

Ricevuto:
10 dicembre 2011
Accettato:
26 gennaio 2012
Disponibile online:
22 marzo 2012

Collutorio a base di fitocomplessi ed estratti naturali per la protezione contro la demineralizzazione dello smalto

Mouthwash containing phytocomplexes and natural extracts for the protection against demineralisation of enamel

G. Pitzolu^a, B. De Carlo^a, F. Foschi^b, S. Zanna^a, G. Valdrè^a, R. Mongiorgi^a, S. Sauro^{b,c,*}

^a *Centro di Ricerca Interdisciplinare di Biomineralogia, Cristallografia e Biomateriali, Dipartimento di Scienze della Terra e Geologico-Ambientali, Università di Bologna, Italia*

^b *Biomaterials, Biomimetics & Biophotonics Department, King's College London Dental Institute at Guy's Hospital, King's Health Partners, London, UK*

^c *Dental Materials, School of Dentistry, Colegio Máximo, Campus de Cartuja, University of Granada, Spain*

Disponibile online all'indirizzo

SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Riassunto

Obiettivi: Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la capacità protettiva di un collutorio innovativo a base di Lapacho e Mastice di Chios contro le demineralizzazioni dello smalto indotte dagli acidi batterici e alimentari.

Materiali e metodi: Sedici coppie di frammenti omologhi di smalto provenienti da denti umani sani sono stati trattati con collutorio o con acqua deionizzata e sottoposti a trattamenti di demineralizzazione in acido citrico e lattico. La valutazione quantitativa degli ioni calcio e fosfato è stata effettuata tramite spettrofotometria ultravioletta. L'analisi ultra-morfologica dello smalto è stata eseguita tramite SEM.

Risultati: I test di spettrofotometria a ultravioletti e l'analisi ultra-morfologica al SEM hanno dimostrato la capacità protettiva del collutorio a base di Lapacho e Mastice di Chios contro la demineralizzazione dello smalto.

Conclusioni: L'uso quotidiano del collutorio a base di fitocomplessi di Lapacho e Mastice di Chios potrebbe contribuire alla protezione dello smalto contro le demineralizzazioni di origine batterica e alimentare.

© 2012 Elsevier Srl. Tutti i diritti riservati.

Parole chiave: Collutorio, Igiene orale, Mastice di Chios, Protezione dello smalto, *Tabebuia avellaneda*

Abstract

Objectives: The purpose of this study was to evaluate the enamel protection induced by a new mouthwash containing phytocomplexes and natural extracts against acid attacks.

Materials and methods: Sixteen pairs of enamel fragments obtained from healthy human teeth were used in this study and treated with mouthwash or with deionized water. Ultraviolet/visible (UV/vis) spectrophotometry and SEM ultra-morphological analyses were performed for the evaluation of the enamel protection by the mouthwash after citric and lactic acid challenge.

Results: The ultraviolet/visible (UV/vis) spectrophotometry and the SEM ultra-morphological analysis showed that the specimens treated with the mouthwash containing Lapacho and Chios Mastic presented no sign of enamel demineralisation.

Conclusions: Daily use of this innovative mouthwash may help protect against enamel demineralization caused by bacteria and food.

© 2012 Elsevier Srl. All rights reserved.

Keywords: Mouthwash, Oral hygiene, Chios Mastic, Enamel protection, *Tabebuia avellaneda*

* Autore di riferimento:

Floor 17 Guy's Tower, London, SE1 9RT, England, UK; Campus de Cartuja, Granada, Spain.
e-mail: salvatore.sauro@kcl.ac.uk (S. Sauro).

Introduzione

La porzione minerale dello smalto dentale può essere danneggiata da numerosi fattori chimici associati a una scorretta assunzione di cibi e bevande a basso pH [1] e dall'ambiente acido generato dal metabolismo dei batteri della placca [2,3]. Questi fattori determinano la dissoluzione dell'apatite dentale con conseguente demineralizzazione dei tessuti dentali. L'acido lattico è uno dei principali prodotti del metabolismo dei batteri della placca responsabile della formazione della carie [2-5]. L'acido citrico è invece contenuto in diversi alimenti come frutta, verdura e bevande (in particolare nei succhi di frutta e nelle bevande gassate) ed è alla base dei processi erosivi dentali [1,6].

In natura esistono numerose sostanze in grado di prevenire e combattere questi fenomeni erosivi. In particolare, gli estratti alcolici di *Tabebuia avellanedae* (conosciuta anche come Lapacho) [7] e Mastice di Chios [8-10] hanno una nota attività antibatterica. La *Tabebuia avellanedae* presenta componenti principali, come i naftochinoni lapacholo, il beta-lapachone e lo xiloidone, che sono caratterizzati da un'elevata attività protettiva, e principi attivi con attività biologica come la quercetina, il lapachenolo, il carnosolo, gli indoli, il coenzima Q e alcuni alcaloidi, come tecomina, acidi idrossibenzoici e saponine steroidee [11]. L'azione antibatterica dipende soprattutto dalla capacità della *Tabebuia avellanedae* di interferire con il metabolismo mitocondriale dell'ossigeno, attraverso l'inibizione del trasporto elettronico [12-14]. Gli idrossinaftochinoni contenuti in questo principio attivo naturale sono efficaci anche contro vari virus dell'influenza; la quercetina, oltre alla sua attività antiretrovirale, è anche attiva contro l'herpes simplex [15-17]. Anche i miceti sembrano essere particolarmente sensibili all'attività di particolari alcaloidi presenti nella *Tabebuia avellanedae*: in particolare lo xiloidone ha dimostrato la propria attività contro *Candida albicans* [18]. L'attività antibatterica del Mastice di Chios è invece dovuta ai componenti alcaloidi come alfa-pinene, beta-pinene, beta-myrcene, limonene, beta-caryophyllene, verbenone, alfa-terpineolo e linaolo [10]. Una proteina denominata *Arabino Galactano*, anch'essa presente nel Mastice di Chios, presenta una notevole attività antibatterica [19]. L'olio essenziale di *Lentiscus pistacia*, contenuto anch'esso nel Mastice di Chios, possiede una spiccata attività antibatterica nei confronti dei microrganismi coinvolti nell'eziopatogenesi della carie [10,19].

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare in vitro la capacità protettiva di un collutorio innovativo a base di Lapacho e Mastice di Chios contro la demineralizzazione dello smalto indotta dagli acidi batterici e alimentari. La valutazione dell'indice di protezione è stata eseguita tramite spettrofotometria ultravioletta (UV/VIS) e microscopia elettronica a scansione (SEM).

Materiali e metodi

Preparazione dei campioni e spettrofotometria ultravioletta (UV/VIS)

Nel presente studio sono stati utilizzati 10 molari sani estratti per ragioni ortodontiche. In tale maniera sono stati evitati denti di pazienti adulti in cui una pregressa attività erosiva potesse aver modificato la struttura smaltea. I denti sono stati sezionati 1 mm sotto la giunzione amelo-cementizia sotto costante irrigazione, usando una fresa diamantata montata su turbina. La dentina è stata successivamente eliminata utilizzando la medesima fresa. Due frammenti di smalto omologhi di circa 0,3 g sono stati preparati da ciascun campione (frammento sperimentale e frammento di controllo). Tutti i frammenti sono stati conservati a +4 °C in acqua bidistillata basificata a pH 7,4, per evitare ulteriore demineralizzazione dello smalto e per limitare la proliferazione batterica prima di sottoporli alla sperimentazione.

I frammenti sperimentali sono stati trattati con un collutorio innovativo a base di fitocomplessi di Lapacho e Mastice di Chios (Collutorio Phyto Protection, N.E.F.E.R. LINE Srl, Merano, BZ, Italia; composizione registrata: n. BZ2010A000033, 8 settembre 2010) tre volte al giorno per 30 secondi (ore 9:00, 12:30 e 16:00, corrispondenti ai cicli A, B e C) per simulare uno scenario clinico in cui si effettuano tre operazioni giornaliere di igiene dentale. Dopo ogni applicazione, il frammento è stato risciacquato con acqua bidistillata basificata a pH 7,4. I frammenti omologhi di controllo sono stati invece trattati con acqua bidistillata basificata a pH 7,4. I frammenti di controllo e sperimentali sono stati successivamente immersi in diverse soluzioni in grado di simulare un'azione demineralizzante batterica o alimentare [1,5].

I frammenti di smalto destinati al trattamento demineralizzante alimentare simulato sono stati immersi in 100 ml di acido citrico (Carlo Erba, Milano, Italia) a 0,02 M [pH 2,5] per 5 minuti, risciacquati e conservati in acqua bidistillata basificata a pH 7,4 fino al successivo trattamento (tabella I). I frammenti di smalto destinati al trattamento demineralizzante batterico simulato sono stati immersi in 50 ml di acido lattico (Sigma Aldric, Italia) a 0,1 M [pH 4,4] e mantenuti sotto costante agitazione magnetica per cicli di 3 giorni (tabella II). Il rilascio di ioni calcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}) rilasciati in soluzione è stato valutato prima e dopo ogni test dissolutivo mediante spettrofotometria UV (Perkin Elmer mod. Lambda 25 con cuvette di quarzo e Kit Hagen Diagnostika [per il calcio cod. 001-0037, per il fosforo cod. 001-0017]). I valori delle concentrazioni ioniche ottenute durante spettrofotometria ultravioletta sono stati normalizzati in base al peso iniziale di ogni frammento ($0,30 \text{ g} \pm 0,02$) [5].

Microscopia elettronica a scansione (SEM)

In seguito alla valutazione spettrofotometrica, ogni campione è stato immerso in una provetta da 5 cc contenente una

Tabella I**Protocollo di trattamento dei frammenti con soluzione cariogena (acido lattico 0,1 M [pH 4.4]).****Campioni sperimentali** (ripetuti per tre volte consecutive)

Ciclo A (ore 9)	Trattamento della superficie del frammento per 30 secondi con il collutorio . Risciacquo del frammento con acqua bidistillata basificata. Test dissolutivo: valutazione del rilascio di ioni calcio e fosfato dal frammento a contatto per 3,5 ore con la soluzione di acido lattico 0,1 M, pH 4,4.
Ciclo B (ore 12:30)	Trattamento seguito da test dissolutivo di 3,5 ore.
Ciclo C (ore 16)	Trattamento seguito da test dissolutivo di 17 ore.

Campioni di controllo (ripetuti per tre volte consecutive)

Ciclo A (ore 9)	Trattamento della superficie del frammento con acqua bidistillata basificata . Risciacquo del frammento con acqua bidistillata basificata. Test dissolutivo: valutazione del rilascio di ioni calcio e fosfato dal frammento a contatto per 3,5 ore con la soluzione di acido lattico 0,1 M, pH 4,4.
Ciclo B (ore 12:30)	Trattamento seguito da test dissolutivo di 3,5 ore.
Ciclo C (ore 16)	Trattamento seguito da test dissolutivo di 17 ore.

Tabella II**Protocollo di trattamento dei frammenti con soluzione erosiva (acido citrico 0,02 M [pH 2.5]).****Campioni sperimentali** (ripetuti per tre volte consecutive)

Ciclo A	Trattamento della superficie del frammento per 30 secondi con il collutorio . Risciacquo del frammento con acqua bidistillata basificata. Test dissolutivo: valutazione del rilascio di ioni calcio e fosfato dal frammento dopo contatto per 5 minuti con la soluzione di acido citrico a pH 2,5.
Ciclo B	Trattamento seguito da test dissolutivo di 5 minuti.
Ciclo C	Trattamento seguito da test dissolutivo di 5 minuti.

Campioni di controllo (ripetuti per tre volte consecutive)

Ciclo a	Trattamento della superficie del frammento con acqua bidistillata . Risciacquo del frammento con acqua bidistillata basificata. Test dissolutivo: valutazione del rilascio di ioni calcio e fosfato dal frammento a contatto per 5 minuti con la soluzione di acido citrico a pH 2,5.
Ciclo b	Trattamento seguito da test dissolutivo di 5 minuti.
Ciclo c	Trattamento seguito da test dissolutivo di 5 minuti.

soluzione fissativa al 4% di glutaraldeide tamponata con sodio cacodilato 0,2 M a pH 7,2 per 48 ore alla temperatura di 4 °C. I campioni sono stati successivamente risciacquati abbondantemente con tampone cacodilato 0,1 M e sottoposti a un processo di disidratazione alcolica [5]. L'analisi al SEM dei frammenti di smalto è stata effettuata con un SEM (515 SEM/EDX-EDAX Dx 4, Philips, Eindhoven, Olanda).

Risultati

Le *tabelle III-VIII* riportano la media, la deviazione standard, la differenza di rilascio (espressa in percentuale) e l'analisi statistica (*t* di Student) degli ioni Ca^{2+} e PO_4^{3-} rilasciati da

frammenti di smalto in seguito a test dissolutivi in acido citrico e in acido lattico. I risultati dei test di dissoluzione, sia quelli con acido lattico (*tabelle III-V*) sia quelli con acido citrico (*tabelle VI-VIII*), mostrano una differenza statisticamente significativa tra i frammenti trattati con il collutorio a base di Lapacho e Mastice di Chios e i frammenti di controllo trattati con acqua deionizzata. L'attività protettiva del collutorio è stata confermata dall'analisi micro-morfologica al SEM (*figg. 1-4*). I frammenti usati come gruppo controllo mostravano infatti una superficie demineralizzata caratterizzata dalla presenza di prismi esposti in seguito al trattamento acido (sia acido lattico sia acido citrico), mentre le superfici dello smalto trattate con il collutorio sperimentale risultavano prive di prismi dello smalto esposti.

Tabella III**Test dissolutivo in soluzione cariogena (acido lattico). Ciclo A, durata 3,5 ore ($p < 0,05$).**

Ciclo A	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	5,34 ± 0,18	2,25 ± 0,05
Controllo	6,47 ± 0,36	2,78 ± 0,1
Test <i>t</i> di Student	0,0089	0,0026
Δ di rilascio (%)	-17,47	-19,06

Tabella IV**Test dissolutivo in soluzione cariogena (acido lattico). Ciclo B, durata 3,5 ore ($p < 0,05$).**

Ciclo B	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	5,63 ± 0,95	2,42 ± 0,34
Controllo	7,01 ± 1,07	2,99 ± 0,38
Test <i>t</i> di Student	0,0104	0,0115
Δ di rilascio (%)	-19,69	-19,06

Tabella V

Test dissolutivo in soluzione cariogena (acido lattico). Ciclo C, durata 17 ore ($p < 0,05$).

Ciclo C	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	14,50 ± 1,51	5,64 ± 0,51
Controllo	18,34 ± 2,38	7,31 ± 1,09
Test <i>t</i> di Student	0,0187	0,0397
Δ di rilascio (%)	-20,94	-22,85

Tabella VI

Test dissolutivo in soluzione erosiva (acido citrico). Ciclo 1, durata 5 minuti ($p < 0,05$).

1° ciclo	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	0,60 ± 0,22	0,33 ± 0,12
Controllo	0,68 ± 0,34	0,38 ± 0,21
Test <i>t</i> di Student	0,21429	0,48332
Δ di rilascio (%)	-11,76	-12,94

Tabella VII

Test dissolutivo in soluzione erosiva (acido citrico). Ciclo 2, durata 5 minuti ($p < 0,05$).

2° ciclo	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	0,47 ± 0,12	0,31 ± 0,13
Controllo	0,65 ± 0,3	0,46 ± 0,3
Test <i>t</i> di Student	0,08563	0,06551
Δ di rilascio (%)	-27,69	-32,61

Tabella VIII

Test dissolutivo in soluzione erosiva (acido citrico). Ciclo 3, durata 5 minuti ($p < 0,05$).

3° ciclo	Calcio (mg/dl)	Fosfato (mg/dl)
Collutorio	0,69 ± 0,26	0,33 ± 0,09
Controllo	0,79 ± 0,31	0,38 ± 0,2
Test <i>t</i> di Student	0,48804	0,48161
Δ di rilascio (%)	-12,66	-13,16

Discussione

Il rischio di erosione dentale aumenta esponenzialmente con la riduzione del pH delle bevande e dei cibi acidi assunti giornalmente. Sebbene la saliva possa tamponare il potenziale erosivo di questi alimenti, il rischio di erosioni dentali permane [20]. Uno dei principali acidi contenuto in molti succhi di frutta e bevande acide gassate è l'acido citrico, con una tipica concentrazione di 0,2-0,004 M per molti succhi di frutta e 0,015-0,05 M per le bevande analcoliche gassate [21]. La cavità orale e i denti sono inoltre continuamente colonizzati da un biofilm ricco di diverse specie batteriche che producono acidi organici, come gli acidi lattico e acetico, che penetrano nei pori dello smalto e causano la

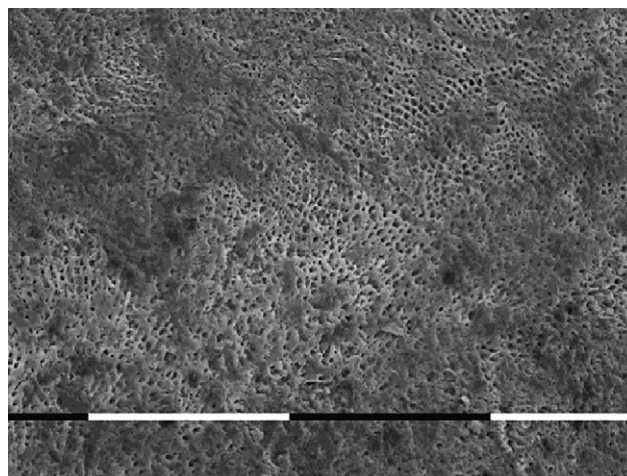


Figura 1. Immagine al SEM dello smalto di un campione di controllo dopo trattamento acido. La superficie presenta isole di mordenzatura in cui è evidente l'effetto erosivo sulla struttura dello smalto (42x, Barra 100 micron).

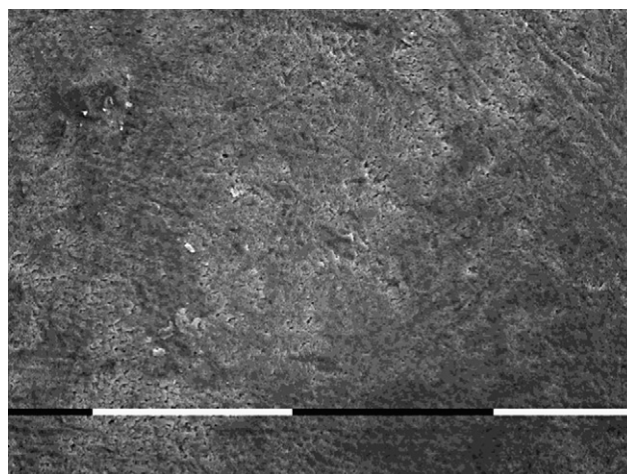


Figura 2. Immagine al SEM dello smalto dopo trattamento acido (campione trattato, omologo del campione della fig. 1), precedentemente protetto con il collutorio. La microstruttura dello smalto risulta amorfa, priva di esposizione prismatica (420x, Barra 100 micron).

demineralizzazione della struttura interna con conseguente formazione della lesione cariosa [2]. Il processo carioso è infatti causato dal naturale metabolismo del biofilm batterico che provoca numerose fluttuazioni del pH a livello dei tessuti duri dentali. Tuttavia, la formazione e la progressione delle lesioni possono essere controllate intervenendo direttamente (tramite rimozione meccanica) o indirettamente sulla placca batterica tramite specifiche sostanze come collutori o gel anticarie [1,2].

In questo studio si è valutata in vitro la capacità protettiva di un collutorio sperimentale a base di fitocomplessi, estratti alcolici di Lapacho e Mastice di Chios contro la demineralizzazione dello smalto in seguito a distinti attacchi acidi.

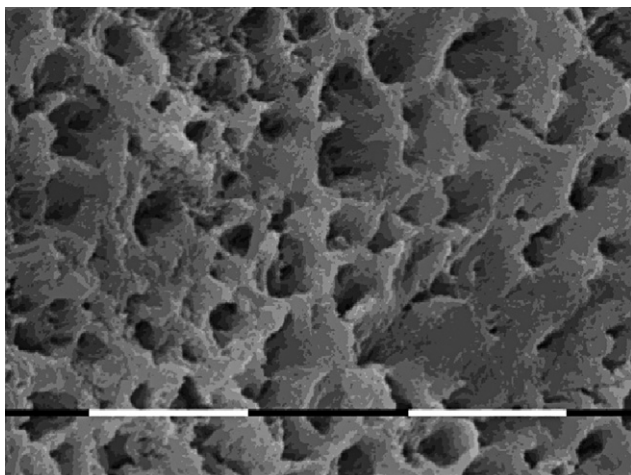


Figura 3. Immagine al SEM dello smalto di un campione di controllo dopo trattamento acido. A maggiore ingrandimento si può notare una struttura prismatica notevolmente alterata (3400x, Barra 10 micron).

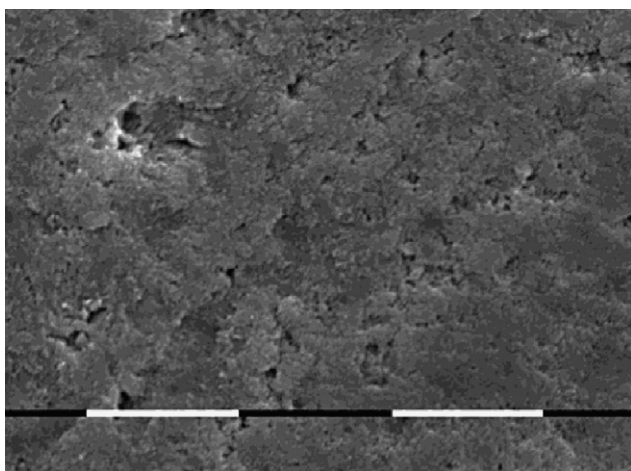


Figura 4. Immagine al SEM dello smalto dopo trattamento acido (campione trattato, omologo del campione della *fig. 3*), precedentemente protetto con il collutorio, in cui è possibile osservare una superficie priva di esposizione prismatica (3400x, Barra 10 micron).

I risultati di questo studio hanno dimostrato le proprietà protettive dei principi attivi contenuti in questo nuovo collutorio dopo trattamento sia con acido lattico sia con acido citrico. I test di dissoluzione hanno infatti mostrato che il trattamento in acido lattico non era in grado di indurre differenze significative sul rilascio di ioni calcio e fosfati in seguito ai trattamenti dei frammenti omologhi di smalto con il collutorio (*tabelle III-V*). Allo stesso modo, anche i test di dissoluzione in acido citrico hanno mostrato come vi sia una differenza statisticamente significativa tra i campioni trattati con il collutorio e quelli trattati acqua deionizzata (*tabelle VI-VIII*). La microscopia elettronica ha confermato tale efficacia mostrando che le superfici dei frammenti omologhi di smalto

trattato per 30 secondi con il collutorio e sottoposti in seguito ai test dissolutivi in acido lattico e ai test dissolutivi in acido citrico non presentavano un'evidente erosione dei prismi dello smalto (*figg. 2 e 4*). Contrariamente a quanto osservato nei campioni sperimentali, i campioni di controllo hanno mostrato una superficie erosa sia quando sottoposti ai test dissolutivi in acido citrico sia ai test dissolutivi in acido lattico (*figg. 1 e 3*). I dati ottenuti da questo studio dimostrano che la presenza di specifici fitocomplessi come principi attivi di un collutorio potrebbe offrire un'importante protezione contro la demineralizzazione dello smalto dentale indotta da acido lattico e acido citrico. Tale riscontro assume un valore molto importante in quanto dimostra l'efficacia del collutorio sia come agente anticarie sia come agente antiersivo. Quest'ultimo parametro risulta molto importante considerando l'aumento che c'è stato negli ultimi anni nel consumo di bevande acide gassate e zuccherate. L'azione protettiva è probabilmente dovuta alla capacità dei fitocomplessi contenuti in questo collutorio di creare una pellicola polimerica naturale che protegge lo smalto dentale dagli attacchi acidi [9,10,20]. Questi fitocomplessi, in particolar modo i naftochinoni e gli idrossinaftochinoni contenuti nel Lapacholo e nel Mastice di Chios, hanno inoltre una spiccata azione antibatterica la quale potrebbe conferire a questo collutorio a base di estratti naturali un valore aggiunto per la prevenzione della patologia cariosa [12–17]. Ulteriori studi in vivo sono comunque necessari per confermare l'attività antibatterica e protettiva a lungo termine del prodotto.

Conclusioni

In conclusione, è possibile affermare che l'uso quotidiano di questo collutorio innovativo a base di fitocomplessi di Lapacholo e Mastice di Chios, associato a una corretta igiene orale, potrebbe contribuire alla protezione dello smalto contro demineralizzazioni di origine batterica e alimentare.

Conflitto di interessi

Gli autori dichiarano di non aver nessun conflitto di interessi.

Finanziamento allo studio

Gli autori dichiarano di non aver ricevuto finanziamenti istituzionali per il presente studio.

Bibliografia

1. Sauro S, Mannocci F, Piemontese M, Mongiorgi R. In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste. *Int J Dent Hyg* 2008;6:188–92.

2. LeGeros RZ. Chemical and crystallographic events in the caries process. *J Dent Res* 1990;69:567-74.
3. Cagetti MG, Strohmenger L, Campus G, Longhi R. Caries and gingivitis prevention. National Guidelines [Prevenzione della carie e delle gengiviti. Linee Guida Nazionali]. *Prevenzione e Assistenza Dentale* 2009;35:48-66.
4. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res* 2011;45:69-86.
5. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011;45:2-12.
6. Gandolfi MG, Nucci C, Prati C, Mongiorgi R. Dental enamel dissolution after alendronate treatment. *Am J Dent* 2007;20:235-40.
7. Marone P, Bono L, Leone E, Bona S, Carretto E, Perversi L. Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *J Chemother* 200;13:611-4.
8. Huwez FU. Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med* 1998;339:1946.
9. Aksoy A, Duran N, Koksall F. In vitro and in vivo antimicrobial effects of mastic chewing gum against *Streptococcus mutans* and mutans streptococci. *Arch Oral Biol* 2006;51:476-81.
10. Koutsoudaki C, Krsek M, Rodger A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. *chia*. *J Agric Food Chem* 2005;53:7681-5.
11. Burnett AR, Thomson RH. Naturally occurring quinones. Part X. The quinonoid constituents of *Tabebuia avellaneda* (Bignoniaceae). *J Chem Soc C* 1967;13:2100-4.
12. Ball EG. Studies on oxidation-reduction. XXII. Lapachol, lomatol and related compounds. *J Biol Chem* 1936;114:649-55.
13. Crawford DR, Schneider DL. Identification of ubiquinone-50 in human neutrophils and its role in microbicidal events. *J Biol Chem* 1982;257:6662-8.
14. Gosálvez M, Garcia-Canero R, Blanco M, Gurucharri-Lloyd C. Effects and specificity of anticancer agents on the respiration and energy metabolism of tumor cells. *Canc Treat Rep* 1976;60:1-8.
15. do Carmo Lagrota MH, Wigg MD, Aguiar AN, Pinto AV, Pinto Mdo C. Antiviral activity of naphthoquinones. I. Lapachol derivatives against enteroviruses. *Rev Latinoam Microbiol* 1986;28:221-5.
16. Schaffner-Sabba K, Schmidt-Ruppin KH, Wehrli W, Schuerch AR, Wasley JW. beta-Lapachone: synthesis of derivatives and activities in tumor models. *J Med Chem* 1984;27:990-4.
17. Selway JW, Liss AR. Antiviral activity of flavones. *Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationship*. New York: Alan R Liss, Inc; 1986. 521-36.
18. Gershon H, Shanks L. Fungitoxicity of 1-4-naphthoquinones to *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes*. *Can J Microbiol* 1975;21:1317-21.
19. Kottakis F, Lamari F, Matragkou Ch, Zachariadis G, Karamanos N, Choli-Papadopoulou T. Arabino-galactan proteins from *Pistacia lentiscus* Var. *chia*: isolation, characterization and biological function. *Amino Acids* 2008;34:413-20.
20. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 2004;38:34-44.
21. Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Human enamel dissolution in citric acid as a function of pH in the range 2.30 ≤ pH ≤ 6.30. A nanoindentation study. *Eur J Oral Sci* 2003;111:258-62.