

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM
ALIMENTOS**

LEOCÁDIA ORSATO BRUFATI FAGUNDES

**USO DO ENXAGUANTE BUCAL DE *Plantago Major L.* NAS MUCOSITES ORAIS
RELACIONADAS AO CÂNCER: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO
CEGO.**

LARANJEIRAS DO SUL

2023

LEOCÁDIA ORSATO BRUFATI FAGUNDES

**USO DO ENXAGUANTE BUCAL DE *Plantago Major L.* NAS MUCOSITES ORAIS
RELACIONADAS AO CÂNCER: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO
CEGO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Key Yamazaki

Coorientadora: Prof. Dr^a Margarete Dulci Bagatini

LARANJEIRAS SO SUL

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Fagundes, Leocádia Orsato Brufati
USO DO ENXAGUANTE BUCAL DE Plantago Major L. NAS
MUCOSITES ORAIS RELACIONADAS AO CÂNCER: UM ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO. / Leocádia Orsato
Brufati Fagundes. -- 2023.
34 f.:il.

Orientador: Doutor Ricardo Key Yamazaki
Co-orientadora: Doutora Margarete Dulce Bagatini
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Laranjeiras do Sul, PR, 2023.

1. antioxidante. 2. antimicrobiana. 3. plantas
medicinais. 4. quimioterapia. I. Yamazaki, Ricardo Key,
orient. II. Bagatini, Margarete Dulce, co-orient. III.
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.


LEOCÁDIA ORSATO BRUFATI FAGUNDES

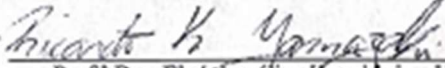
**USO DE EXTRATO DE PLANTAGO MAJOR L. NAS MUCOSITES ORAIS
RELACIONADAS AO CÂNCER**

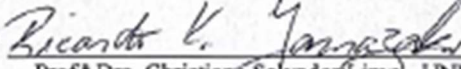
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 14/06/2023.

BANCA EXAMINADORA

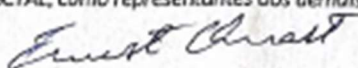

Prof. Dr. Ricardo K. Yamazaki - UFFS
Presidente/Orientador


Prof.ª Dra. Eloá Angélica Koenlein - UFFS
1º Membro


Prof.ª Dra. Christiana Salvador Lima - UNIDEP
2º Membro

Prof. Dr. Thiago Bergler Bitencourt - UFFS
Suplente

"Em virtude da realização de banca online, este documento foi assinado pelo Presidente e pelo Coordenador do PPGCTAL, como representantes dos demais membros, mediante suas autorizações".



LEOCÁDIA ORSATO BRUFATI FAGUNDES

**USO DO ENXAGUANTE BUCAL DE *Plantago Major L.* NAS MUCOSITES ORAIS
RELACIONADAS AO CÂNCER: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO
CEGO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia em Alimentos.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 14/06/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Key Yamazaki – UFFS
Orientador

Prof^a. Dr^a. Margarete Dulce Bagatini - UFFS
Co-orientadora

Prof^a. Dr^a. Eloá Angelica Koehnlein – UFFS
Avaliadora

Prof^a. Dr^a. Christiana Salvador Lima
Avaliadora

Dedico este trabalho, primeiramente a Deus,
pela sabedoria e discernimento e ao meu
marido e filhos, que mesmo nos momentos
mais difíceis não pouparam esforços para que
eu pudesse concluir meus estudos.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação desse mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de Deus e de várias pessoas.

Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer aos meus: orientador e coorientador(a), Professor Doutor Ricardo Key Yamazaki e Doutora Margarete Dulci Bagatini, por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientaram neste trabalho, bem como a Alana Patrícia da Silva que realizou a análise de toxicidade do extrato. Também ao Professor Doutor Mario Cunha e a Daiane Meneguzzi que incansavelmente estiveram comigo durante as análises realizadas na UTFPR, esclarecendo todas e quaisquer dúvidas que surgiram até chegarmos a um tão esperado resultado. Muito obrigada pelas correções quando necessário sem nunca me desmotivar.

Desejo igualmente agradecer a todos os profissionais do Hospital do Câncer Policlínica de Pato Branco-PR, em especial ao Dr. Gilmar Biscaia, Adriano Ruaro e a Enf. Micheli Dubena, que aceitaram a pesquisa e não mediram esforços durante o estudo clínico randomizado, sem o apoio e cuidado de vocês essa pesquisa não teria sido tão especial.

Neste momento também agradeço aos pacientes que aceitaram participar da pesquisa, sabendo ser algo novo e mesmo sem me conhecerem em nenhum momento recusaram as orientações e cuidados prescritos por mim.

Aos docentes da UFFS que sempre demonstraram grande apreço nas disciplinas administradas e com grande maestria ministram conhecimento em tudo que fazem.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer à minha família, meus pais: Valdemar e Salete, minha irmã: Anelise, meus filhos: Samara e Natan e esposo Lucas pelos dias árduos de procura nos matos e hortas, pela tão esperada tansagem e aos amigos e colegas do UNIDEP, especialmente a Lia B. Argenton, pelo apoio incondicional que me deram, sempre apoiando e motivando, quando tudo ainda era apenas um sonho.

Tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens, sabendo que receberão do Senhor a recompensa da herança. É a Cristo, o Senhor, que vocês estão servindo.

(Colossenses 3:23-24)

CONTEXTUALIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Para o INCA (Instituto Nacional de Câncer), 2020, o Câncer é o crescimento anormal de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos a distância, compreendendo mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas. Os tratamentos individualmente ou em concomitância na oncologia são cirurgia, radioterapia e quimioterapia, que também podem ser utilizadas concomitantemente.

Segundo a European Society for Medical Oncology (ESMO), mucosites são lesões inflamatórias decorridas de infecções na cavidade bucal ou trato gastrointestinal, existentes pela queda no sistema imunológico ou medicamentos administrados. A Organização Mundial da Saúde (OMS), classifica a Mucosite Oral (MO) em quatro graus de severidade, na cavidade bucal ou trato gastrointestinal, sendo grau I as lesões eritematosas e dolorosas, grau II a presença de úlceras e o paciente consegue se alimentar, grau III o paciente apresenta úlceras e só consegue ingerir líquidos e grau IV o paciente não consegue tolerar nenhum tipo de alimento. Destacando que o comprometimento da ingestão alimentar agrava o catabolismo no câncer e deteriora o estado nutricional do paciente.

A MO é uma intercorrência comum em pacientes submetidos ao tratamento de neoplasias e corriqueiramente debilitante, tornando uma prioridade na oncologia clínica. A MO é uma lesão aguda associada ao tratamento da radioterapia que pode atingir os lábios até o esôfago e tem duração de mais ou menos 3 a 12 semanas, enquanto a quimioterapia envolve a cavidade oral anterior e pode durar de 3 a 12 dias. Já o tratamento concomitante delas tem início mais curto e prolongado, aumentando sua gravidade

Em 2014 foi revisado as Diretrizes de Prática Clínica MASCC/ISOO para a prevenção da MO, onde as principais recomendações foram: 30 minutos de crioterapia para pacientes em uso de quimioterapia; laser terapia de baixa intensidade; e bochechos com *benzidamina* para pacientes em uso de radioterapia. O enxaguante bucal a base de clorexidina, ainda é um dos principais tratamentos utilizados na MO. Até o momento, nenhuma intervenção foi capaz de prevenir e tratar a mucosite oral por conta própria. É necessário combinar intervenções que atuem nas diferentes fases da mucosite, diminuindo os sintomas como dor e disfagia. Ainda não estão claras quais estratégias reduzem a mucosite oral, pois não existem evidências suficientes que descrevam um tratamento com eficácia comprovada e superior aos demais tratamentos para essa condição.

O *Plantago major L.* é conhecido por ser uma planta invasora de hortas e pertence à família Plantaginaceae, muito utilizado na medicina tradicional e conhecido popularmente como tanchagem, tansagem ou língua de vaca. Contém nutrientes, compostos antioxidantes, fibras e proteínas, quando comparadas a alimentos convencionais, demonstrando assim sua efetividade para uma dieta de qualidade. Também é rico em compostos fenólicos (ácidos cafeico e gálico), terpenos (oleanólico e ursólico), ácidos graxos (linoleico, linolênico e palmítico) (MINISTERIO DA SAÚDE, 2014). Este estudo tem por finalidade analisar o uso do enxaguante bucal a base da tansagem em comparação com o enxaguante a base do clorexidina, hoje utilizado nas lesões de mucosites orais relacionadas ao tratamento quimioterápico, nos pacientes com câncer.

O estudo se deu por meio de um ensaio clínico randomizado duplo cego com pacientes de uma Clínica de Oncologia do Sudoeste do Paraná e analisou 11 pacientes em randomização simples. Os resultados estão apresentados no decorrer do trabalho.

Esta é uma breve contextualização do trabalho de dissertação realizado e que encontra-se escrito na sequência em forma de artigo científico, visando uma maior eficácia para a publicação dos resultados produzidos.

RESUMO

A Mucosite Oral (MO) é uma intercorrência comum em pacientes submetidos ao tratamento de neoplasias e corriqueiramente debilitante, sendo seu tratamento umas das prioridades na oncologia clínica. O objetivo deste trabalho foi formular e avaliar os efeitos de um enxaguante bucal com extrato de *Plantago major* L. (tansagem) aplicado como enxaguante bucal em pacientes com mucosites induzidas pela quimioterapia. A tansagem faz parte de uma lista composta por 71 espécies vegetais com potencial na promoção à saúde e de interesse para o MS, é uma planta invasora de hortas que pertence à família Plantaginaceae e é bastante utilizada na medicina tradicional. Este é um estudo clínico randomizado comparando o uso do enxaguante a base da tansagem com o enxaguante a base de clorexidina (controle), realizado com 11 participantes, divididos por randomização simples através do Programa da Microsoft Excel de uma Clínica de Oncologia do Sudoeste do Paraná, com duração de 53 dias. A avaliação oral dos pacientes que apresentaram mucosites, foi realizada semanalmente, no dia 0, 7 e 14 durante o tratamento com bochechos diários com os enxaguantes bucais (3x ao dia). Para fins de análise e elaboração do enxaguante bucal, a extração hidroalcoólica da planta foi realizada, bem como, sua caracterização quanto ao conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP), antimicrobiana e avaliação de potencial citotóxico em linhagens celulares. A tansagem apresentou valores de compostos fenólicos de 19,64 ($\pm 0,38$) e de atividade antioxidante DPPH 444,12 ($\pm 0,759$), FRAP 3848,11 ($\pm 84,46$) e ABTS 10435,19 ($\pm 447,63$). Quanto a análise de citotoxicidade o extrato não apresentou atividade citotóxica nas concentrações de 0,06, 0,6 e 6mg/mL. Na avaliação antimicrobiana, a tansagem teve resposta bacteriostática. Na comparação com o uso do enxaguante a base de clorexidina e o enxaguante a base de *P major*, não houve diferença significativa entre um enxaguante e ao outro, em relação a dor e grau da mucosite, mostrando assim que o enxaguante a base da tansagem, ser uma opção de escolha no uso preventivo e profilático das lesões de mucosites ocasionadas pelo tratamento de quimioterapia nos pacientes com câncer.

Palavras chaves: antioxidante; antimicrobiana, plantas medicinais; quimioterapia.

ABSTRACT

Oral Mucositis (OM) is a common intercurrent in patients undergoing treatment for cancer and is routinely debilitating, and its treatment is one of the priorities in clinical oncology. The objective of this work was to formulate and evaluate the effects of a mouthwash with *Plantago major* L. extract (tansagem) applied as a mouthwash in patients with mucositis induced by chemotherapy and radiotherapy. The tansagem is part of a list composed of 71 plant species with potential to promote health and of interest to MS, it is an invasive plant that belongs to the Plantaginaceae family and is widely used in traditional medicine. This is a randomized clinical study comparing the use of a mouthwash based on tansagem with a mouthwash based on chlorhexidine (control), carried out with 11 participants, divided by simple randomization through the Microsoft Excel Program of an Oncology Clinic in the Southwest of Paraná, lasting 53 days. The oral evaluation of patients who had mucositis was performed weekly, on days 0, 7 and 14 during treatment with daily mouthwashes with mouthwashes (3x a day). For purposes of analysis and elaboration of the mouthwash, hydroalcoholic extraction of the plant was carried out, as well as its characterization regarding the content of phenolic compounds, antioxidant (DPPH, ABTS, FRAP), antimicrobial activity and evaluation of cytotoxic potential in cell lines. The tansage presented values of phenolic compounds of 19.64 (± 0.38) and of antioxidant activity DPPH 444.12 (± 0.759), FRAP 3848.11 (± 84.46) and ABTS 10435.19 (± 447.63). As for the cytotoxicity analysis, the extract did not show cytotoxic activity at concentrations of 0.06, 0.6 and 6mg/mL. In the antimicrobial evaluation, tansage had a bacteriostatic response. In the comparison with the use of the mouthwash based on chlorhexidine and the mouthwash based on *P. major*, there was no significant difference between one mouthwash and the other, in relation to pain and degree of mucositis, thus showing that the mouthwash based on tansage, to be an option of choice in the preventive and prophylactic use of mucositis lesions caused by chemotherapy treatment in cancer patients.

Keywords: antioxidant; antimicrobial, medicinal plants; chemotherapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Viabilidade celular.....	20
Fluxograma 1 – Randomização simples do uso dos enxaguantes bucais.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Conteúdo de Fenólicos Totais e Atividade antioxidante do extrato do <i>P. major</i>	24
Tabela 2 – Atividade antimicrobiana do extrato de <i>P major</i> L e padrões antimicrobianos	25
Tabela 3. Dados demográficos basais e características clínicas de ambos os grupos de estudo	26
Tabela 4. Estatística descritiva da gravidade da mucosite avaliada pela escala da OMS nos grupos estudados.....	28
Tabela 5. Estatística descritiva da intensidade da dor avaliada pela EVN nos grupos estudados.....	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
2.1	PREPARAR DAS AMOSTRAS..... ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.	
2.2	PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	18
2.3	VIABILIDADE CELULAR	19
2.4	ENSAIO CLÍNICO DUPLO CEGO RANDOMIZADO.....	20
2.5	DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	21
2.6	ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	22
2.6.1	Capacidade de eliminação do radical DPPH	22
2.6.2	Avaliação do poder antioxidante de redução férrica (FRAP).....	22
2.6.3	Capacidade de eliminação do radical ABTS	23
2.7	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	23
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
2.9	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
2.9.1	Viabilidade celular	24
2.9.2	Atividade antioxidante e fenóis totais.....	26
2.9.3	Atividade antimicrobiana	27
2.9.4	Característica dos participantes – Randomização	29
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
4	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Câncer é o termo que define um grupo de doenças que pode afetar qualquer região do corpo, sendo uma das principais causas de morte nas Américas (OPAS, 2020). O tratamento agressivo de doenças malignas como a quimioterapia e radioterapia, podem produzir toxicidades inevitáveis para as células normais. O revestimento da mucosa do trato gastrointestinal, incluindo a mucosa oral, é bastante suscetível a toxicidade dos tratamentos antineoplásicos em virtude de sua rápida taxa de renovação celular. A cavidade oral é altamente suscetível aos efeitos tóxicos diretos e indiretos da quimioterapia do câncer e da radiação ionizante (CARVALHO, 2009).

A dor e a gravidade em decorrência das lesões da mucosite interferem na alimentação do paciente, aumentando sua morbimortalidade, sendo muitas vezes indicado o uso de nutrição enteral ou parenteral para melhorar a ingesta alimentar, ou até mesmo, a suspensão do tratamento antineoplásico até melhora do quadro clínico (SANTOS et al., 2009).

Comumente as pessoas usam plantas medicinais no tratamento da mucosite, isso porque essas plantas apresentam características importantes, como atividades anti-inflamatórias, antissépticas ou emolientes (BRAGA; et al., 2015). Tendo em vista esse aspecto e o crescente aperfeiçoamento das pesquisas com plantas medicinais, o Ministério da Saúde (MS) divulgou em 2009, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de benefício ao SUS (RENISUS). A tansagem (*Plantago major* L) faz parte de uma lista composta por 71 espécies vegetais com potencial na promoção à saúde e de interesse para o MS (CARVALHO, 2011).

A *Plantago major* L. conhecida popularmente como tanchagem, tansagem ou língua de vaca é uma planta invasora de hortas que pertence à família *Plantaginaceae* e é bastante utilizada na medicina tradicional. Suas folhas são utilizadas em forma de chás por cocção e infusão, em emulsões e como emplastos para o tratamento de feridas e inflamações (SAMUELSEN, 2000). A planta apresenta em sua composição nutrientes, compostos antioxidantes, fibras e proteínas, que contribuem para uma dieta saudável e de qualidade (BEZERRA et al., 2017). Também é rico em compostos fenólicos (ácidos caféico e gálico), terpenos (oleanólico e ursólico) e ácidos graxos (linoleico, linolênico e palmítico) (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Os compostos fenólicos são compostos bioativos considerados extremamente importantes à vida pois fornecem benefícios à saúde, auxiliando na defesa do organismo através de ações antioxidantes, anti-inflamatórias e antimutagênicas (DE OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Sua atividade antibacteriana não está bem caracterizada,

apresentando controvérsias nos estudos realizados por microrganismos criadores de biofilme (SOBREIRA et al, 2020).

Em decorrência de todos os transtornos acometidos pelos pacientes submetidos ao tratamento do câncer, suas complicações e agravamentos, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e avaliação do uso oral de um enxaguante bucal à base de extrato de *P. major* (tansagem) no tratamento das mucosites em pacientes em uso da quimioterapia.

O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do enxaguante bucal a base do extrato de *P major* L em pacientes com mucosites induzidas pela quimioterapia e radioterapia no tratamento do câncer, comparando a extensão e duração das mucosites com o enxaguante a base de clorexidina a 0,12%.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado por ensaio clínico randomizado duplo cego, em que os pacientes de uma Clínica de Oncologia do Sudoeste do Paraná, receberam para cuidados de rotina e bochecho os enxaguantes bucais a base do extrato de *P major L.* (grupo experimental) ou enxaguante bucal à base de clorexidina (grupo controle). A avaliação diária foi realizada por meio do questionário Perfil de Impacto de Saúde Bucal (Oral Health Impact Profile – OHIP) (TAYLOR et al., 2009), bem como a análise da escala da dor e duração da MO comparadas entre cada grupo experimental e o grupo controle.

2.1 FORMULAÇÃO DO ENXAGUANTE BUCAL

Os espécimes de *P major L.* foram adquiridos em uma horta de agricultores de São João no Sudoeste do Paraná (25° 49' 27" Sul). Uma amostra do material vegetal foi identificada pela Botânica Dra. Giovana Faneco e depositada no Herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), sob o número de registro HPB 1254.

2.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

A planta *P. major L.* depois de colhida foi submetida à lavagem e posterior imersão em solução de hipoclorito de sódio 0,01% (v/v), para desinfecção, por 15 minutos. Após este procedimento, o material vegetal foi submetido a secagem prévia, por aproximadamente 24 horas, à temperatura ambiente, sobre bancada previamente limpa, sanitizada e revestida com papel absorvente. Na sequência o material foi seco em estufa com circulação de ar, a 60°C, por 24 horas. As folhas secas foram trituradas em liquidificador e submetidas à extração hidroalcoólica (etanol/água 70%, v/v). A extração foi realizada utilizando 1 g das folhas e 30 mL de solvente, com extração durante 24 horas a temperatura ambiente (24°C) sob agitação magnética e ao abrigo da luz. O extrato foi filtrado em papel filtro e o solvente evaporado a

baixa temperatura (40 °C) sob vácuo em rotaevaporador, sendo então o extrato final liofilizado e armazenado a -18 °C até uso.

2.3 VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade celular foi avaliada para verificar a citotoxicidade do extrato. A avaliação foi executada utilizando o reagente de ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) na concentração de 5 mg/mL em tampão fosfato salino. Esse reagente de coloração amarela é facilmente incorporado às células viáveis, sendo sequencialmente reduzido, pela atuação de enzimas desidrogenases ao sal formazan, de coloração roxo-púrpura, o qual foi solubilizado pela a adição do DMSO e quantificado colorimetricamente a 560 nm, sendo a intensidade de cor proporcional a quantidade de células viáveis (FUKUI; YAMABE; ZHU, 2010).

Para verificação do potencial citotóxico utilizou-se células mononucleares do sangue periférico (PBMC, do inglês *peripheral blood mononuclear cell*) obtidas de voluntários saudáveis. Para isso, coletou-se sangue periférico em tubos contendo EDTA, e procedeu-se o isolamento das PBMCs conforme o protocolo de Böyum (1968) com adaptações. Ao final, as células obtidas foram ressuspensas com meio de cultivo RPMI (meio do Instituto Roswell Park Memorial) suplementado com 10% de soro fetal bovino, acrescido de 1% de antibiótico e antifúngico e cultivadas em placas de 96 poços. O referido projeto teve aprovação pelo comitê de ética da Universidade Federal da Fronteira Sul, sob o número 822.782.

Para realização dos ensaios as células foram tratadas por 24 horas com os extratos do *P. major*. Para isso o extrato foi diluído utilizando o meio de cultivo RPMI. As concentrações de tratamento foram 0,06, 0,6 e 6 mg/mL. O controle da reação foi realizado utilizando apenas o meio RPMI. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) em relação ao controle, conforme Figura 1.

2.4 ENSAIO CLÍNICO DUPLO CEGO RANDOMIZADO

O ensaio clínico duplo cego randomizado simples aconteceu na Clínica de Oncologia do Sudoeste Ltda do Hospital Filantrópico Policlínica de Pato Branco, Paraná. Foram convidados a participar da pesquisa, pacientes que ao realizarem a quimioterapia, apresentaram mucosites orais, após serem avaliados por um cirurgião dentista e analisadas qual o nível de lesão, 11 pacientes foram selecionados ao todo. Após o aceite, foram randomizados em dois blocos de 5 e 6 participantes, em amostragem aleatória simples, ambos de forma duplo cega, onde a aparência, cheiro e sabor dos enxaguantes eram idênticos nos dois grupos. Após serem avaliados e orientados quanto aos cuidados a serem realizados e sobre o retorno em 7 dias, a enfermeira da clínica, entregava o enxaguante, sem conhecimento dos avaliadores, nem do paciente de qual enxaguante ele faria uso, validando assim o cegamento duplo. O tratamento consistiu em 14 dias, tempo médio da duração da mucosite com o uso do enxaguante bucal a base do extrato e análise dos pacientes acometidos pela mucosite comparando o enxaguante bucal a base clorexidina.

Os enxaguantes bucais foram formulados na Salazar e Guerra farmácia de manipulação LTDA – Vicofarma, sob o CNPJ: 34075588000164. Os enxaguantes de ambos os grupos, tiveram a mesma formulação base: Aroma líquido de morango, xilitol, nipagim e água destilada e a adição de 0,12% de clorexidina (concentração padrão utilizada nesses enxaguantes) em 20 frascos e os outros 20, após a realização das análises e sendo perceptível sua ação bacteriostática e antioxidante, foi adicionada 0,24% de tansagem.

O estudo foi submetido para análise e aprovação pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul, sob CAAE 65628022.5.0000.5564. Os critérios de inclusão, pacientes do sexo masculino e ou feminino com diagnóstico de câncer em tratamento quimioterápico, maiores de 18 anos, que apresentam algum grau de mucosite de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (HUNTER, 1980). Como critério de exclusão considerou-se aqueles que apresentem distúrbios hematológicos ou realizem tratamento com antibióticos, antivirais, antifúngicos ou drogas monoclonais, que apresentem algum tipo de alergia aos componentes das formulações dos enxaguantes ou que realizem laser terapia prévia nas lesões das mucosites. Antes da análise, todos os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), concordando com os termos, apresentados no mesmo.

Os danos que poderiam ocorrer aos participantes da pesquisa foram considerados baixos, visto que foi realizada análise de toxicidade e biocompatibilidade do extrato antes da administração desse em seres humanos, levando em consideração também, essa já ser uma planta de interesse do SUS, já previamente liberada pelo Ministério da Saúde (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A orientação foi de que os pacientes realizassem os bochechos 3 vezes ao dia, durante os 14 dias de uso. Cada participante recebeu um kit contendo os frascos para o tratamento, um conjunto de instruções, um diário para registro de sinais e sintomas como: dor, presença de feridas e consumo de analgésicos e as recomendações para o armazenamento correto dos enxaguantes. O grau da mucosite e a intensidade da dor foram monitorados pelo pesquisador responsável, juntamente com o enfermeiro e ortodontista da Clínica de Oncologia nos dias 0, 7 e 14 dias. Aqueles que alcançaram o grau 0 das mucosites e referiram não sentir mais dor, finalizaram a pesquisa.

2.5 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo de compostos fenólicos totais presentes no extrato obtido de *P major* L. foi determinado pelo método de Folin Ciocalteau (SINGLETON; ROSSI, 1965). A determinação dos compostos fenólicos totais se deu em triplicata utilizando 0,1g do extrato liofilizado para 50 mL de água. O Ácido Gálico (GAE) foi empregado como padrão de referência, sendo construída curva padrão com concentrações de 2,5, 5, 10, 25, 40, 70, 85, 100 e 125 mg/L. A mistura reacional consistiu de 0,5 mL de amostra (ou ácido gálico na construção da curva padrão), 2,5 mL do reagente de Folin Ciocalteau diluído em água destilada 1:10 (v/v), a qual foi deixada em repouso ao abrigo da luz por 5 minutos e então foi adicionado 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (v/v). A mistura permaneceu em repouso por 2 horas ao abrigo da luz e após foi realizado a leitura em 740 nm em um espectrofotômetro. Como branco foi utilizada a mesma mistura reacional, mas utilizando água em substituição a amostra.

2.6 ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

O potencial antioxidante do extrato de *P. major* L. foi avaliado pela capacidade de eliminação dos radicais ABTS e DPPH e pela avaliação do poder antioxidante redutor férrico (FRAP).

2.6.1 Capacidade de eliminação do radical DPPH

A capacidade de eliminação do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazil) foi avaliada segundo (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995).

Em um tubo de ensaio, as seguintes substâncias foram adicionadas: 0,5 mL da amostra (0,1 g de extrato em 50mL de água destilada), 3 mL de etanol e 0,3 mL de Solução do radical DPPH em etanol (0,5 mmol/L). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 45 min. Em seguida, a absorbância da mistura foi medida em um espectrofotômetro a 517 nm. O aparelho foi zerado com etanol absoluto. A eliminação do radical DPPH foi medida usando uma curva de calibração com trolox (6-hidroxi-2,5,7,8- ácido tetrametilcroman-2-carboxílico) como padrão ($R^2 = 0,9992$). A curva padrão de trolox foi preparada seguindo a mesma mistura reacional da amostra, apenas substituindo a amostra (0,5 mL) por solução de trolox (20, 60, 80, 100, 150, 200, 250 e 300 $\mu\text{mol/L}$). Os resultados foram expressos em mmol de trolox equivalentes por grama de extrato ($\text{mmol TE/g } 10^{-3}$).

2.6.2 Avaliação do poder antioxidante de redução férrica (FRAP)

Solução de FRAP foi preparada pela mistura de 25mL de solução tampão acetato de sódio pH 3,6, 2,5mL de solução TPTZ (Sal de 2,4,6-Tri-(2-Piridil)-1,3,5-Triazina 1:3 com Ácido p-Toluenosulfônico) e 2,5 mL de solução de cloreto férrico, a qual foi mantida em frasco âmbar a 37°C. Um volume de 90 μL de amostra foi transferido para tubo de ensaio e adicionado 270 μL de água destilada e 2,7 mL de solução FRAP. O tubo foi agitado em vórtex e incubado

ao abrigo da luz por 30 minutos a 37°C. As leituras (amostras em triplicatas) foram realizadas em 595 nm e os resultados foram apresentados em média e desvio padrão em mmol/g. Curva padrão de sulfato ferroso foi construída seguindo o mesmo protocolo, apenas substituindo a amostra pelas soluções de sulfato ferroso (0,2mM, 0,5 mM, 1,0 mM, 1,5 mM e 2,0 mM). Os resultados foram expressos μM equivalentes de sulfato ferroso por grama de extrato liofilizado.

2.6.3 Capacidade de eliminação do radical ABTS

Para obtenção da solução do radical ABTS foram misturados 5 mL da solução de ABTS (7 mmolL^{-1}) com 88 μL da solução de persulfato de potássio (140 mmolL^{-1}) e deixado ao abrigo da luz por 16 horas. A solução do radical ABTS foi diluída em etanol até absorvância de 0,700 a 734 nm. Em um tubo de ensaio foram misturados 30 μL da amostra apropriadamente diluída com 3 mL da solução do radical ABTS. A mistura foi agitada vigorosamente em vortex e deixada ao abrigo da luz por 6 minutos. As leituras foram realizadas a 734 nm (triplicatas). Como branco foi utilizado o mesmo solvente empregado no preparo da amostra do extrato. Curva padrão de trolox foi preparada substituindo a amostra por solução de trolox (mesmo procedimento reacional das amostras, porém, com diferentes concentrações de Trolox (0,1mM, 0,25 mM, 0,5 mM, 1,0 mM, 1,5 mM e 2,0 mM). Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em mM de trolox/g de extrato.

2.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A atividade antibacteriana e antifúngica *in vitro* do extrato de *P. major* L. foi avaliada pelo método de difusão em disco CLSI (2012) pelo método de microdiluição em placas para determinação da concentração inibitória mínima frente a microorganismos clinicamente importantes (CLCI 2003). Agentes antibacterianos comerciais (norfloxacin e fluconazol) foram usados como controles positivos. Uma solução de dimetilsulfóxido a 1% foi usada como controle negativo.

Os ensaios foram realizados em placas Elisa de 96 poços contendo 100 μ L de caldo Müller-Hinton (bactéria) ou caldo Sabouraud (levedura), 100 μ L de extrato de folhas de *P. major* em várias concentrações e 20 μ L de cepas microbianas previamente padronizadas por MacFarland. Escala 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). Após 24 horas de incubação a 37°C (bactéria) e 48 horas a 28°C (levedura), 20 μ L de corante cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) a 0,5 mg/ml foi adicionado a todos os poços. Retirado da placa e incubado novamente por 2 horas. Um resultado positivo para inibição microbiana é observado quando o meio de cultura não muda de cor (células inativas) e a presença de células viáveis é indicada por uma coloração rosa. As amostras positivas do teste MIC (injeção cérebro-coração) foram inoculadas em placas contendo ágar BHI e incubadas por 24 h a 37 °C para determinar a concentração bacteriana mínima (MBC) e 48 horas em 28 °C para determinar a concentração bactericida mínima (MFC). Resultados positivos para atividade bacteriana e fúngica foram confirmados pela ausência de desenvolvimento de colônias microbianas na superfície do ágar BHI.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

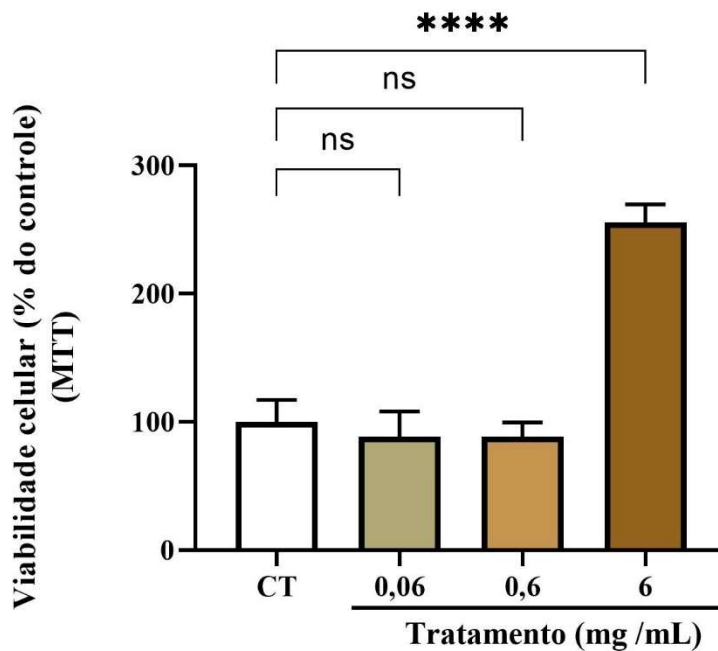
O programa utilizado para análise foi o Software Microsoft Windows Excel. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão (DP). As variáveis de linha de base foram comparadas entre os dois grupos de amostra independente. A análise de medidas repetidas e de amostra independente foram usados para comparar a eficácia da intervenção entre os dois grupos, o desvio-padrão de 0,05, poder estatístico de 95% e erro alfa de 0,05 (T Student). Os testes de ANOVA e Tukey foram realizadas na análise da viabilidade celular.

2.9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.9.1 Viabilidade celular

A atividade citotóxica do extrato da tansagem é mostrada na Figura 1. O resultado da análise realizada pela técnica MTT com 0,06, 0,6 e 6 mg/mL frente aos PBMCs, demonstrou que o extrato não apresentou atividade citotóxica nessas concentrações.

Figura 1. Viabilidade celular.



Legenda: CT: Controle. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão. Os resultados foram analisados pelo teste de variância ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey, sendo que asterisco (****) representam valores de $p < 0,0001$.

Fonte: Autoria própria (2023).

Esses resultados são corroborados por Ruffa *et al.* (2002) que analisaram a citotoxicidade da tansagem na quantidade de 15,5-1000 $\mu\text{g/mL}$ e não apresentou efeito inibitório sobre células Hep G2 (câncer de fígado humano) pelo método MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil) -2- (4-sulfofenil) -2H-tetrazólio). No entanto, Kartini *et al.* (2014), utilizando diferentes extratos metanólicos (MeOH) e aquoso, demonstraram efeito citotóxico da planta em linhagens celulares de câncer SiHa (câncer colo uterino) e Hep G2. O valor da concentração inibitória variou de 174,42 a 496,14 $\mu\text{g/mL}$. As diferenças encontradas nestes estudos podem ser explicadas devido a diferenças nas metodologias uso de outras partes da planta, como a raiz e as sementes, sendo que neste estudo foi utilizado somente a folha da tansagem. As variações climáticas e tipos de extrações também podem explicar as diferenças encontradas na literatura.

2.9.2 Atividade antioxidante e fenólicos totais

Os resultados referentes ao conteúdo de Fenólicos Totais e atividade antioxidante avaliada pela capacidade de remoção dos radicais ABTS e DPPH e potencial redutor do íon férrico do extrato de *P. major* estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Conteúdo de Fenólicos Totais e Atividade antioxidante do extrato do *P. major*

Resultados	Atividade antioxidante	
Fenólicos totais (mg Gae/g)	19,64	± 0,38
ABTS (mM Teq/g)	10435,19	± 447,63
DPPH (mM Teq/g)	444,12	± 0,759
FRAP (mol/L de sulfato ferroso/g)	3848,11	± 84,46

mM Teq: mM de trólox equivalente.

Fonte: Autoria própria (2023)

Elevado conteúdo de fenólicos totais foi observado no extrato de *P. major* (19,64 mg Gae/g extrato liofilizado). De fato, na literatura científica são encontrados trabalhos que mostram que a planta é rica em conteúdo fenólico. Neste contexto, Kazazic; Djapo; Ademovic, (2016) reportaram valores similares de fenólicos totais (18,96 mg GAE/g) em extrato de espécime de *P. major* L. colhida na cidade de Mostar na Bósnia e Herzegovina e obtido por extração aquosa. Por outro lado, conteúdos inferiores de fenólicos totais (6,6 mg GAE/g) foram reportados por Farid et al., (2022) em extrato de folhas da planta cultivada e coletada em Arak, província de Markazi, Irã. Cabe mencionar que o referido extrato foi obtido por maceração com etanol 70% (m/v), condição similar a empregada no presente estudo.

Os compostos fenólicos presentes em extratos vegetais contribuem para a habilidade antioxidante comumente verificado nestes (SAVI et al., 2020). É importante destacar que o conteúdo de fenólicos pode variar bastante de uma planta para outra. Neste sentido, condições agrônômicas de cultivo, cultivar, época de colheita, parte da planta e processo de extração (tempo e temperatura de extração e tipo de agente extrator) influenciam muito no conteúdo de compostos fenólicos presentes (FONSECA et al., 2018; PINCEMAIL et al., 2012;).

O extrato obtido no presente estudo mostrou uma habilidade de eliminação do radical ABTS de 10.435,19 mM Teq/g de extrato liofilizado. No estudo conduzido por Kazazic; Djapo;

Ademovic, (2016), o extrato da planta foi capaz de eliminar o radical ABTS, mas com uma atividade bastante inferior ($3,50 \pm 0,23$ mM TE/100 g).

Em relação ao potencial de eliminação do radical DPPH foi verificado um valor de 444,12 mM Teq/g, valor este também bastante superior ao reportado no trabalho de Kazazic; Djapo; Ademovic (2016), os quais encontraram valores de 3.77 ± 0.17 23 mM TE/100 g. Da mesma forma, Chirinos et al., (2013) também reportaram valores inferiores (298.2 ± 14.2 μ M TE/ g) de capacidade de eliminação do radical DPPH.

A capacidade antioxidante redutora do íon férrico (FRAP) encontrada no extrato de *P. major* L. foi de 3848,11 mol/L de sulfato ferroso equivalente / g de extrato liofilizado ($3848,11$ M Fe^{+2} /g). Valor bastante inferior de FRAP ($1,26$ mM Fe^{+2} /100 g) foi reportado por Kazazic; Djapo; Ademovic, (2016) em extrato de *P. major* L.. Similarmente, Li et al (2013) mencionaram potencial FRAP bastante inferior (96.42 ± 0.16 mM Fe^{+2} /100 g) em extrato de *P. major* L.

Selamoglu et al, (2017) evidenciaram maior poder antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP, comparando algumas plantas ricas em alantoína, um produto de oxidação do ácido úrico, facilmente eliminada na urina e com biomarcador de estresse oxidativo. Nesse estudo a tansagem mostrou melhor atividade antioxidante que as demais plantas analisadas.

2.9.3 Atividade antimicrobiana

Na Tabela 2 é mostrado o potencial antimicrobiano do extrato liofilizado de *P major* L e dos padrões tetraciclina (antibacteriano) e Fluconazol (antifúngico). Conforme pode ser verificado o extrato de *P. major* L, apresentou atividade bacteriostática contra as bactérias patogênicas Gram-negativas *E. coli.* e *Salmonella entérica* Typhimurium na concentração de 5mg/mL. Efeito bacteriostático na mesma concentração (5mg/mL) também foi verificado contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*.

Atividade antimicrobiana em extrato de *P major* L tem sido reportado na literatura científica, sendo verificada diferentes potencialidades. Nogueira, et al, (2021) menciona concentrações mínimas inibitórias de extrato de *P major* contra *S. aureus* e *C. tropicalis* de 1mg/mL e um valor de MIC > 1mg/mL para *E. coli.* O extrato também demonstrou potencial antimicrobiano com atividade fungistática contra *C albicans* e *C. tropicalis* na concentração de 25mg/mL e 50mg/mL, respectivamente.

Esses resultados vão de encontro com outros estudos em que a *Plantago* não demonstrou atividade antibactericida contra *S. aureus* (VENTURA et al., 2016); (SAMUELSEN, 2000). Similarmente, Trindade (2020) em seus achados, pode afirmar que o macerado hidroalcoólico é ativo contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente) e apresenta um halo inibitório maior com o aumento da concentração da planta, mesmo resultado esse que não conseguiu frente ao extrato aquoso. Ressalta com isso, o fato de a relação entre o método de extração utilizado e o solvente determinado indicar diferença na atividade antibacteriana e que isso pode estar associado a uma variedade de metabólitos extraídos que muitas vezes são importantes para o efeito desejado.

Tabela 2. Atividade antimicrobiana do extrato de *P major* L e padrões antimicrobianos

Cepa microbiana	Concentração Biostática Mínima (mg/mL)		
	Extrato liofilizado*	Tetraciclina**	Fluconazol***
<i>Escherichia coli</i>	5 mg/mL		–
<i>Staphylococcus aureus</i>	5 mg/mL	Efeito bactericida	–
<i>Salmonella enterica</i>	5 mg/mL	(22,7 µg/mL)	–
Typhimurium			
<i>Candida albicans</i>	50 mg/mL	–	Efeito fungicida
<i>Candida tropicalis</i>	25 mg/mL	–	(22,7 µg/mL)

* Extrato liofilizado de *Plantago major* L. **Molécula bactericida padrão. *** Molécula fungicida padrão.

Escherichia coli ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella entérica* Typhimurium ATCC 0028, *Candida albicans* ATCC 118804 e *Candida tropicalis* ATCC 13803.

Fonte: Autoria própria (2023).

Sobreira et al, (2020), afirmam que ainda há uma vasta variação de estudos comprovando desempenho dos principais extratos vegetais da *Plantago*. A atividade vegetal, a genotoxicidade e a citotoxicidade em outros microrganismos, bem como a sensibilidade da Tansagem a bactérias patogênicas formadoras de biofilme, ainda são controversas, sendo necessários mais estudos in vitro com outros tipos de bactérias.

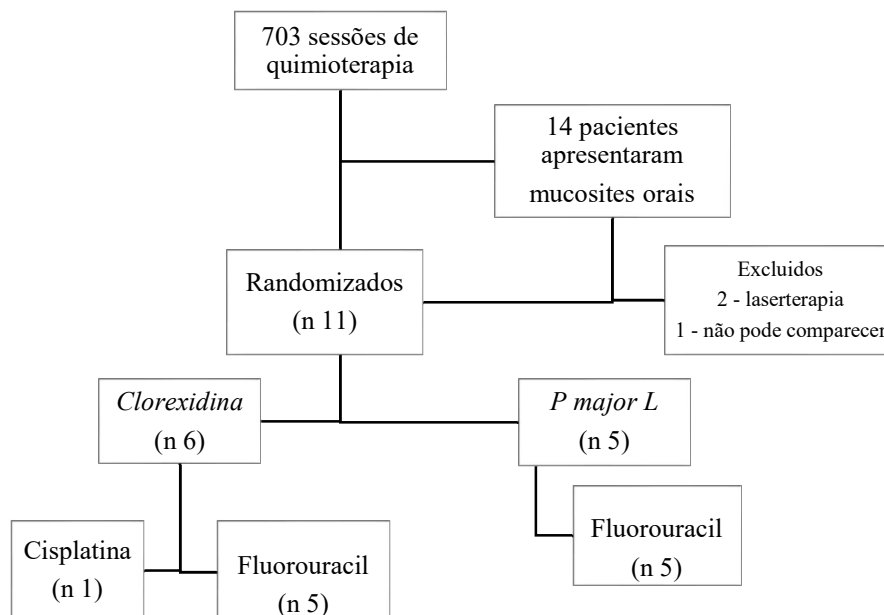
Nogueira et al., (2021) corrobora afirmando em seu estudo que, encontrou na tansagem várias classes de fitoquímicos com esta atividade farmacológica e sua atividade anti-inflamatória não pode ser ignorada como eficaz no alívio dos sintomas de vários distúrbios microbianos. A partir dos resultados obtidos nas análises realizadas tendo observado que 2,4mg/mL de produto liofilizado não apresenta toxicidade e ainda tem uma boa resposta anti-

inflamatória, aos enxaguantes previamente formulados foi adicionado a quantidade de 600mg/250mL de enxaguante e assim realizado à randomização.

2.9.4 Característica dos participantes – Randomização

O estudo clínico randomizado aconteceu do dia 20 de março ao dia 12 de maio, nesse período foram realizadas 703 sessões de quimioterapia com diversos esquemas e drogas, porém observou-se que o quimioterápico Fluorouracil foi o que mais causou lesões de mucosites nos pacientes, dos 38 pacientes que realizaram o esquema com o quimioterápico Fluorouracil, 13 pacientes apresentaram lesões orais (34,2%), destes, 3 foram excluídos do protocolo: 2 estavam fazendo tratamento com laser com ortodontistas e 1 não conseguiu vir até a instituição para avaliação e tratamento com o enxaguante. Apenas 1 paciente do estudo (9%) apresentou a lesão realizando o esquema com o quimioterápico Cisplatina. A amostra final para randomização foi de 11 participantes.

Fluxograma 2 – Randomização simples do uso dos enxaguantes bucais



Fonte: Autoria própria (2023)

O desfecho primário deste ensaio clínico foi a gravidade da mucosite oral avaliada pelo investigador de acordo com a escala da OMS. Os resultados secundários incluíram limiar de dor dos pacientes, analisada de 0 a 10, quando 0 é sem dor e 10 é uma dor insuportável (WALKER; POLANER; BERDE, 2018).

Os dados demográficos basais e as características clínicas dos pacientes do estudo são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados demográficos basais e características clínicas de ambos os grupos de estudo.

Características	Grupo <i>Plantago major</i> L (n=5)	Grupo Clorexidina (n=6)	valor P
Idade (Ano), Média (\pmDP)	52,2 \pm 13,88	58,6 \pm 12,74	0,44
Sexo (Masculino/Feminino) N	1/4	1/5	0,90
Escolaridade (Ens. Fund. Comp/Incomp)	2/3	0/5	
Quimioterapia (Fluorouracil/Cisplatina) N	5/0	5/1	

Fonte: Autoria própria (2023)

81,8% dos pacientes (n = 9) eram mulheres. Todos os participantes se consideravam brancos, com idade média de 55,7 anos (DP \pm 13,0). Em relação à distribuição do tumor, 36% (n = 4) tinham câncer de intestino ou colorretal, 27% (n = 3) gástrico, 18% (n = 2) pulmão, 9% (n = 1) vesícula biliar e 9% (n = 1) metástase óssea. Duas drogas quimioterápicas foram administradas sendo que 91% (n=10) dos pacientes utilizaram fluorouracil, enquanto apenas 9% (n=1) fizeram uso do quimioterápico cisplatina. Quanto ao uso de analgésicos, 45,45% (n=5) da amostra, não fizeram uso de nenhum tipo de analgésico, 45,45% (n = 5) fizeram uso de analgésicos do nível 1 da escala de dor da OMS (não opioides \pm adjuvantes) e 1 participante (9%) usou medicamentos do passo 2 (opióides moderados). 54,5% (n=6) dos participantes apresentaram mucosite grau III, 36,4% (n = 4) apresentavam mucosite grau II e o 9% (n=1) apresentou mucosite grau I. A média de dor basal no dia 1 (D1) foi de 8 pontos (DP 2,3) na escala visual numérica (EVN). 54,5% da amostra (n = 6) não utilizavam nenhum tipo de prótese dentária enquanto 45,4% (n = 5) usavam prótese removível. A análise de homogeneidade não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em nenhuma das variáveis

no início do estudo. Também não houve diferenças significativas nos dados sociodemográficos ou nas características de saúde entre os dois grupos.

No campo da medicina oral, muitos esforços estão sendo feitos para sugerir estratégias para reduzir os sintomas da inflamação da mucosa oral devido ao seu grande significado clínico e econômico. Apesar do entendimento da etiologia, o tratamento da inflamação da mucosa oral permanece difícil e deve focar em medidas preventivas. Avanços em ferramentas de diagnóstico para prever o risco de mucosite oral e expansão de intervenções baseadas em evidências para melhorar o manejo clínico dessa complexa biotoxicidade são urgentemente necessários (SHETTY et al., 2022).

As estatísticas descritivas da gravidade da mucosite nos grupos estudados são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Estatística descritiva da gravidade da mucosite avaliada pela escala da OMS nos grupos estudados.

Resultado (gravidade da mucosite)	Grupo <i>P. major</i> (n = 5) Média (±DP)	Grupo clorexidina (n = 6) Média (±DP)	valor P *	Diferença Média (%95 Intervalo de Confiança)
1ª dia	2,4 ± 0,54	2,16 ± 0,75	0,57	0,23 (-0,20 a 0,67)
7ª dia	1,2 ± 1,30	0,66 ± 1,21	0,49	0,53 (-0,26 a 1,32)
14ª dia	0,2 ± 0,44	0,17 ± 0,40	0,90	0,03 (-0,40 a 0,46)

Fonte: Autoria própria (2023)

Quanto ao grau da mucosite, não houve diferença significativa (p valor $>0,05$) quanto ao uso dos enxaguantes, ambos demonstraram auxiliar e diminuir as consequências das lesões, salientando assim, o enxaguante a base da tansagem também ser uma opção de tratamento preventivo e curativo para a mucosite oral. Notou-se que quanto mais cedo iniciar o tratamento preventivo com os enxaguantes bucais, há uma melhora significativa nas lesões, pacientes que iniciaram o tratamento já com o grau da mucosite 3, levaram maior tempo para a melhora clínica, já os participantes que iniciaram ainda com o grau de mucosite 1 e 2, a melhora clínica foi mais evidente. Corroborando com os nossos resultados, um outro ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo avaliou a eficácia do xarope *P major L* para a prevenção da mucosite induzida por radiação em pacientes com câncer de cabeça e pescoço

o qual, se mostrou eficaz na redução da gravidade da mucosite induzida por radiação (SOLTANI et al., 2020).

As estatísticas descritivas da intensidade da dor nos grupos estudados são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Estatística descritiva da intensidade da dor avaliada pela EVN nos grupos estudados.

Resultado (gravidade da dor)	Grupo <i>P major</i> (n = 5) Média (DP)	Grupo Clorexidina (n = 6) Média (DP)	valor P *	Diferença Média (% 95 Intervalo de Confiança)
1ª dia	9 ± 1,09	7 ± 2,68	0,20	2,00 (0,44 a 3,56)
7ª dia	4,4 ± 5,17	1,8 ± 4,02	0,37	2,57 (-0,48 a 5,62)
14ª dia	1 ± 2,23	1,3 ± 3,26	0,85	-0,33 (-2,16 a 1,48)

Fonte: Autoria própria (2023)

Não observou-se diferença na intensidade da dor dos participantes do grupo intervenção e controle, na avaliação semanal (p valor $> 0,05$), em seus relatos, os pacientes disseram haver um alívio momentâneo da dor já na realização do bochecho, o que permitia que eles conseguissem se alimentar e descansar, ficando menos estressados com o incômodo gerado pela lesão. Shetty, et al (2022) salienta que a inflamação da mucosa oral está associada a dores debilitantes, bem como a problemas de fala, deglutição, sono e alimentação e que por vezes a hospitalização prolongada e a descontinuação da terapia antitumoral podem ser necessárias para aliviar os sintomas da mucosite oral, aumentando assim o tempo total de tratamento, afetando o controle do tumor, multimedicamentos, nutrição parenteral e aumentando o custo do tratamento.

A taxa de cura da dor foi mais relevante que o grau da mucosite, demonstrando assim o enxaguante da tansagem ser uma opção de escolha no tratamento das mucosites. Resultados parecidos foram encontrados por Cabrera-Jaime et al., (2018) em seu estudo de randomização tripla, comparando o uso do enxaguante bucal clorexidina, tansagem e o bicarbonato de sódio, nas mucosites relacionadas a quimioterapia, nesse estudo a média de melhora dos pacientes nos 14 dias foi de 68%, quando o nosso foi de 81,8% de cicatrização das lesões nos 14 dias.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados deste ensaio clínico, concluímos que o uso do enxaguante bucal a base de *P major L* em comparação com o uso do enxaguante a base da clorexidina se mostraram eficiente na melhora clínica dos pacientes. Relatando melhora significativa da dor já nos primeiros dias de uso.

Por ser uma planta já utilizada na medicina tradicional e sendo também uma planta de interesse do SUS, este estudo vem corroborar com o uso desta na composição do enxaguante bucal, bem como demonstrou ser uma planta rica em fenóis totais e antioxidantes, reiterando seu custo-benefício para os pacientes por se tratar de uma planta normalmente encontrada em hortas das Regiões.

Não há relatos no Brasil, de outros estudos que compararam o uso dos enxaguantes clorexidina e a tansagem, pelo número da amostra ainda não ser significativo para melhores conclusões, vê se a necessidade da realização de mais estudos como esse para comprovação da sua eficácia. No entanto, os relatos dos pacientes revelam uma melhora significativa ao realizar o bochecho, sentindo alívio da dor momentâneo.

O pequeno tamanho da amostra é uma das limitações deste estudo. No entanto, como este estudo é um estudo piloto em pacientes com câncer, o tamanho mínimo da amostra pode ser aceitável. Obviamente, devido aos resultados positivos deste estudo, recomenda-se que estudos futuros sejam conduzidos com amostras maiores. Embora tenhamos utilizado a escala da OMS para avaliar a gravidade da mucosite em pacientes como uma medida válida e confiável, outra limitação é a falta de uma ferramenta objetiva para avaliar a mucosite em pacientes. Outra limitação é a falta de fatores característicos mais básicos, como estágio do câncer, estado de higiene oral e uso de dentaduras. Recomenda-se que estudos futuros incluam esses elementos-chaves.

4 REFERÊNCIAS

- BRAGA, F. T. M. M., SANTOS, A. C. F., BUENO, P. C. P., SILVEIRA, R. C. C. P., SANTOS, C. B., BASTOS, J. K., & CARVALHO, E. C. (2015). Use of chamomilla recutita in the prevention and treatment of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: A randomized, controlled, phase II clinical trial. **Cancer Nursing**, 38(4), 322-329. doi:10.1097/NCC.000000000000194
- BEZERRA, A. S.; STANKIEVICZ, S. A.; UCZAY, J.; KAUFMANN, A. I.; MACHADO, A. A. R. Composição nutricional e atividade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais da região sul do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 182–188, 2017.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monografia da espécie Plantago major L. (Tanchagem)**, 2014. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br>>
- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informações Sistematizadas da Relação Nacional de PLANTAS MEDICINAIS PLANTAGO MAJOR L., PLANTAGINACEAE – TANCHAGEM**, 2021, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/ctie/daf/componentes-da-assistencia-farmaceutica-no-sus/cbaf/arquivos/arquivos-plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantago_major.pdf/view>
- BÖYUM, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, vol. 97, p. 77–89, 1968.
- CABRERA-JAIME, S.; MARTÍNEZ, C.; FERRO-GARCÍA, T.; GINER-BOYA, P.; ICART-ISERN, T.; ESTRADA-MASLLORENS, J. M.; FERNÁNDEZ-ORTEGA, P. Efficacy of Plantago major, chlorhexidine 0.12% and sodium bicarbonate 5% solution in the treatment of oral mucositis in cancer patients with solid tumour: A feasibility randomised triple-blind phase III clinical trial. **European Journal of Oncology Nursing**, [s. l.], v. 32, n. November 2017, p. 40–47, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejon.2017.11.006>>
- CARVALHO, A. C. B. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil**. 2011. [s. l.], 2011.
- CARVALHO, S. **Estudo sobre mortalidade, co-morbidades, adesão ao tratamento e sobrevida de pacientes portadores de câncer bucal em Campina Grande**. 2009. [s. l.], 2009.
- CHIRINOS, R.; PEDRESCHI, R.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y.; CAMPOS, D. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 47, p. 145–152, 2013. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669013001052>>

CLSI, 'Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically - document M7-A6', Wayne, Pensilvânia USA, 2003, Vol. 29, pp. 12–19.

CLSI, 'Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Document M02-A11', Wayne, Pensilvânia USA, 2012, Vol. 29, pp. 9–13.

DE OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de Ácidos fenólicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 1051–1056, 2011.

FARID, A.; SHEIBANI, M.; SHOJAI, A.; NOORI, M.; MOTEVALIAN, M. Evaluation of anti-inflammatory effects of leaf and seed extracts of *Plantago major* on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 298, p. 115595, 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874122006341>>

FONSECA, M. da S.; SANTOS, V. A. Q.; CALEGARI, G. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA-DEKKER, A. de M.; CUNHA, M. A. A. Da. Blueberry and honey vinegar: successive batch production, antioxidant potential and antimicrobial ability. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l.], v. 21, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232018000100470&lng=en&tlng=en>

FUKUI, Masayuki; YAMABE, Noriko; ZHU, Bao Ting. Resveratrol Attenuates the Anticancer Efficacy of Paclitaxel in Human Breast Cancer Cells In Vitro and In Vivo. *Eur J Cancer*, vol. 46, no. 10, p. 1882–1891, 2010. DOI 10.1016/j.ejca.2010.02.004. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>.

HUNTER, R. D. **WHO handbook for reporting results of cancer treatment**, 1980.

KARTINI; PIYAVIRIYAKUL, S.; SIRIPONG, P.; VALLISUTA, O. HPTLC simultaneous quantification of triterpene acids for quality control of *Plantago major* L. and evaluation of their cytotoxic and antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 60, p. 239–246, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.020>>

KAZAZIC, M.; DJAPO, M.; ADEMOVIC, E. Antioxidant activity of water extracts of some medicinal plants from Herzegovina region. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 85–90, 2016.

LI, S.; LI, S.-K.; GAN, R.-Y.; SONG, F.-L.; KUANG, L.; LI, H.-B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 51, p. 289–298, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669013005281>>

NOGUEIRA, M. L.; LIMA, L. M.; LEMOS, A. S. de O.; DIOGO, M. A.; DE FREITAS SOUZA, T.; SANTANA DA SILVA, J. P.; ALVES DA SILVA FILHO, A.; MOREIRA CHEDIER, L.; FABRI, R. L.; DE FARIA PINTO, P. *Plantago major* L. (Plantaginaceae) pode ser utilizado como agente antimicrobiano para emprego em produtos para uso oral? **Revista Fitos**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 354–365, 2021. Disponível em: <<https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1005>>

OPAS, O. P.-A. da S. **Câncer**. 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>>. Acesso em: 14 out. 2021.

PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.-O.; DOMMES, J. Cultivars, Culture Conditions, and Harvest Time Influence Phenolic and Ascorbic Acid Contents and Antioxidant Capacity of Strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 77, n. 2, p. C205–C210, 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2011.02539.x>>

RUFFA, M. J.; FERRARO, G.; WAGNER, M. L.; CALCAGNO, M. L.; CAMPOS, R. H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 335–339, 2002.

SAMUELSEN, A. B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. **Journal of ethnopharmacology**, [s. l.], v. 71, n. march, p. 1–21, 2000.

SANTOS, P. S. da S.; MESSAGI, A. C.; MANTESSO, A.; MAGALHÃES, M. H. C. G. De. Mucosite oral: perspectivas atuais na prevenção e tratamento. **RGO (Porto Alegre)**, [s. l.], n. October, p. 339–344, 2009.

SAVI, A.; CALEGARI, M. A.; CALEGARI, G. C.; SANTOS, V. A. Q.; WERMUTH, D.; CUNHA, M. A. A. Da; OLDONI, T. L. C. Bioactive compounds from *Syzygium malaccense* leaves: optimization of the extraction process, biological and chemical characterization. **Acta Scientiarum. Technology**, [s. l.], v. 42, p. e46773, 2020. Disponível em: <<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/46773>>

SELAMOGLU, Z.; DUSGUN, C.; AKGUL, H.; GULHAN, M. F. In-vitro antioxidant activities of the ethanolic extracts of some contained-allantoin plants. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 16, n. September 2015, p. 92–98, 2017.

SHETTY, S. S.; MARUTHI, M.; DHARA, V.; DE ARRUDA, J. A. A.; ABREU, L. G.; MESQUITA, R. A.; TEIXEIRA, A. L.; SILVA, T. A.; MERCHANT, Y. Oral mucositis: Current knowledge and future directions. **Disease-a-Month**, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 101300, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2021.101300>>

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, p. 144–158, 1965

SOBREIRA, M. B.; BEZERRA, A. S.; MENDES, T. A. D.; BRUM, N. F.; SOUZA, G. S. De; MARQUEZAN, P. K. Atividade antimicrobiana e antibiofilme da *Plantago major*: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. e496997495, 2020.

SOLTANI, G. M.; HEMATI, S.; SARVIZADEH, M.; KAMALINEJAD, M.; TAFAZOLI, V.; LATIFI, S. A. H. Efficacy of the *plantago major* L. syrup on radiation induced oral mucositis in head and neck cancer patients: A randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. **Complementary Therapies in Medicine**, [s. l.], v. 51, n. April, 2020.

TAYLOR, K. R.; KIYAK, A.; GREG J. HUANG; GREENLEE, G. M.; JOLLEY, C. J.; KIN, G. J. Effects of malocclusion and its treatment on the quality of life of adolescents. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, [s. l.], v. 136, n. 3, p. 382–392, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2008.04.022>>

TRINDADE, G. O.; ALVES, V. H.; MARÍÑO, P. A.; MALDANER, G.; MENEZES, A. P. S.; REIS, R. O. Dos. TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL. *Três Corações*, p. 41–48, 2019.

VENTURA, P. A. O.; JESUS, J. P. O.; NOGUEIRA, J. R. D. S.; GALDOS-RIVEROS, A. C. ANÁLISE FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES TIPOS DE EXTRATOS DE *Plantago major* L. (Plantaginaceae). **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 33–39, 2016.

WALKER, B. J.; POLANER, D. M.; BERDE, C. B. **Acute Pain**. Sixth Edition ed. [s.l.] : Elsevier Inc., 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42974-0.00044-6>>

CONSIDERAÇÕES FINAIS DA DISSERTAÇÃO

O enxaguante bucal à base da *Plantago Major L* se mostrou eficaz em caso de mucosites orais no tratamento da quimioterapia. Esse é o primeiro estudo relatado no Brasil que comparou o uso do enxaguante à base clorexidina com o enxaguante à base da *Plantago Major L*. Nas análises realizadas, foi possível observar os benefícios do extrato em relação à atividade antioxidante, bem como na concentração dos compostos fenólicos.

Este trabalho traz resultados importantes no tratamento de mucosites orais provenientes de pacientes que estão em tratamento quimioterápico, pois eles muitas vezes encontram-se em estado de caquexia e com o sistema imunitário comprometido. Sugere-se o desenvolvimento de estudos futuros também em pacientes em tratamento de radioterapia. A implantação de protocolos profiláticos aos pacientes com câncer, pode ser um padrão ouro na qualidade de vida desses pacientes.