

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TÓXICO DOS MONOTERPENOS CARVACROL, LINALOL E *p*-CIMENO: UMA ABORDAGEM *IN SILICO*

POTENTIAL EVALUATION OF TOXIC MONOTERPENES CARVACROL, LINALOOL AND *p*-CYMENE: AN APPROACH IN SILICO

Eduardo Bitu Pinto¹
Clarissa de Moraes Martins Neri²
Abrahão Alves de Oliveira Filho³
Natália Bitu Pinto⁴

RESUMO: Os monoterpenos são constituintes básicos voláteis de óleos essenciais aromáticos e pertencem a um grupo diverso de compostos químicos. Relatos na literatura mostram que diversos monoterpenos possuem atividade antimicrobiana contra uma gama de micro-organismos planctônicos e inclusive sobre biofilmes dentários. Com base nisso, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial tóxico dos monoterpenos carvacrol, linalol e *p*-cymeno, utilizando modelos *in silico*. Para a realização dos estudos *in silico*, todas as informações químicas dos monoterpenos selecionados foram obtidas no site <http://www.chemspider.com/>, já para a análise da toxicidade teórica, a estrutura dos monoterpenos foi submetida ao estudo *in silico* dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) usando o programa Osiris Property Explorer, onde foram determinados os potenciais mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução. Os resultados do presente estudo mostraram que os monoterpenos carvacrol e *p*-cimeno, assim como a clorexidina não apresentaram nenhum efeito mutagênico, porém o linalol apresentou um efeito severo. Com relação ao potencial tumorigênico, pôde-se perceber que o carvacrol, o linalol e a clorexidina não possuem nenhum efeito tumorigênico, porém o *p*-cimeno possui um potencial moderado. Para o potencial irritante, verificou-se que os 3 monoterpenos estudados apresentam potencial irritante severo, porém a clorexidina não se mostrou tóxica. O presente estudo revelou também que em relação ao sistema reprodutor, nenhum dos monoterpenos estudados, nem a clorexidina possuem potencial tóxico. Apesar dos

¹ Acadêmico em Odontologia- Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

² Acadêmico em Odontologia- Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

³ Doutor em Farmacologia (UFPB) / Professor do curso de Odontologia na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

⁴ Graduada em Farmácia, com Mestrado e Doutorado em Farmacologia pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia Universidade Federal do Ceará. Docente na Faculdade Santa Maria (FSM) e Faculdade Juazeiro do Norte (FJN).

monoterpenos estudados apresentarem boa ação antimicrobiana no biofilme dentário, esse estudo revelou a presença de toxicidade em várias dessas substâncias. Assim, estudos clínicos precisam ser realizados para confirmar os resultados, visto que os dados encontrados envolvem resultados *in silico* e estudos pré-clínicos.

Palavras-chave: Produtos naturais, Monoterpenos, Testes de toxicidade

ABSTRACT: *The monoterpenes are volatile basic constituents of essential aromatic oils and belong to a diverse group of chemical compounds. Reports in literature show that many monoterpenes have antimicrobial activity against a range of planktonic microorganisms and even on dental biofilms. Based on this, the aim of this study was to evaluate the toxic potential of monoterpenes carvacrol, linalool and p-cymene using in silico models. For the realization of in silico studies, all the chemical information from selected monoterpenes were obtained from the site <http://www.chemspider.com/>, as for the analysis of theoretical toxicity, the structure of monoterpenes was subjected to in silico study of the parameters ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity) using the Osiris Property Explorer program, where we determined the mutagenic, tumorigenic and irritating potentials, and about reproduction. The results of this study showed that carvacrol and p-cymene monoterpenes, as well as chlorhexidine showed no mutagenic effect, but linalool had a severe effect. Regarding the tumorigenic potential, we could see that the carvacrol, linalool and chlorhexidine have no tumorigenic effect, but the p-cymene has a moderate potential. For irritancy, it was found that the three monoterpenes in the study have severe irritation potential, but the chlorhexidine was not toxic. The present study also revealed that compared to the reproductive system, none of the studied monoterpenes, or chlorhexidine have toxic potential. Despite studied monoterpenes showed good antimicrobial action in dental plaque, this study revealed the presence of several toxicity of these substances. Thus, clinical studies are needed to confirm the results, since the data found involve in silico results and preclinical studies.*

Keywords: Natural products, Monoterpenes, Toxicity tests.

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia é a utilização de medicamentos obtidos a partir de matérias-primas de origem vegetal, plantas ou suas partes, com a finalidade curativa, profilática, paliativa ou para fins de diagnóstico (LIMA JÚNIOR *et al.*, 2005). O uso de plantas medicinais vem sendo proposto como forma de tratamento complementar, de baixo custo e eficaz, permitindo assim que a maior parte da população tenha acesso aos mesmos (PIEROZAN *et al.*, 2009).

Estima-se que cerca de 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional para os cuidados com a saúde, a partir do uso de extratos de plantas ou de seus princípios ativos (TOSCANO RICO, 2011). Os produtos naturais, do ponto de vista da diversidade molecular, são bastante diversificados, o que representa novas possibilidades de investigação e descoberta de atividades biológicas favoráveis ao tratamento e prevenção de doenças. Compostos isolados de fontes vegetais fornecem moldes estruturais para a obtenção de substâncias sintéticas e, além disso, podem ser empregados como ferramentas na identificação de mecanismos de ação (SOUSA, 2013). Dentre os compostos extraídos de plantas estão os terpenos, flavonoides, os taninos, os alcaloides e os óleos essenciais (ROMANO *et al.*, 2013).

Os terpenóides representam a maior classe química de constituintes ativos de plantas, havendo mais de 30.000 substâncias descritas. A classificação básica dos vários terpenos decorre do número de unidades isoprênicas que contêm (RAVEN, 2001). Os monoterpenos são constituintes básicos voláteis de óleos essenciais aromáticos e pertencem a um grupo diverso de compostos químicos, de modo a constituir 90 % dos óleos essenciais, com enorme variedade de estruturas e com implicações em diversas atividades biológicas, tais como: bradicardia, hipotensão, atividade antimicrobiana, ações sedativas, anticonvulsivantes, hipnóticas e hipotérmicas, efeitos antiespasmódicos, vasorrelaxantes e atividade antinociceptiva (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014).

Relatos na literatura mostram que diversos monoterpenos possuem atividade antimicrobiana contra uma gama de micro-organismos planctônicos e inclusive sobre biofilmes dentários (KALEMBA; KUNICKA, 2003; NOSTRO *et al.*, 2007; KARPANEN *et al.*, 2008).

O biofilme dental constitui-se de depósitos bacterianos e constituintes salivares, com um crescimento contínuo sendo considerado a principal causa das doenças cárie e periodontal (ROSAN; LAMONT, 2000). A formação do biofilme dental ocorre através da fixação de bactérias sobre as superfícies dentárias, dentre elas pode-se citar: *S. mitis*, *S. sagüis*, *S. sobrinus*, *S. mutans* e *L. casei* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002).

Apesar das plantas medicinais possuírem efeitos benéficos, muitas delas contêm substâncias capazes de produzir potencial toxicidade em organismos vivos (MENGUE *et al.*, 2001). Sendo assim, vários testes têm sido utilizados para avaliar a toxicidade das substâncias. Um deles é o ensaio da citotoxicidade em eritrócitos, onde é possível verificar a toxicidade *in vitro* (SCHREIER *et al.*, 1997; APARICIO *et al.*, 2005). Para avaliação de toxicidade em produtos naturais, são também utilizados outros testes com modelos *in silico* que são rápidos, reprodutíveis e normalmente baseados em biorreguladores humanos (ANGELO *et al.*, 2006; SRINIVAS *et al.*, 2014). O teste da toxicidade aguda não-clínica também é importante no estudo de um futuro produto natural com potencial farmacológico (LARINI, 1999).

Diante desse contexto, sabendo que alguns monoterpenos apresentam ação no biofilme dentário e podem causar também efeitos adversos, torna-se relevante avaliar o potencial mutagênico, tumoral, irritante e as alterações no sistema reprodutor causadas por três destas substâncias, o carvacrol, o linalol e o *p*-cimeno, utilizando modelos *in silico*, comparando os resultados com o padrão farmacológico utilizado na odontologia, o digluconato de clorexidina.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Avaliar o potencial tóxico dos monoterpenos Carvacrol, Linalol e *p*-cimeno, utilizando modelos *in silico*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Verificar o potencial mutagênico dos monoterpenos;
- ✓ Avaliar o potencial carcinogênico dos monoterpenos;
- ✓ Investigar a irritabilidade e a ação sobre o sistema reprodutor dos monoterpenos;
- ✓ Comparar os resultados obtidos com o padrão farmacológico utilizado na odontologia, o Digluconato de Clorexidina.

3 METODOLOGIA

3.1 CLASSIFICAÇÃO DA PESQUISA

Ao se realizar a classificação metodológica desta pesquisa, pode-se perceber que trata-se de um estudo aplicado, quantitativo e experimental.

No estudo aplicado o objetivo principal é investigar, comprovar ou rejeitar hipóteses sugeridas pelos modelos teóricos, com o fim de resolver problemas e de ter uma aplicação prática imediata (NAVES, 1998).

Na pesquisa quantitativa o pesquisado preocupa-se em obter uma medição objetiva e quantificação dos resultados, buscando a precisão, evitando distorções na etapa de análise e interpretação dos dados, garantindo assim, uma margem de segurança em relação às inferências obtidas (GODOY, 1995).

A pesquisa experimental vai envolver algum tipo de experimento que deve seguir um método a rigor científico para que a estrutura se faça eficiente (BOENTE; BRAGA, 2004).

3.2 OBTENÇÃO DAS INFORMAÇÕES QUÍMICAS DOS MONOTERPENOS

Para a realização dos estudos *in silico*, todas as informações químicas (estrutura química da molécula, massa molecular, polaridade, *CAS-number*) dos monoterpenos selecionados (Carvacrol, Linalol e *p*-cimeno) foram obtidas no site <http://www.chemspider.com/>.

3.3 ANÁLISE TEÓRICA DA TOXICIDADE E DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Para a análise da toxicidade teórica, a estrutura dos monoterpenos (Carvacrol, Linalol e *p*-cimeno) foi submetida ao estudo *in silico* dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) usando o programa Osiris Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>). Nesta análise foram determinados os potenciais mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução (ABREU, 2008).

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Para a análise dos dados obtidos na pesquisa e futura construção dos gráficos utilizou-se o software Microsoft Excel[®] versão 2013. Os resultados foram obtidos a partir de uma escala de 1 a 3, onde 1 significava toxicidade ausente, 2 toxicidade moderada e 3 toxicidade severa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os monoterpenos são uma importante classe de produtos naturais com odor e sabor intenso e que contém muitas moléculas que apresentam atividade biológica, incluindo antimicrobiana, e aplicações na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia (FELTRAN *et al.*, 2014).

A atividade antimicrobiana é o principal fator pela busca crescente de produtos isolados de plantas medicinais, como os monoterpenos, usadas na odontologia para fins terapêuticos, uma vez que as principais doenças da cavidade oral, doença periodontal e cárie dentária, apresentam natureza infecciosa (CASTRO *et al.*, 2010).

Sabendo que nem todos os compostos isolados são isentos de efeitos tóxicos, destaca-se a necessidade de estudos toxicológicos aliados aos estudos farmacológicos. A Toxicologia Computacional pode ser definida como a área da toxicologia, na qual são aplicados modelos computacionais e matemáticos para a predição de efeitos adversos, e, para o melhor entendimento do(s) mecanismo(s) através do(s) qual(is) uma determinada substância provoca o dano (IUPAC, 2007).

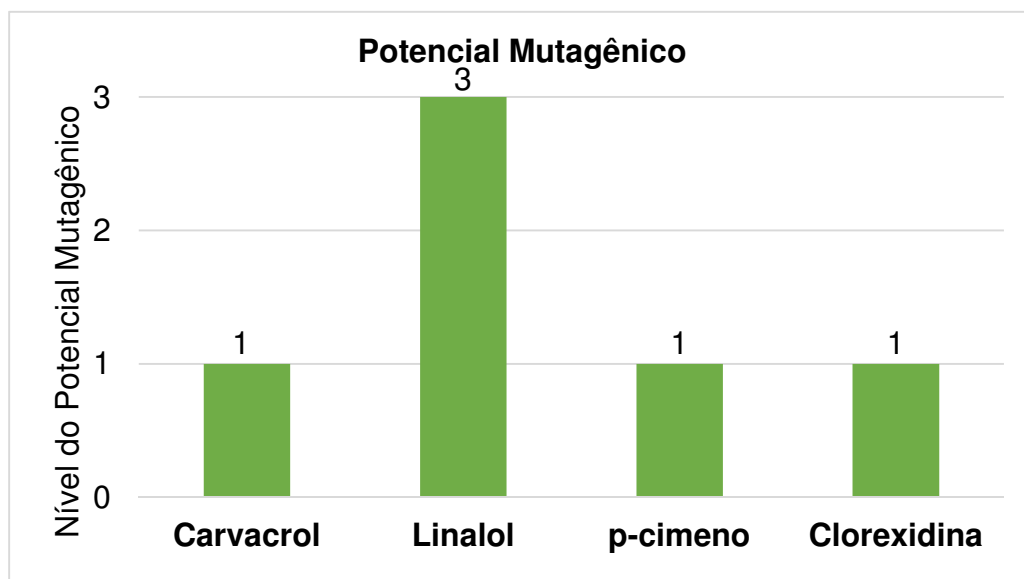
A toxicologia *in silico*, uma das fronteiras da toxicologia, traz um novo paradigma de avaliação da toxicidade de substâncias, em especial, as isoladas de plantas, no qual são feitas predições da toxicidade através de ferramentas computacionais, baseadas em modelos QSAR (Quantitative Structure-activity

Relationship), modelos REA (Relação Estrutura-atividade), modelos estatísticos, entre outros (HELMA *et al.*, 2004). A avaliação *in silico* da toxicidade de moléculas inclui a análise teórica de efeitos mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução como descrito por Abreu (2008).

Os efeitos mutagênicos podem ser observados por meio da formação de micronúcleos, que são pequenos corpos contendo ácidos desoxirribonucleicos (DNA), localizados no citoplasma, resultantes de quebras cromossômicas, formando fragmentos acêntricos, ou com sequências de cromossomos inteiros que não se prendem ao fuso mitótico e dessa forma, não chegam aos pólos das células durante a mitose ou a meiose (VIEIRA *et al.*, 2009).

Os resultados do presente estudo mostraram que os monoterpenos carvacrol e *p*-cimeno não apresentaram nenhum efeito mutagênico, porém o linalol apresentou um efeito mutagênico severo. A clorexidina, utilizada como padrão ouro na odontologia também não apresentou nenhum efeito mutagênico (Gráfico 1).

Gráfico 01: Potencial mutagênico dos monoterpenos carvacrol, linalol, *p*-cimeno e clorexidina.

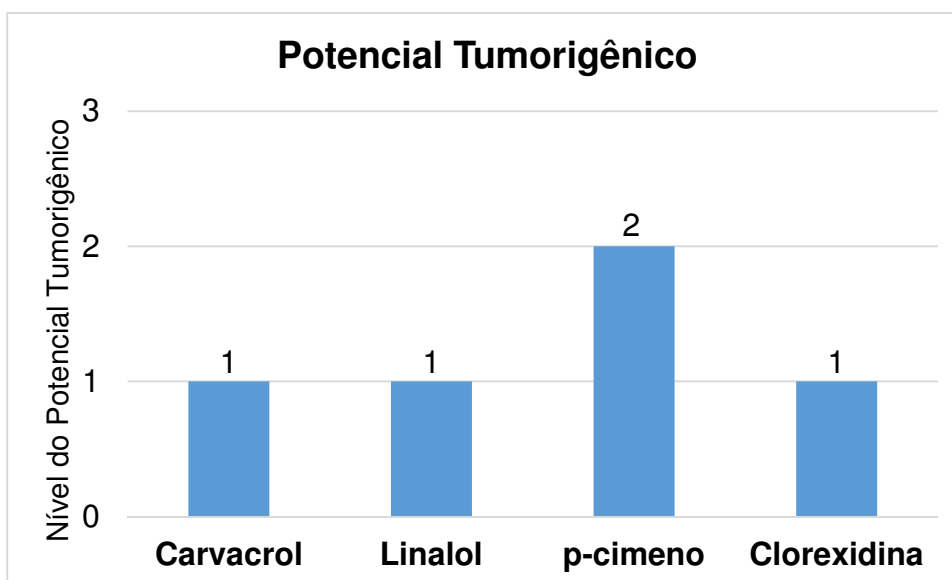


O resultado corrobora com o estudo de Ipek *et al.*, (2005), que verificaram que o carvacrol não apresentou nenhum efeito mutagênico. ALLAHGHADRI *et al.*, (2010) em sua pesquisa confirmou que o *p*-cimeno também não apresenta efeito mutagênico.

A cada ano mais de 12, 7 milhões de pessoas no mundo são diagnosticadas com câncer e 7,6 milhões de pessoas morrem vítimas dessa doença. Sendo assim, medidas devem ser tomadas a fim de evitar a utilização de fármacos que tenham potencial cancerígeno (INCA, 2015). A formação tumoral envolve mecanismos biológicos complexos e ainda desconhecidos, por isso a identificação de marcadores para determinar quais células realmente apresentam potencial tumorigênico é um processo complexo (VALEJO, 2010).

Com relação ao potencial tumorigênico, com a análise dos dados deste estudo pode-se perceber que o carvacrol e o linalol não possuem nenhum efeito tumorigênico, porém o *p*-cimeno possui um potencial tumorigênico moderado. Pode-se perceber que a clorexidina não apresenta potencial tumorigênico (Gráfico 2).

Gráfico 02: Potencial Tumorigênico dos monoterpenos carvacrol, linalol, *p*-cimeno e clorexidina.

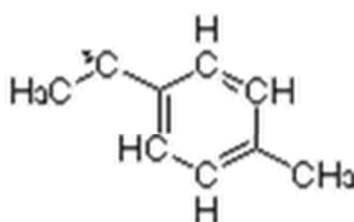


A pesquisa de Vicenzi *et al.*, (2004) revelou que o carvacrol não apresentou dados para o potencial carcinogênico. LOIZZO *et al.*, (2007) comprovou que alguns monoterpenos, como por exemplo, o linalol, eram capazes de inibir o crescimento de células de tumor humano, portanto não sendo tumorigênico.

No estudo de Sivropoulou *et al.*, (1996) foi verificado que o óleo essencial que apresentava o *p*-cimeno em sua composição apresentou níveis elevados de citotoxicidade contra quatro linhas de células animais permanentes, incluindo dois derivados de cânceres humanos.

No entanto, nenhum estudo específico abordou esta propriedade carcinogênica do monoterpeno *p*-cimeno, segundo os dados do OSIRIS (2015) o potencial tumorigênico do *p*-cimeno é devido a presença de um núcleo em sua estrutura, que está representado na figura a seguir (Figura 1).

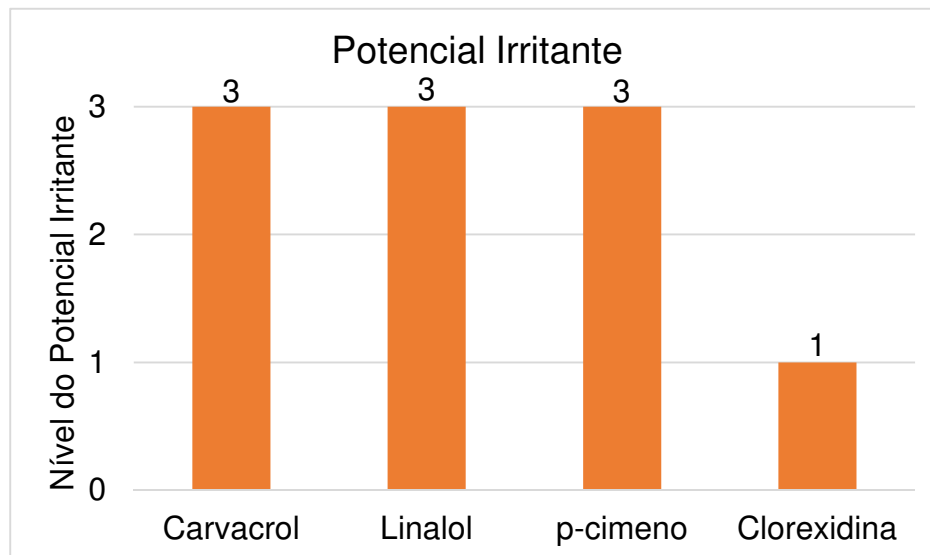
Figura 01: Núcleo Tumorigênico do *p*-cimeno.



A irritação pode ser definida como intolerância local podendo corresponder a reações de desconforto, variando sua intensidade desde ardor, coceira e pinicação, podendo chegar até a corrosão e destruição do tecido. Todas estas reações se restringem à área em contato direto com a substância (BRASIL, 2015).

Para o potencial irritante, verificou-se que os 3 monoterpenos estudados (carvacrol, linalol e *p*-cimeno), apresentaram efeito irritante severo. A clorexidina não mostrou-se irritante, sendo muito utilizada na odontologia (Gráfico 3).

Gráfico 03: Potencial Irritante dos monoterpenos carvacrol, linalol, *p*-cimeno e clorexidina.

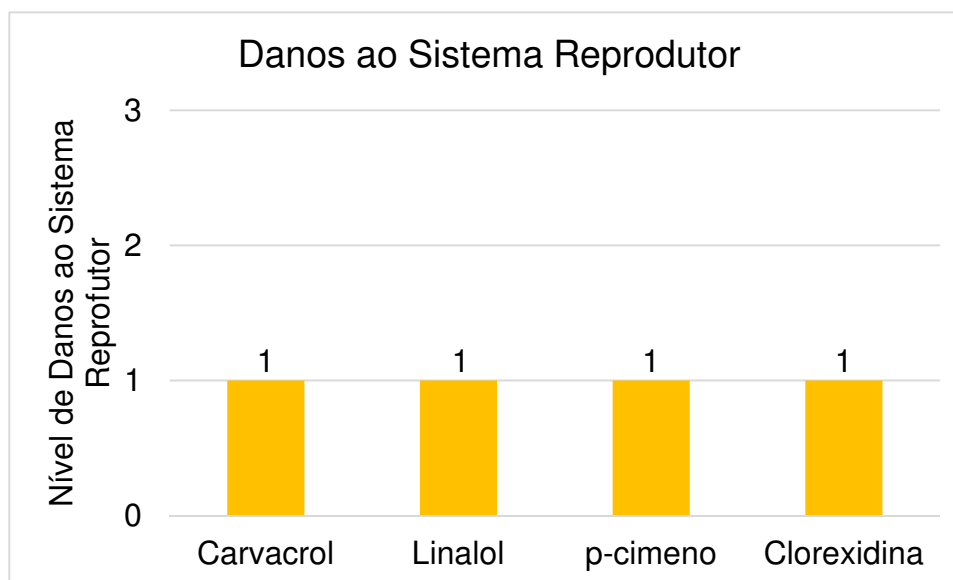


Estes resultados encontrados corroboram com o trabalho de Prashar *et al.*, (2004) que verificou que o linalol apresentava potencial irritante sobre as células humanas. No estudo de Ipek *et al.*, (2005) mostrou que o carvacrol também apresenta potencial irritante. O potencial irritante do *p*-cimeno foi verificado no estudo de Paulsen *et al.*, (2002) o que corrobora com os resultados do presente estudo.

Os agentes tóxicos também podem causar alterações no sistema reprodutor, como por exemplo o masculino, prejudicando a capacidade de reprodução do indivíduo (REBOREDO *et al.*, 2007). A ação de um agente tóxico pode interferir na maturação sexual, na produção e transporte de gametas, no ciclo espermatogênico, no comportamento sexual e/ou na fertilidade (KIMMEL *et al.*, 1995).

O presente estudo revelou que em relação ao sistema reprodutor, nenhum dos monoterpenos estudados, nem a clorexidina possuem potencial tóxico (Gráfico 4). Demonstrando assim, *in silico*, a segurança do uso destes compostos em relação a futuros danos sobre os órgãos do sistema reprodutor humano.

Gráfico 04: Danos ao Sistema Reprodutor dos monoterpenos carvacrol, linalol, *p*-cimeno e clorexidina.



5 CONCLUSÃO

No estudo realizado pôde-se perceber que os monoterpenos selecionados apresentam algum nível de toxicidade, seja mutagênica, tumorigênica ou irritante. O carvacrol apresenta um potencial irritante severo; o linalol mostrou tanto um potencial mutagênico quanto um potencial irritante com um grau de severidade, já o *p*-cimeno revelou um potencial tumorigênico moderado e um grau de irritação severo. Todos esses resultados foram comparados com a clorexidina, que não apresentou nenhum grau de toxicidade, sendo portanto considerada o padrão ouro na odontologia.

Essa pesquisa foi importante para verificar que apesar dos monoterpenos escolhidos apresentarem boa ação antimicrobiana contra as bactérias do biofilme dentário, estes compostos escolhidos revelam variados níveis de toxicidade contra o organismo. Dessa forma, faz-se necessário avaliar o risco-benefício das substâncias antes da sua devida utilização para a produção de um futuro medicamento. Porém,

estudos clínicos precisam ser realizados para confirmar estes resultados obtidos, já que os dados encontrados envolvem resultados *in silico* e estudos pré-clínicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P. A. **Receptor de NMDA: modelagem molecular por homologia e análise SAR de antagonistas de um potencial alvo terapêutico em doenças neurodegenerativas.** Dissertação (Pós graduação em Neuroimunologia) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 2008.

ALLAHGHADRI, T.; RASOOLI, I.; OWLIA, P.; NADOOSHAN, M. J.; GHAZANFARI, T.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S. D. A. Antimicrobial Property, Antioxidant Capacity, and Cytotoxicity of Essential Oil from Cumin Produced in Iran. **J. food sci.**, Chicago, v.75, p.54-61, Mar. 2010.

ANGELO, V.; MAX, D.; MARKUS, A. L. The Challenge of Predicting Drug Toxicity *in silico*. **Basic clin. pharmacol. Toxicol.**, Copenhagen, v.99, p.195–208, 2006.

APARICIO, R. M.; GARCÍA-CELMA, M. J.; VINARDELL, M. P.; MITJANS, M. *In vitro* studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **J. pharm. biomed. anal.**, Oxford, v.39, p.1063-1067, 2005.

BOENTE, A.; BRAGA, G. **Metodologia científica contemporânea.** Rio de Janeiro: Brasport, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos.** Brasília, DF. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 25 de abril de 2015.

CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v.13, n.3, p.381-387, set./dez. 2014.

CASTRO, R. D., *et al.* Atividade antibacteriana *in vitro* de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. **Int. J. Dent.** Recife, v.9, n.2, p.74-77, abr./jun., 2010.

FELTRAN, G. P., *et al.* Estudo comparativo da complexação de monoterpenos em ciclodextrina: preparação, caracterização química, desenvolvimento tecnológico e avaliação biológica. 2014.

GODOY, A. S. Introdução à pesquisa qualitativa e suas possibilidades. **Rev. Adm. Empresas**, São Paulo, v. 35, n. 2, mar./abr., 1995.

HELMA, C. *In silico* Predictive Toxicology: The State of the Art and Strategies to Predict Human Health Effects. **Curr. Opin. Drug. Discov. Devel.**, Freiburg, v.8, n.1, p.27-31, 2004.

INCA. Declaração mundial contra o câncer. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/internacional/declaracao_mundial_contra_cancer. Acesso em 28/04/15.

IPEK, E.; ZEYTIÑOGLU, H.; OKAY, S.; TUYLU, B. A.; KURKCUOGLU, M.; HUSNU CAN BASER, K. Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. **Food chem.**, Barkin, v.93, p.551–556, 2005.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Glossary of Terms Used in Toxicology. **Pure appl. chem.**, Oxford, v.79, n.7, p.1153-1344, 2007.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current. Medicinal Chemistry**, Schipol, v.10, p.813-829, 2003.

KARPANEN, T. J.; WORTHINGTON, T.; HENDRY, E. R.; CONWAY, B. R.; LAMBERT, P. A. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine digluconate alone and combination with eucalyptus oil, tea tree oil and thymol against planktonic and biofilm cultures of *Staphylococcus epidermidis*. **J. medical Microbiol.**, Edinburgh, v.62, p.1031-1036, 2008.

KIMMEL, G. L.; CLEGG, E. D.; CRISP, T. M.; Reproductive toxicity testing: A risk assessment perspective. In: WITORSCH, R. J. (Ed.). **Reprod. Toxicol.** New York: Raven Press. p. 75-98, 1995.

LARINI, L. Avaliação toxicológica. In: LARINI, L. **Toxicologia**. São Paulo: Manole, 1999. p. 31.

LIMA JÚNIOR, J. F.; VIEIRA, L. B.; LEITE, M. J. V. F.; LIMA, K. C. O uso de fitoterápicos e a saúde bucal. **Saúde rev.** Piracicaba, v.7, n.16, p.11-17, 2005.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; SAAB, A. M.; STATTI, G. A.; MENICHINI, F. Cytotoxic Activity of Essential Oils from *Labiatae* and *Lauraceae Families* Against *In Vitro* Human Tumor Models. **International Institute of Anticancer Research**, v.27, n.5, p.3293-3300, Sep./Oct, 2007.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Rev. bras. farmacogn.**, São Paulo, v.11, p.21-35, 2001.

NAVES, M. M. V. Introdução à pesquisa e informação científica aplicada à nutrição. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.11, n.1, p.15-36, jan./jun., 1998.

NOSTRO, A.; ROCCARO, A. S.; BISIGNANO, G.; MARINO, A.; CANNATELLI, M. A.; PIZZIMENTI, F. C.; CIONI, P. L.; PROCOPPIO, F.; BLANCO, A. R. Effects of orégano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **J. Med. microbiol.**, Edinburgh, v.56, p.519-523, 2007.

OSIRIS. ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. Disponível em: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>. Acesso: 28/04/2015.

PAULSEN, E.; CHRISTENSEN, L. P.; ANDERSEN, K. E. Moterpenes released from feverfew (*Tanacetum parthenium*) plants cause airborne Compositae dermatitis? **Contact Dermatitis**, Copenhagen, v.47, n.1, p.14-18, Jul. 2002.

PIEROZAN, M. K. *et al.* Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia L.* species. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.29, n.4, p.764-770, out./dez. 2009.

PRASHAR A.; LOCKE, I. C.; EVANS, C. S. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. **Cell Prolif.** Oxford, v.37, n.3, p.221-229, Jun. 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001. 906p.

REBOREDO, M. M.; LUCINDA, L. M. F.; ROCHA, C. B.; QUEIROZ, G. T.; FARIA, V. C.; VIEIRA, V. A. Avaliação da toxicidade do extrato aquoso de *Caesalpinia ferrea* em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozóides de ratos Wistar submetidos a tratamento subagudo. **Bol. Cent. Biol. Reprod.** Juiz de Fora, v.26, p.11-17, 2007.

ROMANO, B.; PGANO, E.; MONTANARO, V.; FORTUNATO, A. L.; MILIC, N.; BORRELLI, F. Novel insights into the pharmacology of flavonoids. **Phytother. Res.**, London, v.27, p.1588–1596, 2013.

ROSAN, B.; LAMONT, R. J. Dental plaque formation. **Microbes infect.**, Paris, v.2, p.1599-1607, 2000.

SCHREIER, H.; GAGNÉ, L.; BOCK, T.; ERDOS, G. W.; DRUZGALA, P.; CONARY, J. T.; MULLER, B. W. Physicochemical properties and *in vitro* toxicity of cationic liposome cDNA complexes. **Pharm. acta helv.**, Zurich. v.72, p.215-223, 1997.

SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* Essential Oils. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.44, n.5, p.1202-1205, 1996.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental Biofilms: Difficult Therapeutic Targets. **Periodontol.**, v.28, p.12–55, 2002.

SOUSA, R.G.; FALCÃO, H.S.; BARBOSA FILHO, J.M.; MELO DINIZ, M.M.F.; BATISTA, L.M. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v.15, n.2, p.287-292, 2013.

SRINIVAS, N.; SANDEEP, K. S.; ANUSHA, Y.; DEVENDRA, B. N. *In Vitro* Cytotoxic Evaluation and Detoxification of Monocrotaline (Mct) Alkaloid: An In Silico Approach. **Internat. invention J. biochem. bioinform.**, v.2, n.3, p.20-29, 2014.

TOSCANO RICO, J. M. Plantas Medicinais. Academia das Ciências de Lisboa, Instituto de Estudos Acadêmicos para Seniores, Lisboa, 2011.

VALEJO, F. A. M. **Transição epitélio- mesenquimal e presença de células CD44⁺ e CD24⁺ como fatores de predição de metástase axilar no câncer de mama inicial.** Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2010.

VIEIRA, A.; GUIMARÃES, M. A.; DAVID, G. Q.; KARSBURG, I. V.; CAMPOS, A. R. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. **Rev. Tróp. Ciênc. Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 1, 2009.

VINCENZI, M.; STAMMATI, A.; DE VINCENZI, A.; SILANO, M. Constituents of aromatic plants: carvacrol. **Fitoterapia.**, Milano, v.75, p.801-804, 2004.