Tradicional 2002–2005*. Genebra: OMS, 2002.
- PEREIRA, A. M. S. et al. (Org.). *Manual prático de multiplicação e colheita de plantas medicinais*. Ribeirão Preto: Bertolucci, 2011. p. 23.

- PÉREZ ZAMORA, C. M. et al. Antibacterial activity of essential oils of *Aloysia polystachya* and *Lippia turbinata* (Verbenaceae). *Journal of Essential Oil Research*, v. 28, n. 6, p. 1–8, 2016.
- PINA, E. S. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke grown in Brazil. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 6, n. 41, p. 5412–5416, 2012.
- PINTO, E. et al. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, v. 58, n. 11, p. 1454–1462, 2009.
- RAJENDIRAN, M. et al. Recent development of active ingredients in mouthwashes and toothpastes for periodontal diseases. *Molecules*, v. 26, n. 7, art. 2001, 2021.
- RAMOS, T. N. M. et al. Efficacy of virginiamycin for the control of periodontal disease in calves. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 39, n. 2, p. 112–122, 2019.
- SORARÚ, S. B.; BANDONI, A. L. Plantas de la medicina popular argentina: guía ilustrada de las cincuenta plantas indígenas más empleadas. Buenos Aires: Editorial Albatros, 1978.
- SHRIMATHI, S. et al. Comparative evaluation of cocoa bean husk, ginger and chlorhexidine mouth washes in the reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* count in saliva: a randomized controlled trial. *Cureus*, v. 11, n. 6, e1234, 2019.
- SILVA, M. S. A. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 236–240, 2008.
- SOARES MACHADO, M. et al. Extract from *Aloysia polystachya* induces the cell death of colorectal cancer stem cells. *Nutrition and Cancer*, v. 72, n. 6, p. 1004–1017, 2020.
- STELLA, A. P. D. et al. *Plantas medicinais com potenciais ansiolíticos*. Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, 2016.
- SUZUKI, J. B. Diagnosis and classification of the periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, v. 32, p. 195–216, 1988.
- TANNER, A.; MAIDEN, M. F.; MACUCH, P. J. et al. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 25, p. 85–98, 1998.
- TATAKIS, D. N.; TROMBELLI, L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: I. Background review and rationale. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 31, n. 4, p. 229–238, 2004.
- TELES, R. P.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology 2000*, v. 42, n. 1, p. 180–218, 2006.

TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. *Brazilian Dental Science*, v. 3, n. 2, p. 1–8, 2000.

TROMBELLI, L.; SCAPOLI, C.; TATAKIS, D. N.; MINENNA, L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: response in aggressive periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 31, p. 253–259, 2004.

VALONES, M. A. A. et al. Clinical assessment of rosemary-based toothpaste (*Rosmarinus officinalis* Linn.): a randomized controlled double-blind study. *Brazilian Dental Journal*, v. 30, n. 2, p. 146–151, 2019.

VAN DER PLOEG, G. R. et al. Multi-way modelling of oral microbial dynamics and host–microbiome interactions during induced gingivitis. *npj Biofilms and Microbiomes*, v. 10, n. 1, art. 89, 2024.

VAN DER WEIJDEN, G. A. et al. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. *Journal of Periodontal Research*, v. 29, n. 3, p. 168–173, 1994.

VASCONCELOS, J. O uso da clorexidina na prática odontológica. *JAO*, v. 27, p. 35–49, 2001.

WU, Y.-H. et al. Effects of theaflavins on tissue inflammation and bone resorption on experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Research*, v. 53, n. 6, p. 1009–1019, 2018.

ZANATTA, F. D.; RÖSING, C. K. Clorexidina: mecanismos de ação e evidências atuais. *Scientific-A*, v. 1, n. 2, p. 35–43, 2007.

1.4 Objetivo

Conduzir um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo para avaliar a eficácia do extrato aquoso de *A. polystachya* no tratamento da gengivite aguda.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo do extrato aquoso de
Aloysia polystachya para o tratamento de gengivite aguda**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista Journal of Herbal Medicine

RESUMO

A espécie vegetal *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, popularmente conhecida como “burrito” e pertencente à família Verbenaceae, é tradicionalmente utilizada no Brasil, na Argentina e no Paraguai sob a forma de infusões e decocções, especialmente no preparo da bebida estimulante denominada tereré. Este ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo avaliou a eficácia e a segurança de uma solução bucal contendo extrato aquoso de *A. polystachya* (EAAP) no manejo da gengivite aguda induzida por placa bacteriana. Foram incluídos 24 indivíduos, alocados aleatoriamente em três grupos experimentais: EAAP 1%, gluconato de clorexidina 0,12% (controle positivo) e solução de NaCl 0,9% (placebo). Os tratamentos foram realizados por meio de bochechos de 60 segundos, duas vezes ao dia, durante 14 dias. O desfecho primário foi a variação do índice de sangramento gengival (ISG) entre os dias 0 e 14. Houve redução significativa do ISG no grupo experimental ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo placebo. O EAAP demonstrou diminuição estatisticamente significativa do ISG a partir do sétimo dia de tratamento ($p < 0,05$), mantendo sua eficácia até o final do período experimental no 14º dia ($p < 0,01$). Não foram registrados eventos adversos significativos relacionados ao uso do EAAP. Os achados sugerem que a *A. polystachya* apresenta potencial terapêutico como alternativa fitoterápica segura e eficaz para o controle da gengivite aguda, reforçando a relevância da investigação de espécies nativas sul-americanas no desenvolvimento de produtos odontológicos naturais.

Palavras-chave: Etnofarmacologia. Medicina Tradicional. Periodontia. Placa bacteriana.

ABSTRACT

The plant species *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, commonly known as "burrito" and belonging to the Verbenaceae family, is traditionally used in Brazil, Argentina, and Paraguay as infusions and decoctions, particularly in the preparation of the stimulant beverage known as tereré. This randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluated the efficacy and safety of an oral rinse containing an aqueous extract of *A. polystachya* (AEAP) in the management of plaque-induced acute gingivitis. Twenty-four participants were included and randomly allocated into three experimental groups: 1% AEAP, 0.12% chlorhexidine gluconate (positive control), and 0.9% NaCl solution (placebo). Treatments consisted of 60-second rinses performed twice daily for 14 days. The primary endpoint was the change in the Gingival Bleeding Index (GBI) between days 0 and 14. A significant reduction in GBI was observed in the experimental group ($p < 0.05$) compared to the placebo group. AEAP demonstrated a statistically significant decrease in GBI starting from the seventh day of treatment ($p < 0.05$), maintaining its efficacy until the end of the experimental period on day 14 ($p < 0.01$). No significant adverse events related to AEAP use were reported. These findings suggest that *A. polystachya* possesses therapeutic potential as a safe and effective phytotherapeutic alternative for controlling acute gingivitis, reinforcing the relevance of investigating native South American species for the development of natural dental products.

Keywords: Ethnopharmacology. Traditional Medicine. Periodontics. Bacterial plaque.

Introdução

As doenças periodontais constituem um conjunto de condições inflamatórias de origem infecciosa que afetam os tecidos de suporte dos dentes. Entre elas, a gengivite é a manifestação mais comum, caracterizada por uma inflamação gengival reversível associada ao acúmulo de biofilme bacteriano, a qual pode evoluir para periodontite se não tratada (Løe; Theilade; Jensen, 1965). Esse processo inflamatório gengival relaciona-se não apenas à perda dentária, mas também ao impacto negativo sobre a qualidade de vida e a saúde sistêmica dos indivíduos (Baban, 2021).

A terapêutica convencional da gengivite baseia-se no controle mecânico do biofilme bacteriano, complementado, em alguns casos, por agentes antimicrobianos químicos. Entre estes, o digluconato de clorexidina destaca-se como o ‘padrão-ouro’, devido à sua comprovada eficácia na redução do biofilme e da inflamação gengival (Shrimathi et al., 2019). Entretanto, o uso prolongado desse antisséptico está associado a efeitos adversos relevantes, como alteração do paladar, pigmentação dental e desconforto na mucosa oral (Zanatta; Rösing, 2007; Guimarães et al., 2006).

Nesse cenário, cresce o interesse pela fitoterapia como alternativa terapêutica segura, acessível e culturalmente aceita. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a importância das plantas medicinais como recurso terapêutico complementar, incentivando a investigação científica de espécies utilizadas na medicina tradicional (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2002). Diversos estudos têm demonstrado que extratos vegetais podem apresentar atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias eficazes no manejo de doenças bucais, incluindo a gengivite (Francisco, 2010; Goes et al., 2016).

A espécie *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke, popularmente conhecida como “burrito” ou “erva-Luíza”, pertence à família Verbenaceae e é tradicionalmente utilizada associada ao consumo de uma bebida estimulante (tereré) em países da América do Sul, incluindo o Brasil, Argentina e Paraguai (Pereira et al., 2011; Ferro; Pereira, 2018). Estudos etnofarmacológicos e pré-clínicos demonstraram que a planta possui propriedades ansiolíticas, anti-inflamatórias, antioxidantes, cardioprotetoras (Moreno et al., 2024; Moreno et al., 2023; Marques et al., 2021) e antimicrobianas, atribuídas principalmente aos compostos voláteis carvona e limoneno (Gorzalczany et al., 2013; Carmona et al., 2019; Moller et al., 2020).

Observamos o uso regional frequente de *A. polystachya* associada ao tereré, o que implica contato direto e repetido com a mucosa oral. A partir dessa observação etnofarmacológica, levantamos a hipótese de que seus compostos bioativos poderiam exercer efeito modulador da inflamação gengival.

Apesar de seu uso difundido e das evidências preliminares sobre seu potencial farmacológico, ainda não há estudos clínicos que investiguem os efeitos da *A. polystachya* na cavidade oral. Observa-se, portanto, uma escassez de evidências que avaliem seu uso no controle da gengivite e sua possível atuação sobre parâmetros inflamatórios periodontais. Considerando o impacto da gengivite na saúde pública, bem como a necessidade de alternativas fitoterápicas seguras e eficazes, é pertinente a realização de ensaios clínicos que avaliem a efetividade e a segurança dessa espécie como solução bucal. Assim, este projeto propõe a condução de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, visando investigar a eficácia do extrato aquoso obtido das folhas de *A. polystachya* no tratamento da gengivite aguda. A pesquisa busca não apenas validar cientificamente o uso popular da planta, mas também contribuir para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas inovadoras e acessíveis no contexto odontológico. Diante das limitações descritas, torna-se oportuno investigar alternativas com potencial anti-inflamatório e antimicrobiano, capazes de atuar tanto no controle do biofilme quanto na modulação da resposta inflamatória.

Material e Métodos

Coleta da espécie e identificação botânica

As folhas de *A. polystachya* foram coletadas em março de 2022 em habitat natural na região da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (21°13'15" S e 54°48'21" O; altitude: 430 m). Uma exsicata (voucher n.º 892) foi depositada no Herbário DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), após identificação botânica realizada pela Dra. Zefa Valdivina Pereira. A nomenclatura da espécie segue a base de dados The Plant List (acesso em 27 de outubro de 2025). O uso da espécie foi cadastrado previamente no Sistema Nacional de

Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob a Certidão nº A8DF115.

Preparo do extrato aquoso das partes aéreas da *A. polystachya* (EAAP)

O material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 37 °C por 5 dias. Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho de facas e acondicionadas em sacos duplos (polietileno na parte interna e papel Kraft na externa) para proteção contra a umidade e a luz até o momento da extração. Mimetizando o uso popular, preparou-se o extrato aquoso utilizando 5 g do material vegetal triturado em 500 mL de água em ebulição, obtendo-se uma concentração de 1%. A infusão foi mantida em repouso até atingir a temperatura ambiente (~ 2 h). O Extrato Aquoso de *A. polystachya* (EAAP) foi filtrado e armazenado sob refrigeração, apresentando um rendimento de 14,5%.

Análises fitoquímicas

As análises foram realizadas em um sistema de cromatografia líquida ultra rápida (UFLC) (Shimadzu, Kyoto, Japão), acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD) e a um espectrômetro de massas (Bruker Daltonics, Billerica, EUA). A separação cromatográfica ocorreu em uma coluna Kinetex C18 (150 × 2,2 mm; 2,6 µm, Phenomenex®), com fase móvel composta por água ultrapura (A) e acetonitrila (B), acidificada com 0,1% de ácido fórmico.

Na espectrometria de massas, utilizou-se fonte de ionização por eletrospray (ESI), operando nos modos positivo e negativo. O nitrogênio foi empregado como gás de nebulização (4 bar), gás de secagem (9 L/min) e gás de colisão (CID). Para a injeção no sistema (8 µL), o extrato foi solubilizado em metanol: água (6:4 v/v) na concentração de 1 mg/mL e previamente filtrado em membrana de PTFE (0,22 µm, Millex-Millipore).

Desenho do estudo, cenário e participantes

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, distribuído em três grupos paralelos (n = 8 por grupo, totalizando 24 pacientes). A randomização foi realizada por meio de uma sequência aleatória previamente gerada, sendo os participantes alocados conforme a ordem de inclusão no estudo. Os participantes foram recrutados no Centro de Especialidades Odontológicas (CEO) de Umuarama, Paraná, Brasil. A

seleção dos participantes ocorreu por meio de amostragem consecutiva no serviço de referência, que apresenta fluxo assistencial médio de aproximadamente 12 pacientes/mês com sinais de gengivite aguda. Considerando o período de três meses previsto para o recrutamento, estimou-se uma população elegível de 36 pacientes. Após a triagem baseada nos critérios de inclusão e exclusão, e mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), 24 indivíduos foram incluídos no estudo. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Paranaense (CEPEH/UNIPAR) sob o parecer nº 7.621.773.

Critérios de inclusão

Para a participação no estudo, foram considerados os seguintes critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos; ausência de tabagismo; diagnóstico de gengivite induzida por placa com sangramento à sondagem; ausência de perda de inserção clínica, mobilidade dentária ou periodontite; ausência de alergia conhecida à clorexidina ou a plantas medicinais; não utilização de anticoagulantes ou antiplaquetários; e assinatura do TCLE.

Critérios de exclusão

Os seguintes critérios de exclusão foram considerados para o estudo: diabetes, transtornos mentais ou outras condições sistêmicas graves potencialmente interferentes; etilismo crônico; idade inferior a 18 anos; tabagismo; uso de anticoagulantes ou antiplaquetários; tratamento periodontal nos últimos 6 meses; presença de bolsas periodontais; gestação; ou recusa em participar/assinar o TCLE.

Tratamentos, posologia e mascaramento

O extrato aquoso de *A. polystachya* foi preparado no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da UNIPAR. O digluconato de clorexidina 0,12% (PerioGard® – Colgate-Palmolive Brasil) e o placebo (NaCl 0,9%) (JP Indústria Farmacêutica S/A, Ribeirão Preto, SP) foram adquiridos em farmácias de Umuarama (PR). Os produtos foram envasados em frascos herméticos, codificados e indistinguíveis entre si, e distribuídos semanalmente. As intervenções compreenderam: (i) extrato aquoso de *A. polystachya* a 1%; (ii) digluconato de clorexidina 0,12% (controle positivo); e (iii) solução de cloreto de sódio 0,9% (placebo). A infusão foi preparada na proporção de 1 g/100 mL (1% p/v), definida com base no uso tradicional, que

recomenda um 'punhado' de folhas para o preparo. A massa foi previamente determinada em balança analítica para assegurar a padronização experimental, conforme recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2003). A posologia consistiu na realização de bochechos com 20 mL da solução designada, por 60 segundos, duas vezes ao dia, durante 14 dias. O cegamento foi mantido para participantes e examinadores.

Delineamento experimental e fluxo de visitas

O cronograma do estudo foi estruturado em quatro visitas, conforme descrito a seguir:

V0 — Visita de inclusão (triagem): Nesta etapa, os voluntários foram avaliados quanto aos critérios de elegibilidade. Todos os participantes receberam, previamente à intervenção, tratamento periodontal básico não cirúrgico, consistindo em raspagem e alisamento radicular, além de instruções de higiene oral. Após a apresentação dos objetivos do estudo, procedeu-se à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias. Na sequência, realizou-se o exame odontológico inicial e a aplicação de um questionário padronizado.

V1 — Início do tratamento (dia 0): Realizada sete dias após a V0. Nesta visita, procedeu-se à avaliação clínica e à documentação fotográfica basal. Os produtos placebo, digluconato de clorexidina 0,12% ou extrato aquoso de *A. polystachya*, foram entregues aos pacientes de acordo com os respectivos grupos de alocação.

V2 — Seguimento (dia 7): Uma semana após a V1, repetiram-se o exame clínico e a documentação fotográfica.

V3 — Finalização (dia 14): Duas semanas após a V1, realizou-se a última avaliação clínica e documentação fotográfica, encerrando-se a fase experimental.

Avaliação da inflamação gengival

A inflamação gengival foi mensurada por meio do Índice de Sangramento Gengival (ISG), conforme descrito por Ainamo e Bay (1975). Utilizou-se uma sonda periodontal milimetrada PCP-UNC 15 (Hu-Friedy®, Chicago, EUA), inserida suavemente no sulco gengival ao redor de cada dente selecionado, avaliando-se quatro faces: vestibular,

lingual/palatina, mesial e distal. Aguardaram-se 10 segundos após a sondagem para o registro do sangramento, classificado como 1 (presença de sangramento) ou 0 (ausência). O índice final foi obtido pelo cálculo do percentual de superfícies sangrantes em relação ao total de superfícies examinadas. Para esta análise, foram selecionados quatro dentes por quadrante, totalizando 16 dentes: 1º quadrante: dentes 16, 15, 14 e 12; 2º quadrante: dentes 22, 24, 25 e 26; 3º quadrante: dentes 36, 35, 34 e 31; e 4º quadrante: dentes 46, 45, 44 e 41.

Monitoramento de eventos adversos

O monitoramento dos participantes foi realizado de forma sistemática ao longo de todo o período experimental. Em cada visita, procedeu-se à investigação de eventos adversos mediante anamnese dirigida e exame físico intraoral. Os dados foram registrados em ficha específica, detalhando-se a descrição, data de início, duração, severidade, conduta terapêutica e desfecho do evento. Atenção particular foi dada aos efeitos colaterais associados ao uso de colutórios, tais como: irritação da mucosa bucal, disgeusia (alteração do paladar), gosto residual, sensação de ardor e manchamento/pigmentação dentária. O protocolo definiu que eventos adversos graves seriam notificados imediatamente ao CEPEH/UNIPAR e conduzidos de acordo com as diretrizes institucionais vigentes.

Desfechos do estudo

O desfecho primário do estudo foi a redução da inflamação gengival, avaliada pela variação do ISG — percentual de superfícies com sangramento — entre o exame basal (dia 0) e o exame final (dia 14).

Como desfechos secundários, foram analisados: a) A variação do ISG no período intermediário, comparando o basal (dia 0) com a visita de 7 dias (dia 7); b) A avaliação subjetiva de melhora clínica autorreferida pelos participantes ao final do tratamento; c) O perfil de segurança, caracterizado pela frequência e tipo de eventos adversos registrados ao longo do estudo; e d) A adesão ao tratamento proposto durante o período de 14 dias.

Análises estatísticas

Inicialmente, os dados foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variância. As análises estatísticas foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey, utilizando-se o software GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, Boston, MA, EUA) para macOS. O mapa de calor (heatmap) com agrupamento hierárquico e a Análise de Componentes Principais (PCA) foram gerados utilizando a plataforma SRplot, conforme a metodologia proposta por Tang et al. (2023).

Resultados

Caracterização química do EAAP

Os compostos presentes no EAAP foram anotados comparando-se os dados espectrais obtidos (UV, MS e MS/MS) com dados publicados na literatura. As anotações e os dados espectrais dos quarenta e três metabólitos estão resumidos na **Tabela 1**, e o cromatograma de pico base do EAAP está ilustrado na **Figura 1**.

Os picos 1, 3 e 4 não apresentaram absorção no UV e exibiram íons intensos em m/z 165,0403, 195,0520 e 191,0201 $[M-H]^-$, os quais são compatíveis com $C_5H_{10}O_6$, $C_6H_{12}O_7$ e $C_6H_8O_7$, sendo anotados como ácidos pentônico, hexônico e cítrico, respectivamente. O metabólito 2 revelou a perda de 162 u (hexosila), gerando o íon produto m/z 179, relativo a uma hexose; assim, o composto 2 foi identificado como um di-O-hexosídeo (Quirantes-Piné et al., 2013).

Adicionalmente, os picos 5 e 6 apresentaram íons em m/z 284,0996 $[M+H]^+$ e 315,0716 $[M-H]^-$, caracterizando as fórmulas moleculares $C_{10}H_{15}N_5O_5$ e $C_{13}H_{16}O_9$. Seus íons fragmento m/z 152 $[M+H-132]^+$ e 153 $[M+H-162]^-$ sugeriram a presença de substituintes pentosila e hexosila, respectivamente (Lopez-Cobo et al., 2016; Xiang et al., 2018). Assim, 5 e 6 foram identificados como o nucleosídeo guanosina e o ácido fenólico ácido O-hexosil-protocatecuico.

Os compostos 8, 9 e 17 não apresentaram absorção no UV e suas fórmulas moleculares foram determinadas como $C_{16}H_{24}O_{11}$, $C_{16}H_{20}O_{11}$ e $C_{16}H_{22}O_{11}$. As perdas de 162 u sugeriram substituintes hexosila, evidenciadas pelos íons produto m/z 231 $[M+H-162]^+$ e 209 $[M-H-162-H_2O]^-$. A via de fragmentação para 8, 9 e 17 foi similar à descrita para os iridoides O-hexosil

shanzhisídeo, ixosídeo e thevesídeo, que já são descritos para *Lippia citriodora* (sinônimo *Aloysia citriodora*) (Quirantes-Piné et al., 2010). Os compostos 22 e 23 também exibiram íons fragmento gerados a partir de perdas de 162 u (m/z 207 $[M-H-162-H_2O]^- - C_{12}H_{15}O_3^-$ para 22 e m/z 171 $[M+H-162]^+ - C_{10}H_{19}O_2^+$ para 23), sendo anotados como hexosídeo de ácido tuberônico (ou hexosídeo de ácido hidroxijasmônico) e O-hexosídeo de rosiridol (rosiridina) (Quirantes-Piné et al., 2010; Li et al., 2018).

Os picos 14, 15 e 19 apresentaram bandas de absorção nos comprimentos de onda de ≈ 299 e 325 nm nos espectros UV, indicando um cromóforo de ácido cafeico. Eles revelaram a mesma fórmula molecular $C_{21}H_{28}O_{13}$ e íons fragmento em m/z 179 e 161, que são relativos ao ácido cafeico e a um hexosídeo (Quirantes-Piné et al., 2009). Assim, 14, 15 e 19 foram identificados como os fenilpropanoides glicosilados cistanosídeo F e isômeros. Eles também foram identificados em *Aloysia citriodora* (Quirantes-Piné et al., 2009; Leyva-Jiménez et al., 2019).

Os compostos 26, 28, 31 e 33-36 também exibiram espectros UV que indicaram a presença de ácido cafeico e revelaram íons compatíveis com as fórmulas moleculares $C_{29}H_{36}O_{16}$ (26, m/z 639,1895 $[M-H]^-$), $C_{29}H_{36}O_{15}$ (28 e 31, m/z 623 $[M-H]^-$), $C_{30}H_{38}O_{15}$ (33 e 34, m/z 637 $[M-H]^-$) e $C_{31}H_{40}O_{15}$ (35 e 36, m/z 651 $[M-H]^-$). Os metabólitos 33 e 34 apresentaram um substituinte metoxila, enquanto 35 e 36 revelaram duas metoxilas. Seus íons fragmento m/z 179, 193 e 161 são relativos ao ácido cafeico, ácido ferúlico e hexosídeo, respectivamente. Os dados espectrais obtidos foram comparados com dados da literatura (Quirantes-Piné et al., 2009, 2010; Leyva-Jiménez et al., 2019) e, para alguns componentes, também comparados com o perfil de eluição descrito para *Aloysia polystachya* (Marchetti et al., 2019). Portanto, hidroxiverbascosídeo (26), verbascosídeo (28), isoverbascosídeo (31), plantainosídeo C / leucosceptosídeo A / purpureasídeo D (31, 33, 34), martinósídeo (35) e isomartinósídeo (36) foram assim identificados.

Os picos 38-40 e 42-43 apresentaram bandas de absorção nos comprimentos de onda de ≈ 270 e 330 nm, similares às flavonas (Gobbo-Neto e Lopes, 2008). Esses compostos revelaram íons produto gerados a partir de perdas de radical metila (15 u), confirmando os substituintes metoxila, tais como os íons m/z 286 $[M+H-\bullet CH_3]^+$, 299 $[M-H-2\bullet CH_3]^-$, 300 $[M+H-\bullet CH_3]^+$, 283 $[M-H-2\bullet CH_3]^-$, 328 $[M-H-\bullet CH_3]^-$, entre outros (Quirantes-Piné et al., 2009, 2010). As flavonas

metoxiladas metilluteolina (38), dimetil-hidroxiluteolina (39, 40), dimetilescutelarina (42) e trimetil-hidroxiluteolina (43) puderam, assim, ser identificadas.

Efeitos do tratamento com o EAAP 1% na gengivite aguda

Os dados obtidos com o tratamento realizado com o EAAP, clorexidina e placebo nos diferentes grupos experimentais estão apresentados na **Tabela 2** e nas **Figuras 2 e 3**. O estudo contou com a participação de 24 pacientes (7 do sexo masculino e 17 do feminino), com idade entre 18 e 62 anos. Todos apresentavam gengivite aguda induzida por placa e preenchiam os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos.

A PCA explicou a variância total dos dados (PC1 = 97% e PC2 = 3%) entre os períodos pré e pós-tratamento, destacando a variação de 100% entre os dias 0 e 14. Além disso, o heatmap com agrupamento hierárquico, baseado nos tratamentos (placebo, clorexidina 0,12% e EAAP) nos dias 0, 7 e 14, revelou um padrão de resposta semelhante entre a clorexidina e o EAAP, distinguindo-os claramente do grupo placebo (NaCl 0,9%).

No grupo placebo, observou-se uma leve diminuição progressiva da ISG, passando de 60% no início (dia 0) para 51,5% no 7º dia e 42,2% no 14º dia. O grupo tratado com gluconato de clorexidina a 0,12% apresentou redução acentuada do ISG, partindo de 74% no início do tratamento para 26,5% no 7º dia, e atingindo 6,6% ao final do tratamento. Por sua vez, o grupo que recebeu o extrato aquoso de *A. polystachya* também demonstrou resultados estatisticamente significativos quando comparado ao grupo placebo, iniciando com 65,2% no dia 0, reduzindo para 26% no 7º dia e chegando a 20% no 14º dia de tratamento.

O uso do EAAP por 14 dias não induziu eventos adversos significativos; em contrapartida, pacientes do grupo clorexidina 0,12% relataram disgeusia (gosto amargo). Não houve desistências nos diferentes grupos experimentais, confirmando uma taxa de adesão de 100%.

Em termos de interpretação clínica, os dados indicam que o extrato aquoso de *A. polystachya* a 1% se aproxima da clorexidina no curto prazo, mas apresenta menor eficácia sustentada ao final dos 14 dias de tratamento. Ainda assim, a magnitude de redução observada com o EAAP supera a do placebo em ambos os tempos avaliados, apoiando seu potencial como alternativa fitoterápica adjuvante no manejo da gengivite.

Discussão

O presente estudo avaliou o efeito do enxaguatório à base de *A. polystachya* no controle da gengivite e demonstrou resultados promissores. Embora a clorexidina seja amplamente reconhecida como um agente antimicrobiano de elevada eficácia no tratamento e na prevenção da gengivite, sendo frequentemente utilizada como parâmetro de comparação em pesquisas que avaliam a efetividade de outros agentes antibacterianos (Gunsolley, 2006), o seu uso prolongado está associado a efeitos adversos que limitam a adesão e a utilização contínua. Nesse contexto, embora a gengivite possa ser controlada por meio de medidas básicas de higiene oral — incluindo escovação adequada, uso do fio dental e o emprego de enxaguatórios bucais antissépticos (Crocombe et al., 2012), observa-se um crescente interesse científico na busca por alternativas terapêuticas mais seguras e acessíveis.

Nesse contexto, as plantas medicinais têm se destacado como um recurso promissor. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), considera-se planta medicinal qualquer vegetal que contenha substâncias que possam ser utilizadas com finalidade terapêutica ou como base para a produção de compostos destinados a esse fim (OMS, 2002). A utilização de extratos vegetais em odontologia tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas voltadas ao controle do biofilme dental e ao manejo da inflamação gengival, refletindo a necessidade de opções com eficácia clínica comprovada, menor toxicidade, boa biocompatibilidade e custos viáveis (Soares, 2010; Lins et al., 2013).

O burrito (*A. polystachya*) é consumido em uma bebida tradicional conhecida como tereré, muito ingerida no estado do Mato Grosso do Sul devido às suas propriedades aromáticas e digestivas (Pereira et al., 2024). Estudos prévios reforçam a relevância farmacológica da espécie. Marques et al. (2021) evidenciaram efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular, demonstrando que uma fração purificada das folhas promoveu redução significativa da pressão arterial em ratos hipertensos, sugerindo ação vasodilatadora. Adicionalmente, Carmona et al. (2019) observaram atividade ansiolítica em adultos tratados com folhas pulverizadas da planta, com bom perfil de tolerância.

No âmbito antimicrobiano e anti-inflamatório, o estudo de Pina et al. (2012) demonstrou que o óleo essencial de *A. polystachya* apresenta atividade relevante contra bactérias e fungos de interesse clínico. Corroborando esses dados, Ortiz et al. (2022) demonstraram que o extrato

bruto possui atividade analgésica e anti-inflamatória significativa em modelos pré-clínicos, com efeitos antiedematosos comparáveis à indometacina, possivelmente relacionados à presença de verbascosídeo.

Em nosso estudo, como forma de ampliar o conhecimento acerca das atividades biológicas do gênero *Aloysia* e avaliar a segurança do uso oral da *A. polystachya*, realizamos um ensaio clínico controlado em pacientes com gengivite. Observou-se que o extrato aquoso obtido das partes aéreas de *A. polystachya* (EAAP) promoveu redução expressiva do ISG ao longo dos 14 dias de intervenção, demonstrando desempenho superior ao placebo e redução clínica relevante da inflamação. Embora o grupo tratado com clorexidina 0,12% tenha apresentado maior redução absoluta do sangramento, o burrito revelou uma trajetória terapêutica favorável, aproximando-se do controle positivo no sétimo dia e mantendo resposta sustentada no 14º dia.

Esses achados estão em consonância com investigações prévias envolvendo espécies da família Verbenaceae e outros fitoterápicos. Moeintaghavi et al. (2023) relataram que a *Aloysia citriodora* (verbena-limão) apresentou desempenho clínico equivalente à clorexidina na gengivite induzida por placa. Similarmente, estudos com *Lippia alba* (Souza et al., 2014), *Lippia sidoides* (Assis et al., 2022) e *Verbena officinalis* (Grawish et al., 2016) demonstraram reduções significativas de placa e inflamação gengival. Além disso, revisões sistemáticas indicam que espécies como *Punica granatum*, *Azadirachta indica* e *Aloe vera* também possuem propriedades promissoras para o manejo periodontal (Vangipuram; Jha; Bhashyam, 2016; Cicalão et al., 2024; Inchingolo et al., 2025).

Um conjunto significativo de metabólitos secundários foi identificado no EAAP, com ênfase para os compostos fenólicos. A literatura indica que compostos fenólicos (como flavonoides) e monoterpenos (como carvona e limoneno) — constituintes já descritos para *A. polystachya* (Moller et al., 2020), apresentam capacidade de modular respostas inflamatórias, interferir na virulência de periodontopatógenos e exercer efeito antioxidante (Didry; Dubreuil; Pinkas, 1994; Wu et al., 2018).

Embora a pesquisa translacional tenda a direcionar a investigação para compostos isolados visando padronização e entendimento mecanístico (Falzon; Balabanova, 2017; Rajendiran et al., 2021), neste estudo utilizamos o extrato bruto, visando apresentar uma

semelhança com o uso popular utilizado como bebida aromática no Brasil. Apesar de acreditarmos que os compostos fenólicos sejam os principais responsáveis pelos efeitos aqui evidenciados, não foi possível identificar isoladamente quais moléculas determinaram a atividade anti-inflamatória. De todo modo, conjecturamos que os efeitos farmacológicos podem ser decorrentes de múltiplos compostos atuando de forma sinérgica e coordenada na cadeia de eventos da gengivite induzida pela placa bacteriana.

Um aspecto crucial observado neste estudo diz respeito ao perfil de segurança do EAAP. Durante todo o período de intervenção, não foram registrados eventos adversos significativos, e nenhum participante relatou desconforto bucal, alteração de paladar (disgeusia) ou irritação de mucosa — contrastando com os efeitos conhecidos da clorexidina. Considerando os efeitos adversos associados ao uso prolongado da clorexidina, a resposta positiva obtida com o burrito indica potencial translacional para uma aplicação clínica segura, economicamente viável e alinhada às diretrizes de uso racional de plantas medicinais na atenção básica (Zanatta; Rösing, 2007; Guimarães et al., 2006). Em suma, os resultados reforçam que, embora a clorexidina permaneça como padrão-ouro pelo efeito sustentado, o EAAP configura-se como uma alternativa fitoterápica adjuvante eficaz e segura no manejo da gengivite.

Conclusão

Os dados obtidos permitem concluir que o uso bucal do extrato aquoso das folhas de *A. polystachya* promove uma redução clinicamente relevante da gengivite aguda induzida por placa bacteriana. Esses achados sustentam o potencial adjuvante da espécie no manejo da inflamação gengival, constituindo uma alternativa promissora para pacientes que buscam terapias fitoterápicas ou que apresentam restrições aos efeitos adversos associados ao uso prolongado de antissépticos sintéticos. Do ponto de vista translacional, a obtenção do extrato por infusão aquosa e sua posologia simplificada favorecem a aplicabilidade em contextos de saúde pública, devendo seu uso ser sempre associado às medidas mecânicas de controle do biofilme. Entretanto, para a consolidação dessa prática terapêutica, faz-se necessária a realização de ensaios confirmatórios com maior robustez estatística, bem como a padronização fitoquímica do produto e a avaliação contínua de sua efetividade e segurança em cenários reais de cuidado.

Com base nos resultados obtidos, propõe-se o desenvolvimento de uma formulação de uso oral à base de extrato aquoso de *A. polystachya*, na forma de solução para bochecho. A escolha da preparação aquosa justifica-se pela facilidade de obtenção, pelo baixo custo e pelo adequado contato com o tecido gengival. A formulação encontra respaldo nas diretrizes da Farmacopeia Brasileira, que reconhece as preparações líquidas como formas farmacêuticas tradicionais, desde que assegurados os critérios de qualidade e a padronização do extrato vegetal. Considerando a casuística do presente estudo, marcada pela redução significativa do índice de sangramento gengival, ausência de eventos adversos e elevada adesão, a proposta demonstra viabilidade clínica e potencial aplicação na atenção primária à saúde, devendo ser aprofundada em estudos com maior tamanho amostral e avaliação de estabilidade.

Referências bibliográficas

- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975;25(4):229–235
- Baban, D. A. Efficacy of chamomile mouthwash on clinical and serum inflammatory parameters in relation to chlorhexidine in chronic gingivitis patients. *Diyala Journal of Medicine*, v. 21, n. 1, p. 64-74, 2021.
- Carmona, Fabio et al. *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) powdered leaves are effective in treating anxiety symptoms: A phase-2, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 242, p. 112060, 2019.
- Cicalău, C.C., Bădărău, I.A., Dinu, M., Buda, V., Cioca, A., Vlase, L. and Popa, D.E., 2024. *Punica granatum* L. (pomegranate) in oral health: phytochemistry, biological activities, and clinical evidence. *Antioxidants*, 13(1), 38. <https://doi.org/10.3390/antiox13010038>
- Crocombe, L. A. et al. Is self interdental cleaning associated with dental plaque levels, dental calculus, gingivitis and periodontal disease? *Journal of Periodontal Research*, v. 47, n. 2, p. 188-197, 2012.
- De Assis, Ellen Lima et al. A systematic review of the potential effects of *Lippia sidoides* on dental plaque and periodontal diseases. *Planta Medica*, v. 88, n. 5, p. 341-355, 2022.
- Didry, N.; Dubreuil, L.; Pinkas, M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 69, n. 1, p. 25-28, 1994.
- Falzon, C. C.; Balabanova, A. *Phytotherapy: an introduction to herbal medicine*. Primary Care: Clinics in Office Practice, v. 44, n. 2, p. 217-227, 2017.
- Ferro, D.; Pereira, A. M. S. *Fitoterapia: conhecimentos tradicionais e científicos*. São Paulo: Bertolucci, 2018.

- Francisco, K. S. F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Revista Saúde*, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.
- Lopez-Cobo A, et al. Phenolic composition and antioxidant activity of Spanish monofloral honeys: a metabolomic approach. *Food Chem.* 2016;207:155–163.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. Online identification of chlorogenic acids, sesquiterpene lactones, and flavonoids in the Brazilian arnica *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae) leaves by HPLC-DAD-MS and HPLC-DAD-MS/MS and a validated HPLC-DAD method for their simultaneous analysis. *J Agric Food Chem.* 2008;56(4):1193–1204.
- Goes, P. et al. Clinical efficacy of a 1% *Matricaria chamomile* L. mouthwash and 0.12% chlorhexidine for gingivitis control in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances. *Journal of Oral Science*, v. 58, n. 4, p. 569-574, 2016.
- Gorzalczany, S. et al. Anti-inflammatory activity of extracts from *Aloysia polystachya*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 146, n. 1, p. 173-176, 2013.
- Grawish M.E. et al. (2016). Short-term effects of *Verbena officinalis* Linn decoction on patients suffering from chronic generalized gingivitis: Double-blind randomized controlled multicenter clinical trial, *Quintessence International*, 47(6), 491-498.
- Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(12):1649–1657.
- Guimarães, A. R. D. et al. Self-perception of side effects by adolescents in a chlorhexidine-fluoride-based preventive oral health program. *Journal of Applied Oral Science*, v. 14, n. 4, p. 291-296, 2006.
- Inchingolo, Angelo Michele et al. Efficacy and Safety of Natural Versus Conventional Toothpastes and Mouthwashes in Gingivitis Management: A Systematic Review. *Hygiene*, v. 5, n. 3, p. 38, 2025.
- Leyva-Jiménez FJ, Lozano-Sánchez J, Arráez-Román D, Segura-Carretero A. Comparative study of conventional and pressurized liquid extraction for recovering bioactive compounds from *Aloysia citriodora*. *Ind Crops Prod.* 2019;132:1–9.
- Li S, et al. Identification and characterization of bioactive compounds in plant extracts by UHPLC-Q-TOF-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2018;155:152–160
- Lins, Raul et al. Avaliação clínica de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, p. 112-120, 2013.
- Löe, H.; Theilade, E.; Jensen, S. B. Experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontology*, v. 36, p. 177-187, 1965.
- Lopez-Cobo A, et al. Phenolic composition and antioxidant activity of Spanish monofloral honeys: a metabolomic approach. *Food Chem.* 2016;207:155–163.
- Marques AAM, et al. Ethnopharmacological investigation of the cardiovascular effects of the ethanol-soluble fraction of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke leaves in spontaneously hypertensive rats. *Ethnopharmacol.* 2021;274:114077.

- Marchetti L, et al. Phenolic profile and antioxidant activity of *Aloysia polystachya* by LC-MS analysis. *Ind Crops Prod.* 2019;130:87–94
- Moeintaghavi, A. et al. Clinical effect of lemon verbena mouthwash on plaque-induced gingivitis compared with chlorhexidine: a randomized clinical trial. *Journal of Herbal Medicine*, v. 42, p. 100774, 2023.
- Moller, A. C. et al. Antioxidant and antiproliferative activity of essential oil and main components from *Aloysia polystachya* harvested in Central Chile. *Molecules*, v. 26, n. 1, p. 131, 2020.
- Moreno, K. G. T.; De Almeida, T. L.; Marques, A. A. M.; Donadel, G.; Lourenço, E. L. B.; De Almeida, D. A. T.; Gasparotto, A. Evidence of the cardioprotective effects of *Aloysia polystachya* in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 26, n. 1, p. 36-39, jan. 2023. DOI: 10.1089/jmf.2022.0027.
- Moreno, K. G. T. et al. Cardioprotective effects of *Aloysia polystachya* essential oil on a rat model with multiple cardiovascular risk factors. *Planta Medica*, v. 90, n. 9, p. 708-716, ago. 2024. DOI: 10.1055/a-2294-6922.
- Organização Mundial da Saúde. Diretrizes da OMS sobre boas práticas agrícolas e de coleta (GACP) para plantas medicinais. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2003.
- Organização Mundial da Saúde (OMS). Estratégia da OMS sobre Medicina Tradicional 2002-2005. Genebra: OMS, 2002.
- Ortiz, Mariela et al. Attenuation of pain and inflammation induced in mice treated orally with crude extract of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 12, n. 8, p. 102-111, 2022.
- Pereira, A. M. S. et al. (Org.). Manual prático de multiplicação e colheita de plantas medicinais. Ribeirão Preto: Bertolucci, 2011. p. 23.
- Pereira, A. M. S. et al. Formulário Fitoterápico da Farmácia da Natureza. 4. ed. São Paulo: Bertolucci, 2024. p. 36-37.
- Pina, Edieidia Souza et al. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke grown in Brazil. *J. Med. Plants Res*, v. 6, n. 41, p. 5412-5416, 2012.
- Quirantes-Piné R, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Use of HPLC-DAD-ESI-TOF-MS for the characterization of phenolic compounds in lemon verbena (*Aloysia citriodora*). *J Agric Food Chem.* 2009;57(22):10811–10818.
- Quirantes-Piné R, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Identification of phenolic compounds in a lemon verbena extract by HPLC-DAD-ESI-TOF-MS and HPLC-DAD-MS/MS. *J Chromatogr A.* 2010;1216(28):5391–5400.

- Quirantes-Piné R, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. HPLC-ESI-QTOF-MS as a powerful analytical tool for characterising phenolic compounds in olive-leaf extracts. *Phytochem Anal.* 2013;24(3):213–223.
- Rajendiran, M. et al. Recent development of active ingredients in mouthwashes and toothpastes for periodontal diseases. *Molecules*, v. 26, n. 7, p. 2001, 2021.
- Shrimathi, S. et al. Comparative evaluation of cocoa bean husk, ginger and chlorhexidine mouth washes in the reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* count in saliva: a randomized controlled trial. *Cureus*, v. 11, n. 6, 2019.
- Soares, Francisco Kleryson Martins. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Saúde-UNG*, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.
- Souza, P. H. S., Carneiro, S. E. R. do R., Costa, M. R. M., Borges, S. B., Medeiros, A. R., Fernandes, T. J. O., Silva, L. C. A. da S., Lopes, H. J. C., & Lima, K. C. de. Antibacterial activity and phytochemical screening of extracts of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *African Journal of Microbiology Research.* 2014;8(29):2783–2787.
- Vangipuram, Swathi; Jha, Abhishek; Bhashyam, Mamtha. Comparative efficacy of Aloe vera mouthwash and chlorhexidine on periodontal health: a randomized controlled trial. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, v. 8, n. 4, p. e442, 2016.
- Xiang Y, et al. Profiling and identification of phenolic compounds in plant extracts by UHPLC-Q-TOF-MS/MS. *Food Res Int.* 2018;105:940–952.
- Wu, Y. H. et al. Effects of theaflavins on tissue inflammation and bone resorption on experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontal Research*, v. 53, n. 6, p. 1009-1019, 2018.
- Zanatta, F. D.; Rösing, C. K. Clorexidina: mecanismos de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. *Scientific-A*, v. 1, n. 2, p. 35-43, 2007.

Tabela 1. Compostos identificados no extrato aquoso de *Aloysia polystachya* por Cromatografia Líquida com Detector de Arranjo de Diodos acoplada à Espectrometria de Massas (LC-DAD-MS).

Pico	Composto	TR (min)	UV (nm)	FM	Modo negativo (<i>m/z</i>)		Modo positivo (<i>m/z</i>)	
					MS [M-H] ⁻	MS/MS	MS [M+H] ⁺	MS/MS
1	Ácido pentônico	1.1	-	C ₅ H ₁₀ O ₆	165.0403	-	-	-
2	di-O-hexosídeo	1.1	-	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.1086	179	365.1054 ^{Na}	-
3	Ácido hexônico	1.1	-	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.0520	-	-	-
4	Ácido cítrico	1.5	-	C ₆ H ₈ O ₇	191.0201	-	-	-
5	Guanosina	2.2	256, 275	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₅	282.0833	-	284.0996	152
6	Ácido O-hexosil protocatecuico	3.7	254, 294	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	315.0716	153	-	-
7	Desconhecido	3.9	260, 292	C ₅ H ₁₀ O ₆	301.0555	-	-	-
8	Iridoide O-hexosídeo (Shanzhiside)	4.3	-	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₁	391.1239	-	393.1396	231, 213

9	Iridoide O-hexosídeo (Ixoside)	4.9	-	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₁	387.0947	343, 299, 205, 161	-	-
10	Desconhecido	5.3	-	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀	357.0840	237	-	-
11	Desconhecido	6.2	315	C ₁₂ H ₁₄ O ₈	285.0610	152	309.0596 ^{Na}	-
12	Desconhecido	7.6	258	C ₁₇ H ₁₆ O ₁₀	379.0710	241, 181, 153	-	-
13	Desconhecido	7.9	285	C ₁₃ H ₁₆ O ₈	299.0764	-	301.0935	--
14	Cistanosídeo F	9.0	299, 327	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	487.1453	179, 161	489.1615	-
15	Isômero de Cistanosídeo F	9.1	300, 328	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	487.1446	179, 161	489.1619	-
16	Desconhecido	9.6	290, 310	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	417.1025	-	441.1018 ^{Na}	-
17	Iridoide O-hexosídeo (tevesídeo)	10.6	-	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	389.1079	345, 209, 183, 165	391.1249	211, 193, 175, 151
18	Epigalocatequina st	10.7	305	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305.0688	167	-	-
19	Isômero de Cistanosídeo F	11.7	300, 326	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	487.1446	251, 233, 179, 161	489.1592	-
20	Desconhecido	12.3	-	C ₁₂ H ₂₀ O ₁₃	371.0822	291, 273	-	-
21	Desconhecido	12.6	300, 329	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₅	545.1490	383, 237, 161	547.1644	-
22	Hexosídeo de ácido tuberônico ou hexosídeo de ácido hidroxijasmônico	13.1	-	C ₁₈ H ₂₈ O ₉	387.1647	207, 163	411.1612 ^{Na}	-

23	Rosiridol O-hexosídeo (rosiridina)	14.4	-	$C_{16}H_{28}O_7$	331.1743	-	333.1889	171, 163, 153
24	Desconhecido	15.0	-	$C_{23}H_{30}O_{15}$	545.1490	383, 237, 179, 161	569.1456 ^{Na}	-
25	Desconhecido	15.3	-	$C_{22}H_{30}O_{11}$	469.1721	241, 181, 153	-	-
26	Hidroxiverbascosídeo	17.6	298, 328	$C_{29}H_{36}O_{16}$	639.1895	459, 179, 151	-	-
27	Hexosídeo de hidroxicinamila	18.8	282	$C_{15}H_{20}O_7$	311.1109	149	-	-
28	Verbascosídeo	19.4	299, 326	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.1949	461, 315, 161	-	-
29	Desconhecido	20.0	-	$C_{16}H_{18}O_5$	289.1088	-	291.1264	-
30	Desconhecido	20.4	-	$C_{16}H_{20}O_6$	307.1191	-	-	-
31	Isoverbascosídeo	20.8	299, 326	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.1956	461, 315	-	-
32	Desconhecido	21.5	-	$C_{19}H_{32}O_7$	-	-	373.2227	211, 193, 175, 151
33	Plantainosídeo C ou Leucosceptosídeo A	23.0	300, 326	$C_{30}H_{38}O_{15}$	637.2115	315	-	-
34	Plantainosídeo C ou Purpureasídeo D	24.0	299, 322	$C_{30}H_{38}O_{15}$	637.2108	315, 193, 161	-	-
35	Martinosídeo	25.9	290, 324	$C_{31}H_{40}O_{15}$	651.2299	505, 329, 265, 193, 175, 160	653.2436	-

36	Isomartinosídeo	27.4	290, 324	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	651.2301	505, 475, 329, 265, 193, 175, 160	653.2433	507, 485, 177
37	Desconhecido	28.4	-	C ₁₆ H ₂₈ O ₆	315.1802	-	317.1948	
38	metil luteolina	29.6	268, 330	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.0561	-	301.0692	286, 258, 168, 153
39	di-metil hidroxiluteolina	30.0	278, 330	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.0665	313, 299, 271, 255, 243, 199, 165	331.0813	316, 298, 270, 242
40	di-metil hidroxiluteolina	30.3	277, 330	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.0661	313, 299, 271, 255, 243, 199	331.0810	316, 301, 273, 245, 168
41	Desconhecido	31.3	280	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.2329	229, 211, 183, 171	-	-
42	di-metil scutellareína	31.8	277, 332	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.0716	297, 283, 255, 227, 165	315.0847	300, 282, 254, 226, 169
43	tri-metil hidroxiluteolina	32.4	275, 340	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	343.0817	328, 313, 298, 285, 270, 257	315.0844*	300, 282, 254, 226

TR: tempo de retenção; FM: fórmula molecular; ^{Na}: [M+Na]⁺; * [M+H-2•CH₃]; st: confirmado por injeção de padrão autêntico.

Tabela 2: Efeitos do tratamento por 14 dias com o extrato aquoso obtido das folhas de *Aloysia polystachya* (EAAP) sobre o índice de sangramento gengival (ISG) de pacientes portadores de gengivite aguda induzida por placa bacteriana

Grupo Experimental	ISG (%) Dia 0	ISG (%) Dia 7	ISG (%) Dia 14	Δ (0–7 dias)	Δ (0–14 dias)	Melhora autorreferida	Eventos adversos	Adesão (%)
Placebo (NaCl 0,9%)	60 ± 5.1	51,5 ± 5.5	42,2 ± 6.0	-8,5	-17,8	Melhora discreta	Ausência	100
Clorexidina 0,12%	74,0 ± 5.8	26,5 ± 5.1**	6,6 ± 1.4**	-47,5	-67,4	Melhora acentuada	Gosto amargo na boca	100
EAAP 1%	65,2 ± 3.9	26,0 ± 4.8*	15,4 ± 3.1*	-39,2	-49,8	Melhora acentuada	Ausência	100

Os resultados de ISG estão apresentados como a média ± erro padrão da média de 8 pacientes. O valor de Δ foi calculado subtraindo-se a média do ISG do dia 0 com o obtido nos dias 7 e 14. As análises estatísticas foram realizadas utilizando a análise de variância de uma via seguida pelo teste de Tukey. *P < 0.05 ou **P < 0.01 quando comparado com o grupo placebo.

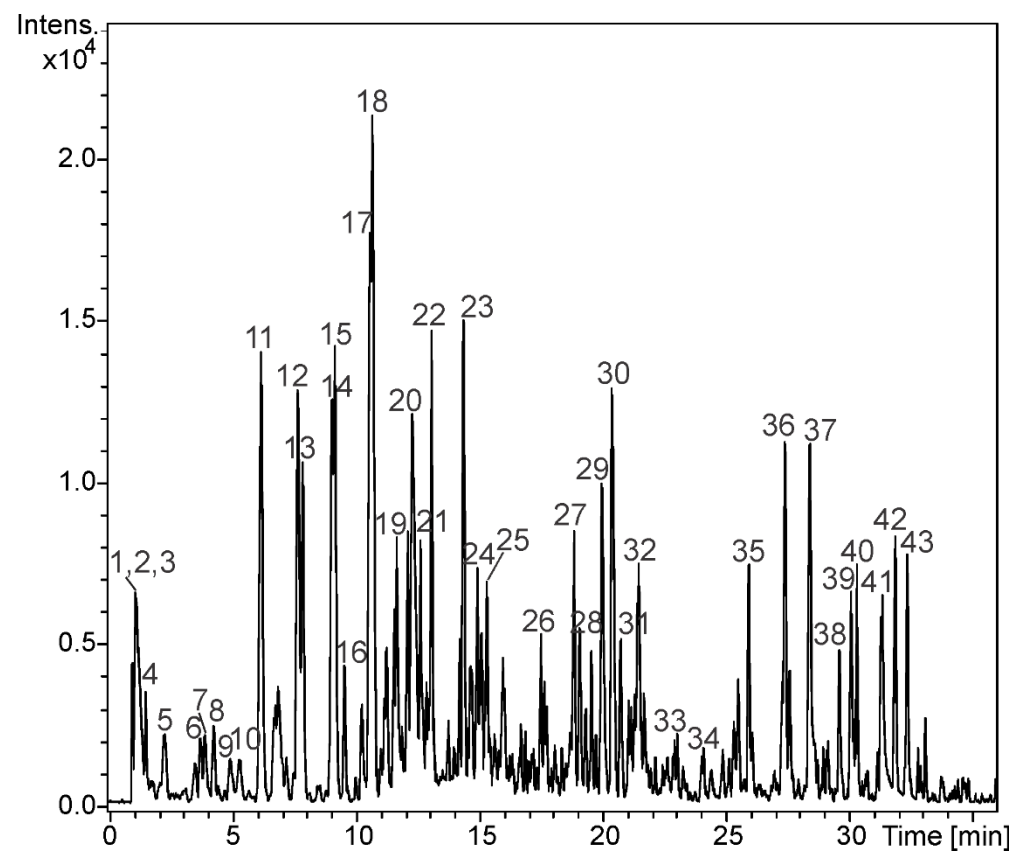


Figura 1. Cromatograma de picos base obtido no modo de íon negativo do extrato aquoso de *Aloysia polystachya*.

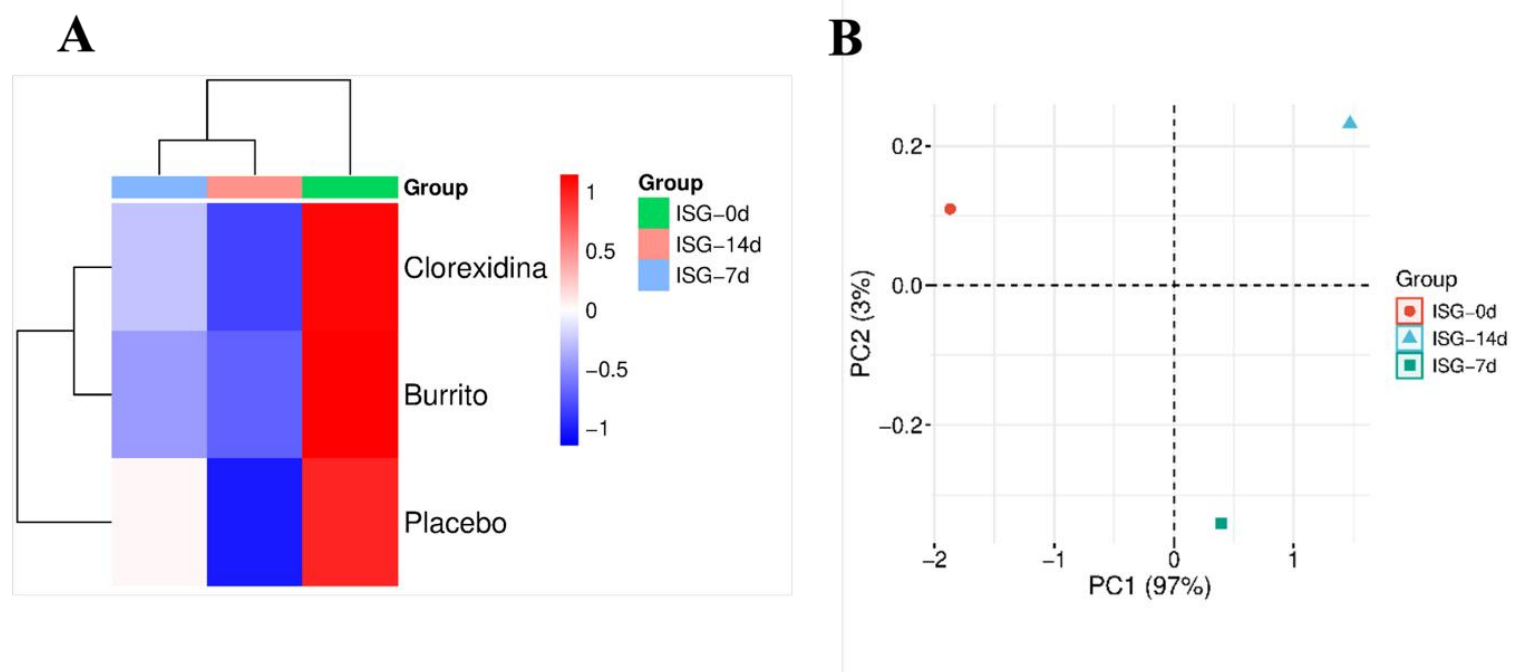


Figura 2: Mapa de calor (heatmap) com dendrograma (A) e análise de componentes principais (PCA; B) referente à resposta dos tratamentos com o placebo, clorexidina 0,12% e o extrato aquoso obtido das folhas de *Aloysia polystachya* (burrito) durante os dias 0, 7 e 14.



Figura 3. Acompanhamento fotográfico da condição gengival (dias 0, 7 e 14) nos grupos: placebo (NaCl 0,9%), clorexidina 0,12% e EAAP 1% (extrato aquoso de *Aloysia polystachya*).

3. CONCLUSÃO

O presente estudo clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo demonstrou que o uso do extrato aquoso de *A. polystachya* (EAAP) constitui uma alternativa fitoterápica promissora e segura para o manejo da gengivite aguda induzida por placa bacteriana. A solução bucal contendo EAAP promoveu redução significativa do Índice de Sangramento Gengival (ISG) já na primeira semana de uso, com manutenção do efeito terapêutico até o 14º dia, apresentando desempenho clínico semelhante ao observado com o digluconato de clorexidina a 0,12%, considerado o padrão-ouro para o controle da inflamação gengival. Em contrapartida, o grupo placebo apresentou melhora clínica inferior, reforçando a efetividade do tratamento à base do extrato vegetal.

Durante o período de intervenção, não foram observados eventos adversos significativos ou desistências, o que reflete adesão total dos participantes (100%) e excelente tolerabilidade ao uso da formulação contendo *A. polystachya*. Esses resultados destacam o perfil de segurança favorável do extrato aquoso, que não ocasionou alterações de paladar, pigmentação dental ou irritação de mucosa — efeitos frequentemente associados ao uso prolongado da clorexidina.

Do ponto de vista etnofarmacológico, a validação científica das propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas da *A. polystachya* reforça o valor terapêutico das espécies nativas sul-americanas e amplia o campo de aplicação da família Verbenaceae no contexto da odontologia preventiva. Além disso, os achados desta pesquisa convergem com evidências experimentais prévias que demonstram a ação antioxidante, analgésica, cardioprotetora e ansiolítica da espécie, sugerindo a presença de um conjunto de metabólitos secundários biologicamente ativos — como a carvona e o limoneno — capazes de modular respostas inflamatórias locais sem causar toxicidade.

Em síntese, o EAAP apresentou eficácia clínica comparável à da clorexidina, com vantagens adicionais em termos de segurança e aceitabilidade, configurando-se como uma alternativa fitoterápica viável para o controle da gengivite aguda. Os resultados obtidos sustentam o potencial de desenvolvimento de produtos odontológicos naturais a partir de espécies regionais, alinhando-se às políticas de incentivo ao uso racional de plantas medicinais no Sistema Único de Saúde (SUS).

4. APÊNDICES

APÊNDICE A - Questionário epidemiológico aplicado durante a anamnese

Dados Pessoais

1. Nome completo: _____
2. Idade: _____ anos
3. Gênero: Masculino Feminino Outro
4. Telefone para contato: _____
5. E-mail (opcional): _____
6. Você tem **18 anos ou mais**? Sim Não
7. Você é **fumante**? Sim Não
8. Você foi diagnosticado com **gingivite**? Sim Não Não sei
9. Durante a escovação você percebe **sangramento gengival**? Sim Não
10. Algum dos seus dentes apresenta **mobilidade**? Sim Não Não sei
11. Você tem **alergia conhecida a medicamentos ou extratos vegetais**? Sim Não
12. Se sim, quais? _____
13. Você faz uso de **medicamentos anticoagulantes ou antiplaquetários** (ex.: AAS, varfarina)?
 Sim Não Não sei
14. Você está disposto(a) a participar da pesquisa e assinar o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**? Sim Não
15. Você tem diagnóstico de **diabetes** ou outra **patologia severa**? Sim Não
Se sim, qual? _____
16. Você faz **uso excessivo de bebidas alcoólicas** (etilismo crônico)? Sim Não
17. Você realizou **tratamento periodontal nos últimos 6 meses**? Sim Não
18. Você está grávida? Sim Não

Declaração Final:

Confirmo que respondi a este questionário de forma verdadeira e estou ciente de que minhas respostas serão usadas exclusivamente para fins de triagem para a participação no estudo.

Assinatura do participante: _____

Data: // ____

Título do Estudo: Ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo de solução bucal de *Aloysia polystachya* para o tratamento de gengivite aguda.

Pesquisador Responsável: Juliana Cappellari e Arquimedes Gasparotto Junior

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, converse com o pesquisador responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

O objetivo desta pesquisa é • Avaliar a eficácia da *A. polystachya* na redução da inflamação gengival ;testar a segurança da *A. polystachya* em aplicações tópicas, identificando possíveis reações adversas; comparar o resultado do tratamento com a *A. polystachya* em relação aos tratamentos convencionais já existentes; identificar os compostos bioativos presentes na *A. polystachya* que possuem propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas relevantes para o tratamento da gengivite e tem como justificativa descobrir uma alternativa para o tratamento da gengivite .

Se o(a) Sr.(a) aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: primeiramente os sujeitos serão avaliados conforme os critérios de inclusão e exclusão e avaliados clinicamente. Após selecionados os pacientes, será feita a distribuição por meio de um estudo randomizado, do medicamento e do placebo. Deverão fazer bochechos com a substância 2 vezes ao dia por um período de 14 dias. Os sujeitos serão avaliados após 7 e 14 dias.

Toda pesquisa com seres humanos envolve algum tipo de risco. No nosso estudo, os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são reações alérgicas que devem ser avisadas ao profissional e suspenso o procedimento.

Contudo, esta pesquisa também pode trazer benefícios. Os possíveis benefícios resultantes da participação na pesquisa podem ser mensuráveis pelo possível efeito anti-inflamatório e antimicrobiano sobre a gengivite, oferecendo uma opção fitoterápica para indivíduos que desejam evitar o uso de produtos químicos sintéticos. Além disso, a pesquisa pode ajudar na validação do uso da espécie *A. polystachya* para o tratamento da gengivite, contribuindo para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso o(a) Sr.(a) decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento durante a pesquisa, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e o(a) Sr.(a) não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá receber por despesas decorrentes de sua participação. Essas despesas serão pagas pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra algum problema ou dano com o(a) Sr.(a), resultante de sua participação na pesquisa, o(a) Sr.(a) receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal e garantimos indenização diante de eventuais fatos comprovados, comnexo causal com a pesquisa.

Solicitamos também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto, bem como em todas as fases da pesquisa.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como é garantido ao Sr.(a), o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que o(a) Sr.(a) queira saber antes, durante e depois da sua participação .

Caso o(a) Sr.(a) tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Juliana Cappellari pelo telefone 39061050, endereço CEO Umuarama e/ou pelo e-mail juu.cappellari@hotmail.com com o pesquisador Juliana Cappellari pelo telefone 39061050 e pelo e-mail juu.cappellari@hotmail.com ou Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Paranaense (UNIPAR).Praça Mascarenhas de Moraes, s/n.º - Cx Postal 224 , Umuarama, Pr, CEP: 87.502-210, Fone / Fax: (44) 3621.2849, Ramal 1219 e-mail: cepeh@unipar.br ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/HUPES - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA; HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS- UFBA. Endereço: Rua Dr. Augusto Viana, S/n, 1º andar - Canela, SSA (BA) - Cep: 40.110-060, Telefone: 3646-3450 / Email: cep.hupes@ebserh.gov.br.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma do(a) Sr.(a) e a outra para os pesquisadores.

Declaração de Consentimento

Concordo em participar do estudo intitulado:

<hr/> Nome do participante ou responsável <hr/> Assinatura do participante ou responsável	Data: ____ / ____ / ____
--	--------------------------

Eu, Juliana Cappellari declaro cumprir as exigências contidas nos itens IV.3 e IV.4, da Resolução nº 466/2012 MS.

<hr/> Assinatura e carimbo do Pesquisador	Data: ____ / ____ / ____
--	--------------------------

5 ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Paranaense (CEPEH/UNIPAR)



PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_7621773.pdf

ANEXO 2 - Normas da Revista Journal of Herbal Medicine



Guide for authors -
Journal of Herbal Med