

ANÁLISE DA CITOGENOTOXICIDADE *IN VIVO* DO ÓLEO ESSENCIAL DE *THYMUS VULGARIS* L

Ricardo Luigi Monteiro Machado¹, Nicolas Gibran Marques Brasil¹, Carmine Aparecida Lenz Hister², Solange Bosio Tedesco³

¹ Acadêmicos do curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS (machadolugi32@gmail.com)

² Bióloga, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

³ Professora Titular, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Recebido em: 15/08/2023 – Aprovado em: 15/09/2023 – Publicado em: 30/09/2023

DOI: 10.18677/EnciBio_2023C4

RESUMO

Os óleos essenciais, produtos do metabolismo secundário de plantas, são amplamente requisitados pela sociedade devido a sua aromaticidade e propriedades medicinais. Para produtos tão difundidos culturalmente são necessários estudos que reforcem sua segurança para o uso da população. O presente trabalho objetivou avaliar os potenciais antiproliferativo e genotóxico do óleo essencial de *Thymus vulgaris* (tomilho) nas concentrações de 0,2% e 0,4% pelo teste de *Allium cepa*. Após os dados serem analisados estatisticamente, pelo teste *Skott-Knott*, foi constatado que a concentração de 0,2% do óleo essencial de *T. vulgaris* apresentou efeito antiproliferativo, a concentração de 0,4% apresentou efeito estimulante da divisão celular e nenhuma das duas concentrações testadas apresentou efeito genotóxico.

PALAVRAS-CHAVE: *Allium cepa*; potencial antiproliferativo; tomilho.

IN VIVO ANALYSIS OF CYTOGENOTOXICITY OF *THYMUS VULGARIS* L. ESSENTIAL OIL

ABSTRACT

Essential oils, secondary metabolism products of plants, are widely required in the society due it aromaticity and medicinal properties. To so widespread, culturally products are needed studies that reforce their security to the populations' use. The present work aimed to assess the antiproliferative and genotoxic potentials of essential oil of *Thymus vulgaris* in the concentrations 0,2% and 0,4% for the *Allium cepa* test. After data is analyzed statistically it was verified that the 0,2% concentration of the essential oil of *Thymus vulgaris* showed antiproliferative effect, the 0,4% concentration showed stimulant properties of the celular's proliferation and neither of the two concentrations exhibited a genotoxic effect.

KEYWORDS: *Allium cepa*; antiproliferative potential; thyme.

INTRODUÇÃO

As plantas são "parceiras" dos seres humanos há milênios, sendo que sua utilização pelas populações em tempos remotos tinha várias finalidades, entre elas pode-se destacar a alimentação e o tratamento de enfermidades (GALOVIČOVÁ *et al.*, 2021). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) revelam que aproximadamente 80% da população consome produtos obtidos de plantas medicinais ou de seus derivados, basicamente devido à dificuldade de acesso à medicina moderna e falta de recursos financeiros (MELRO *et al.*, 2020; CARMO *et al.*, 2020).

As plantas ditas aromáticas são ricas em óleos essenciais, os quais são misturas complexas de diversos compostos químicos voláteis bastante odoríferos (WIŃSKA *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2021). Os óleos essenciais são bastante notados devido a sua aromaticidade, característica que desperta o interesse do mercado na extração desses compostos para o emprego em medicamentos, fragrâncias, cosméticos ou alimentos (BIZZO *et al.*, 2009). Os óleos essenciais são oriundos do metabolismo secundários de plantas, constituídos em sua grande maioria por compostos fenilpropanoides e terpenoides (HEINZMANN *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais de diferentes órgãos podem apresentar peculiaridades em sua composição dentro de uma mesma planta e podem ser considerados substâncias sinalizadoras entre diferentes órgãos (HEINZMANN *et al.*, 2017). Os mesmos autores destacam que entre as funções dos óleos essenciais está a defesa do vegetal, seja contra possíveis herbívoros ou patógenos, mas também a atração de polinizadores, prevenção contra a perda de água, estresse oxidativo e frente ao aumento de temperatura.

Thymus vulgaris L., uma planta aromática, condimentar e medicinal, popularmente conhecido como tomilho, é uma erva da família *Lamiaceae*, família esta que tem destaque na produção de óleos essenciais, nativa da região do Mediterrâneo, norte da África e parte da Ásia (ESCOBAR *et al.*, 2020; CORREIA *et al.*, 2022). Já era utilizado na antiguidade pelos egípcios, gregos e romanos para o embalsamento de cadáveres, banhos e como purificador (atribuíam-lhe propriedades místicas), respectivamente (AKBAR, 2019). Atualmente é amplamente empregado na culinária, bem como na medicina tradicional devido as suas propriedades medicinais (LI *et al.*, 2019). Suas propriedades curativas provêm de compostos presentes no vegetal, que são encontrados em abundância em infusões e também no óleo essencial. Dentre as substâncias bioativas presentes no óleo essencial de tomilho, se destacam os compostos fenólicos timol e o isômero carvacrol. A concentração de cada composto presente na erva dependerá da variabilidade genética e também de diversos fatores externos que determinarão o quimiotipo (ZU *et al.*, 2010; KUBATKA *et al.*, 2019; ESCOBAR *et al.*, 2020;). Faz-se presente também um potencial anticancerígeno de produtos à base de *T. vulgaris* que inibem a proliferação de diversas linhagens de células cancerígenas (KUBATKA *et al.*, 2019; NIKSIC *et al.*, 2021).

Apesar da ampla gama de usos das plantas, os estudos sobre potenciais efeitos tóxicos ainda são limitados. A utilização de testes preliminares *in vivo* como bioindicadores são efetivos para uma avaliação inicial de efeitos citogenotóxicos, através da análise da proliferação celular e alterações cromossômicas em organismos-alvo. O teste utilizando *Allium cepa* L. (cebola) é grandemente empregado para a análise preliminar sobre possíveis efeitos danosos de substâncias

sobre células meristemáticas de pontas de raízes de cebola. Além disso, a fácil visualização de cromossomos das células de cebola no microscópio ótico (VIEIRA; SILVEIRA, 2018), bem como a grande sensibilidade que as mesmas tem às toxinas (EREN; OZATA, 2014), e a notável correlação com as células humanas (BAGATINI *et al.*, 2007) tornam o teste de *A. cepa* rápido e eficaz para a avaliação preliminar da citogenotoxicidade.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial genotóxico e antiproliferativo do óleo essencial extraído de plantas secas de tomilho, utilizando o sistema-teste de *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares da planta de tomilho utilizados no experimento foram adquiridos da floricultura do Colégio Politécnico pertencente à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e cultivados em vasos dentro de estufa com irrigação, no período de verão. As ervas foram colhidas em fevereiro de 2020 e as plantas foram secas em temperatura ambiente.

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, em aparelho Clevenger, por duas horas, de plantas secas de tomilho, e armazenados em frascos âmbar em temperatura de 4°C. Para o teste de *A. cepa* o óleo essencial de tomilho foi diluído em etanol absoluto em duas concentrações: 0,2% e 0,4%.

O experimento foi realizado com 16 bulbos de cebolas, postos para enraizar em água destilada. Para parâmetros de comparação foram usados água destilada como controle negativo e glifosato, substância sabidamente causadora de mutações cromossômicas (SILVA *et al.*, 2023; ALVES *et al.*, 2024), como controle positivo. Quando as raízes de cebola se encontravam com tamanho apropriado (aproximadamente 1 centímetro) os bulbos foram transferidos para os tratamentos, com quatro repetições cada: água destilada (T1); glifosato na concentração de 0,75% (T2), diluído em água destilada; óleo essencial de tomilho, concentração 0,2% (T3); e óleo essencial de tomilho, concentração 0,4% (T4). Após 24 horas sob os tratamentos, em temperatura ambiente, as raízes foram coletadas e acondicionadas em fixador (etanol:ácido acético, numa proporção de 3:1) por 72 horas. Em seguida, foram postas no etanol 70% sob refrigeração, para conservação até a análise.

Para a observação de células ao microscópio ótico, as raízes de cebola foram lavadas com água destilada e hidrolisadas em ácido clorídrico 1N por cinco minutos, posteriormente foram isoladas as regiões meristemáticas das raízes de cebola e removidas as coifas dos meristemas. Já sem a coifa, as regiões meristemáticas das raízes de cebola foram transferidas para as lâminas, a cada uma das regiões meristemáticas foi adicionada uma gota de orceína acética 2%, a seguir foi realizado o esmagamento dos meristemas com bastões de vidro e adicionada uma lamínula sobre o conteúdo esmagado, deixando assim as lâminas prontas para serem analisadas ao microscópio.

Foram examinadas 1000 células por bulbo de cebola, totalizando 4000 células analisadas por tratamento. Os índices mitótico (IM) e genotóxico (IG) foram calculados pela razão do número de células em divisão e pela razão do número de células com alterações, respectivamente, pelo número total de células analisadas e multiplicado por 100. Os IM e IG foram comparados através do teste estatístico *Skott-Knott* ($p < 0,05$), utilizando o programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS OBTIDOS

Na tabela 1 observam-se os resultados obtidos nos diferentes tratamentos através da análise das células de pontas de raízes de cebola.

TABELA 1 - Números de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* (cebola) analisadas durante o ciclo celular sob diferentes tratamentos com óleo essencial de *Thymus vulgaris*.

Tratamentos	Interfases	Divisões	Alterações cromossômicas	IM (%)	IG (%)
T1	3790	210	2	5,25 ^c	0,05 ^a
T2	3958	42	12	1,05 ^a	0,3 ^b
T3	3867	133	0	3,32 ^b	0 ^a
T4	3702	298	0	7,45 ^d	0 ^a

T1 = controle negativo (água destilada); T2 = controle positivo (glifosato 0,75%); T3 = óleo essencial de tomilho (0,2%); T4 = óleo essencial de tomilho (0,4%); IM = índice mitótico; IG = índice genotóxico. *Valores seguidos por letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Em relação à divisão celular todos os tratamentos foram diferentes estatisticamente, sendo o tratamento com o glifosato que apresentou o menor índice mitótico (IM). Os valores dos IM variaram de 1,05% (T2 = glifosato) até 7,45% (T4 = óleo essencial de tomilho 0,4%). Comparando-se o valor do IM de 5,25% na água destilada (T1) observou-se que houve decréscimo desse valor em T2 e T3 e acréscimo com a concentração mais elevada do óleo essencial (T4).

É fato que no teste de *A. cepa*, quando empregadas as substâncias com potencial antiproliferativo, o decréscimo do índice mitótico não acompanha com precisão o aumento da concentração da substância. Trapp *et al.* (2015) encontraram essa divergência em um experimento que avaliou o potencial antiproliferativo de extratos aquosos de folhas secas de *Prunus myrtifolia*. Na menor concentração (2,5 g.L⁻¹) o IM foi de 1,6%, em uma concentração maior (5 g.L⁻¹) o índice decresceu um pouco apresentando o valor de 1,18%. Todavia na concentração de 7,5 g.L⁻¹ o IM deu um salto para 3,28%, decrescendo um pouco na concentração de 10 g.L⁻¹ (IM = 2,95%), outra descontinuidade foi observada na concentração de 12,5 g.L⁻¹ na qual o IM foi de 0,6% (TRAPP *et al.*, 2015).

Em outra ocasião quando avaliado o potencial antiproliferativo de extratos aquosos de folhas secas de *Mentha pulegium*, Tedesco *et al.* (2012) encontraram sob a menor concentração (5 g.L⁻¹) um IM igual a 0,25%, seguido de um índice de 1,8% para a concentração de 10 g.L⁻¹, e por fim na concentração de 30 g.L⁻¹ que levou o IM a 0%. Porém em ambos os casos quando todos os índices mitóticos foram comparados ao do controle negativo de seus respectivos experimentos (água destilada), onde todos apresentaram um valor do IM inferior a este último, de 6,6% para o experimento com *M. pulegium* e 4,83% para o teste com *P. myrtifolia*, ou seja, todos os tratamentos testados mostraram propriedade antiproliferativa. Diferenciando-se do presente trabalho o qual mostrou uma mudança de efeito de acordo com a concentração. Na concentração mais baixa do óleo essencial (0,2%) inibiu a proliferação celular e a mais alta (0,4%) a estimulou.

Pode-se pensar que o esperado para uma mistura ou substância com ação citotóxica de inibição da divisão celular é que à medida que a concentração aumenta, a inibição da divisão celular também aumentaria, reduzindo o IM, mas não foi o observado neste experimento. Ações sinérgicas entre componentes do óleo essencial por exemplo, podem se modificar de acordo com a concentração, ocasionando em uma baixa redução da divisão celular e opostamente, em uma concentração mais alta, a multiplicação celular.

As ações sinérgicas tem grande influência no efeito dos óleos essenciais sobre os organismos vivos. Gavaric *et al.* (2015), por exemplo, avaliaram o potencial antibacteriano dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Origanum vulgare* L., e de seus componentes de destaque isolados: timol e carvacrol, bem como os potenciais antibacterianos das associações entre esses dois óleos essenciais e entre os dois monoterpenos, utilizando-se do teste de microdiluição em caldo sob quatro tipos diferentes de bactérias. Estes autores constataram que os valores da mínima concentração inibitória (MIC) para o timol e o carvacrol isolados eram todos maiores do que aqueles encontrados para a associação entre essas duas substâncias, que por sua vez ainda eram muitas vezes maiores do que os valores encontrados para os óleos essenciais de *T. vulgaris* e *O. vulgare* em sua integridade. Vale mencionar que os valores do MIC para as misturas do óleo essencial de *T. vulgaris* e *O. vulgare* ainda foram menores do que para os óleos essenciais isolados (GAVARIC *et al.*, 2015).

Ações sinérgicas também podem ser antagonistas, ou seja, a presença de uma substância inibe a toxicidade de outra. Ao avaliarem interações sinérgicas entre componentes de óleos essenciais da família Lauraceae, bem como seu potencial antiproliferativo contra células MCF-07, Wright *et al.* (2007) constataram que a citotoxicidade de α -humuleno diminuía em misturas com hidrocarbonetos monoterpenoides como pineno, tujeno e canfeno, assim como a citotoxicidade de β -cariofileno caía na presença de canfeno e terpinen-4-ol. Os autores ainda afirmam que pineno e β -cariofileno não poderiam ser responsáveis pela citotoxicidade de *Beilschmieda* por serem substâncias "antagonistas" (WRIGHT *et al.*, 2007). Em relação a genotoxicidade do óleo essencial de tomilho, em nenhuma das duas concentrações testadas (0,2 e 0,4%) foram encontrados valores significantes de irregularidades cromossômicas.

Outros membros da família Lamiaceae também já tiveram suas genotoxicidades avaliadas. Por exemplo, Cosme *et al.* (2022) avaliaram o potencial citotóxico e mutagênico do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (conhecido popularmente como alecrim), também pelo teste de *Allium cepa* nas concentrações de $750 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $243 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $81 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $27 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A nível de comparação, o IM mais alto de todas as concentrações testadas ($27 \mu\text{g.mL}^{-1}$) correspondeu apenas quase 15% do IM do grupo controle, grupo esse que apresentou apenas uma aberração cromossômica, enquanto para os tratamentos com óleo essencial de *R. officinalis* os números de irregularidades cromossômicas foram de 136 ($750 \mu\text{g.mL}^{-1}$) a 233 ($243 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Essas comparações permitem observar o forte potencial citogenotóxico que o óleo essencial de *R. officinalis* apresentou, diferenciando-se bastante dos resultados apresentado no presente trabalho.

Um efeito diferente foi observado por Kelidari *et al.* (2021), ao avaliarem a citotoxicidade do óleo essencial de *Zataria multiflora* em concentração de 1%, tanto em diluições padrão quanto dentro de nanoemulsões, o estudo foi conduzido sobre

uma linhagem de células normais de pele humana chamadas de HFFF2 sob o teste-modelo de *Klun Debboun*. Em nenhuma ocasião foi observado qualquer valor significativo de citotoxicidade para o óleo de *Z. multiflora*. Vale mencionar que neste mesmo estudo foram identificados os compostos presentes no óleo essencial de *Z. multiflora* através de GC-MS, os dois compostos mais abundantes no óleo são o timol e o carvacrol que, como já mencionado, estão entre os principais componentes do óleo essencial de *Thymus vulgaris*, além do α -pineno, outro composto muito abundante nos óleos essenciais de ambas as plantas (KUBATKA *et al.*, 2019).

CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Thymus vulgaris* apresentou efeito antiproliferativo para a concentração de 0,2% e efeito proliferativo para a concentração 0,4%. Não foram encontrados valores genotóxicos significantes para nenhuma dessas concentrações.

REFERÊNCIAS

AKBAR, S. *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae). **Handbook of 200 Medicinal Plants**, v. 11; p. 1795-1810, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16807-0_185>. doi: 10.1007/978-3-030-16807-0_185.

ALVES, T. A.; SPADETO, M. S.; VASCONCELOS, L. C. Phytotoxicity and cytogenetic action mechanism of leaf extracts of *Psidium cattleianum* Sabine in plant bioassays. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e260985, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.260985>>. doi: 10.1590/1519-6984.260985.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema de teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17; n. 3; p. 444-447, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2HYPERLINK> "<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300019>">. doi: 10.1590/S0102-695X2007000300019.

BIZZO, H. R., HOVELLAND, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32; n. 3; p. 588-594, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>. doi: 10.1590/S0100-40422009000300005.

CORREIA, D. B.; CORREIA, D. B.; VERÇOSA, C. J.; FIGUEROA, M. E. V.; OLIVEIRA, J. P. C. et al. Essential Oils from Lamiaceae Species with potential Antifungal activity: a review. **Research, Society and Development**, v. 11; n. 2; p. e15111225392, 2022. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/25392>>. doi: 10.33448/rsd-v11i2.25392.

COSME, M. V.; NUNES, N. M. F.; OLIVEIRA, A. P. de; OLIVEIRA, E. C. A. de. Evaluation of the cytotoxic and mutagenic potential of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil through the *Allium cepa* Leach bioassay. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 44; n. 1; p. e62665, 2022. Disponível em: <<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/62665/751375154969>>. doi: 10.4025/actascibiols.v44i1.62665.

DO CARMO, L. R.; LEAL, L. S.; RIBEIRO, L. R. *Allium cepa* and Micronucleus test as bioindicators of cytogenotoxicity in aqueous extracts of medicinal plants. **Brazilian Journal of Development**, v. 6; n. 10; p. 82419–82430, 2020. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/18940>>. doi: 10.34117/bjdv6n10-610.

EREN, Y.; OZATA, A. Determination of mutagenic and cytotoxic effects of *Limonium globuliferum* aqueous extracts by *Allium*, Ames and MTT tests. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24; n. 1; p. 51-59, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0102-695X20142413322>>. doi: 10.1590/0102-695X20142413322.

ESCOBAR, A., PÉREZ, M., ROMANELLI, G., BLUSTEIN G. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13; n. 12; p. 9243-9269, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009>>. doi: 10.1016/j.arabjc.2020.11.009.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37; n. 4; p. 529–535, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>>. doi: 10.28951/rbb.v37i4.450.

GALOVIČOVÁ, L.; BOROTOVÁ, P.; VALKOVÁ, V.; VUKOVIC, N.L.; VUKIC, M. et al. *Thymus vulgaris* essential oil and its biological activity. **Plants**, v. 10; n. 9; p. 1959, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/plants10091959>>. doi: 10.3390/plants10091959.

GAVARIC, N., MOZINA, S. S., KLADAR, N., BOZIN, B. Chemical profile, antioxidant and antibacterial activity of thyme and oregano essential oils, thymol and carvacrol and their possible synergism. **Journal of essential Oil Bearing plants**, v. 18; n. 4; p. 1013-1021, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.971069>>. doi: 10.1080/0972060X.2014.971069.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O., et al. (Org.). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 167-184.

KELIDARI, H. R.; MOEMENBELLAH-FARD, M. D.; MORTEZA-SEMNANI, K.; AMOOZEGAR, F.; SHAHRIARI-NAMADI, M. et al. Solid-lipid nanoparticles (SLN)s containing *Zataria multiflora* essential oil with no-cytotoxicity and potent repellent activity against *Anopheles stephensi*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 45; n. 1; p. 101–108, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12639-020-01281-x>>. doi: 10.1007/s12639-020-01281-x.

KUBATKA, P.; URAMOVA S.; KELLO, M.; KAJO, K.; SAMEC, M. et al. Anticancer Activities of *Thymus vulgaris* L. in Experimental Breast Carcinoma In Vivo and In

Vitro. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20; n. 7; p. 1749, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms20071749>>. doi: 10.3390/ijms20071749.

LI, X.; HE, T.; WANG, X.; SHEN, M.; YAN, X. et al. Traditional Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Thymus*. **Chemistry and Biodiversity**, v. 16; n. 9; p. e1900254, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/cbdv.201900254>>. doi: 10.1002/cbdv.201900254.

MELRO, J. C. L.; FONSECA, S. A.; SILVA JUNIOR, J. M.; FRANCO, S. P. B.; SOUZA, M. A. et al. Ethnobotanical study of Medicinal plants used by the population assisted by the “Programa de Saúde da Família” (Family Health Program) in Marechal Deodoro - AL, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80; n. 2; p. 410–423, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1519-6984.214039>>. doi: 10.1590/1519-6984.214039.

NIKSIC, H.; BECIC, F.; KORIC, E.; GUSIC, I.; OMERAGIC, E. et al. Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. **Scientific Reports**, v. 11; p. 13178, 2021. Disponível em: <<https://rdcu.be/da1Fp>>. doi: 10.1038/s41598-021-92679-x.

SHARMA, S.; BARKAUSKAITE, S.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. Essential oils as additives in active food packaging. **Food Chemistry**, v. 343; p. 128403. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128403.

SILVA, L. M. da; CIMINO, F. F.; BORGIO, A. L.; DUTRA, V. de S. V.; OLIVEIRA, J. E. Z. de. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso dos rizomas de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). **Revista Fitos**, v. 17, n. 1, p. 9–17, 2023. Disponível em: <<http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1447>>. doi: 10.32712/2446-4775.2022.1447.

TEDESCO, M.; KUHN, A.; AGUIAR, A.; SILVA, A. C.; TEDESCO, S. B. Potencial antiproliferativo de extratos aquosos de *Mentha pulegium* L. pelo teste de *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8; n. 15; p. 1913-1919, 2012. Disponível em: <<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3757>>.

TRAPP, K. C.; FRESCURA, V.; FREITAS, J.; CANTO-DOROW, T.; TEDESCO, S. B. Efeitos genotóxicos e antiproliferativos de *Prunus myrtifolia* (pessegueiro-do-mato) pelo teste de *Allium cepa*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11; n. 21; p. 2222-2230, 2015. Disponível em: <<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1947>>.

VIEIRA, L. F. A.; SILVEIRA, G. L. **Cyto(genotoxic) endpoints assessed via cell cycle bioassays in plant models**. In: Çelik, T. A. (Org.). Cytotoxicity. London: IntechOpen, 2018; p. 117-129. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/58914>>. doi: 10.5772/intechopen.72997.

WIŃSKA, K.; MACZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; et al. Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative? **Molecules**, v. 24; n.

11; p. 2130, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules24112130>>. doi: 10.3390/molecules24112130.

WRIGHT, B. S.; BANSAL, A.; MORIARITY, D. M.; TAKAKU, S.; SETZER, W. N. Cytotoxic leaf essential oils from Neotropical Lauraceae: Synergistic effects of essential oil components. **Natural Product Communications**, v. 2; n. 12; p. 1934578X0700201210, 2007. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X0700201210>> doi: 10.1177/1934578X0700201210.

ZU, Y.; YU, H.; LIANG, L.; FU, Y.; EFFERTH, T. et al. Activities of Ten Essential Oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 Cancer Cells. **Molecules**, v. 15; n. 5; p. 3200-3210, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules15053200>>. doi: 10.3390/molecules15053200.