

Centro Universitário de Patos
 Curso de Medicina
 v. 5, n. 4, Out-Dez 2020, p. 30-46.
 ISSN: 2448-1394



ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE CONTRA *Cryptococcus neoformans*: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

ESSENTIAL OILS WITH ACTIVITY AGAINST Cryptococcus neoformans: AN INTEGRATIVE REVIEW

Dieza Maria Pereira Zaqueu Rezzo
 Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – Cuité – Paraíba - Brasil
diezaliza@hotmail.com

Alyne Mendonça Saraiva Nagashima
 Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – Cuité – Paraíba - Brasil
alynneme@gmail.com

Francisco Patricio de Andrade Júnior
 Universidade Federal da Paraíba – UFPB – João Pessoa – Paraíba - Brasil
juniorfarmacia.ufcg@outlook.com

Egberto Santos Carmo
 Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – Cuité – Paraíba - Brasil
egberto_santos@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivo: objetivou-se realizar uma revisão integrativa, sobre os óleos essenciais com ação sobre espécies de *Cryptococcus neoformans*.

Métodos: Foi realizada uma pesquisa bibliográfica integrativa, de artigos científicos publicados em periódicos nacionais e internacionais, utilizando os bancos de dados LILACS, CAPES, BVS, SciELO, Pubmed, Science direct e MEDLINE, publicados entre 1997 a 2017.

Resultados: Observou-se que os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum*, *Origanum vulgares*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgares*, *Laurus nobilis*, *Cymbopogon winterians*, *Thymus vulgares*, *Litsea cubeba*, *Cymbopogon martini*, *Eugenia dysenterica*, *Eugenia caryophyllus* e *Cannabis sativa* apresentaram atividade antifúngica frente a cepas de *C. neoformans*. Evidenciou-se, ainda, que os óleos essenciais de *Origanum vulgares* e *Coriandrum sativum* apresentaram baixos sinais de toxicidade e os óleos de *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgares* e *Eugenia caryophyllus* exibiram sinais de toxicidade nas concentrações testadas; para as demais plantas não há estudos que determinem a toxicidade de seus óleos essenciais. Ademais, na literatura não foram encontrados estudos clínicos com óleos essenciais para o tratamento de infecção por *Cryptococcus* spp.

Conclusões: Assim, conclui-se que os doze óleos encontrados apresentaram atividade contra *Cryptococcus neoformans*, porém *O. vulgares* e *C. sativum* apresentaram baixa toxicidade em relação aos demais óleos, representando portanto, potenciais candidatos a fármacos para tratamento de criptococose.

Palavras-Chave: Produtos naturais. Óleo essencial. Antifúngico. *Cryptococcus* spp. Toxicidade.

ABSTRACT

Objective: The objective of the study was to perform an integrative review on the essential oils with action on species of *Cryptococcus neoformans*.

Methods: An integrative bibliographic research of scientific articles published in national and international journals was carried out using LILAS, CAPES, VHL, SciELO, Pubmed, ScienDirect and MEDLINE databases published in the years of 1997 to 2017.

Results: It was observed that the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Origanum vulgare*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*, *Laurus nobilis*, *Cymbopogon winterianus*, *Thymus vulgaris*, *Litsea cubeba*, *Cymbopogon martini*, *Eugenia dysenterica*, *Eugenia caryophyllus* and *Cannabis sativa* showed antifungal activity against strains of *C. neoformans*. It was also evidenced that the essential oils of *Origanum vulgare* and *Coriandrum sativum* showed low signs of toxicity and oils of *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* and *Eugenia caryophyllus* exhibited signs of toxicity at the concentrations tested; for the other plants there are no studies that determine the toxicity of their essential oils. In addition, in the literature no clinical studies with essential oils for the treatment of infection by *Cryptococcus* spp.

Conclusions: Thus, it can be concluded that the twelve oils found showed activity against *Cryptococcus neoformans*, but *O. vulgare* and *C. sativum* presented low toxicity in relation to the other oils, thus representing, potential candidates for drugs for cryptococcosis treatment.

Keywords: Natural products. Essential oil. Antifungal. *Cryptococcus* spp. Toxicity.

1. Introdução

A criptococose é classificada como uma importante micose sistêmica e oportunista, causada, sobretudo, pelas leveduras *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, que por sua vez, são pertencentes ao filo Basidiomycota, ordem Tremellales, classe dos Tremellomycetes, família Tremellaceae e gênero *Filobasidiella* (*Cryptococcus*). Ademais, essa micose vem tornando-se um importante problema de saúde pública, uma vez que, tem assumido um papel relevante na história da SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida), sendo uma das principais micoses oportunistas diagnosticadas entre os pacientes infectados pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana) ¹⁻³.

A infecção ocorre pela inalação de partículas infectantes ou por leveduras dessecadas presentes no meio ambiente, as quais, depois de inaladas, colonizam o tecido alveolar. No entanto, em pacientes com deficiência imunológica ocorre facilmente a difusão da mesma por via hematogênica, colonizando vários órgãos, com tropismo para o sistema nervoso central (SNC). A presença dessa levedura no SNC pode causar doenças graves como meningoencefalite ⁴⁻⁶.

Estudos recentes mostram que cerca de um milhão de casos de criptococose são relatados anualmente, resultando em 600.000 mortes por ano, com mortalidade superior a 43% em países subdesenvolvidos. Além do mais, apresenta grande importância epidemiológica, principalmente em regiões com alta incidência de infecção por HIV ^{7,8,9}.

O tratamento pode ser dividido em três fases: indução, consolidação e manutenção. A fase de indução tem como finalidade reduzir ou negativar a carga fúngica

com período mínimo de duas semanas. Na fase de consolidação busca-se manter a negatificação e alcançar a normalização dos parâmetros clínico-laboratoriais por pelo menos oito semanas. E a fase de manutenção, também denominada de fase supressão, depende do estado imunológico do paciente e compreende um período mínimo de um ano. A farmacoterapia atual da criptococose engloba a anfotericina B e suas formulações lipídicas, 5-fluocitosina, fluconazol, itraconazol e voriconazol ^{10,11}.

A anfotericina B (AmB) e suas diferentes formulações, apesar do surgimento de outros fármacos antifúngicos de amplo espectro, continua sendo considerada o “padrão ouro” dos fármacos para o tratamento de criptococose, enquanto que o fluconazol muito utilizado no tratamento de micoses superficiais e invasivas, é bem tolerado pelo paciente, quando administrado em altas doses ¹²⁻¹⁴.

Contudo, devido à alta toxicidade e efeitos adversos inerentes ao uso AmB para o tratamento de micoses e aos fenômenos de resistência observados frente aos azóis, torna-se imprescindível a busca por outras substâncias com atividade antifúngica, a exemplo dos óleos essenciais (OE) ¹²⁻¹⁵.

Assim, a fim de encontrar compostos mais eficazes e de menor toxicidade, as plantas medicinais vêm sendo estudadas a partir da produção dos óleos essenciais. Esses compostos são produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas e considerados importantes em diversas funções necessárias a sobrevivência do vegetal, como o mecanismo de defesa contra microrganismos. Com tudo os óleos essenciais possuem uma complexa composição química e são considerados fontes de substâncias biologicamente ativas ^{16,17}.

Dentre as atividades biológicas evidenciadas nos óleos essenciais é possível destacar as atividades antioxidante¹⁸, anti-inflamatória¹⁹, inseticida²⁰, larvicida ²¹, antiparasitária ²² e antimicrobiana ^{16,23}.

Neste contexto, levando em consideração a difícil farmacoterapia empregada para o tratamento da criptococose, os fenômenos de resistência frente aos antifúngicos e a presença de produtos naturais com atividade antimicrobiana, os presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão integrativa, sobre os óleos essenciais com ação sobre espécies de *Cryptococcus neoformans*.

2. Metodologia

2.1 Delineamento do estudo

Tratou-se de um estudo de revisão integrativa da literatura, desenvolvido com a finalidade de reunir e sintetizar achados de estudos realizados, com o intuito de contribuir para o aprofundamento do conhecimento relativo ao tema investigado ²⁴.

2.2 Fontes de informação

A coleta de dados foi realizada a partir das bases de dados *Eletronic Libary Online* (SciELO), PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS/M), *Medical Literature Analysis and Retrieval Sistem Online* (MEDLINE), *Science direct*, LILACS e CAPES.

A busca foi conduzida utilizando-se os seguintes descritores: *Cryptococcus*, óleos essenciais e toxicidade. Estes foram combinados na língua inglesa através do operador booleano AND e assim, foram realizadas as seguintes combinações: *Cryptococcus* AND óleos essenciais, Toxicidade AND óleos essenciais e *Cryptococcus* AND estudo clínico.

2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos na pesquisa artigos em língua inglesa ou portuguesa, em periódicos nacionais ou internacionais e que tivessem sido publicados entre os anos de 1997 a 2017. Além disso, foram incluídas dissertações e teses disponíveis *online* em acervos de universidade públicas. Artigos que se apresentassem em outros idiomas, que só pudessem ser acessados mediante pagamento ou que apresentassem atividade de óleos essenciais com fungos que não pertencessem ao gênero *Cryptococcus*, foram excluídos da pesquisa.

2.4 Análise dos dados

Para elaboração da revisão integrativa foi realizada etapas sendo elas: 1) estabelecimento do objetivo da revisão; 2) seleção da amostra; 3) estabelecimento dos critérios de inclusão e exclusão; 4) análise dos dados; 5) interpretação dos resultados; 6) apresentação da revisão. Com isso todo o material obtido foi submetido à leitura, a fim de identificar os artigos que se enquadram nos critérios de inclusão. A organização e a análise dos dados servirão como base para realizar, nesta revisão integrativa, uma discussão fundamentada em resultados científicos.

3. Resultados e Discussão

Ao se obter acesso às bases de dados escolhidas, foram encontrados 60 artigos nos quais após a análise, chegou-se ao número de 45 documentos, sendo que destes, 19 estudos foram excluídos por apresentar duplicidade. Deste modo, das 45 publicações encontradas, 25 abordavam o tema e foram selecionados para compor a revisão integrativa.

Dentre os artigos selecionados, utilizando o operador booleano AND, foram encontrados 14 artigos com a combinação *Cryptococcus* AND óleos essenciais, 11 artigos com a associação dos termos toxicidade AND óleos essenciais e nenhum artigo encontrado com o uso da combinação *Cryptococcus* AND estudo clínico. Sendo assim, de acordo com as estratégias de busca eletrônica obteve-se um resultado de 7 produções na PubMed, 5 artigos na SciELO, 2 na LILACS, 6 no MedLine, 5 produções no Science direct, 11 na BVS e 9 no periódico CAPES. No qual constatou-se que 12 artigos foram publicados em periódicos nacionais e 14 publicados em periódicos internacionais. A Tabela 1 apresenta os resultados da estratégia de busca por meio das fontes consultadas.

Tabela 1 - Estratégia de Busca Eletrônica.

Descritores	Fontes consultadas							
	PUBMED	SciELO	LILACS	MEDLINE	Science direct	BVS/M	CAPES	
<i>Cryptococcus</i> AND óleos essenciais	04	01	-	03	03	06	04	
Toxicidade AND óleos essenciais	03	04	02	03	02	05	05	
<i>Cryptococcus</i> AND estudo clínico	-	-	-	-	-	-	-	
Total	07	05	02	06	05	11	09	45

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Em meio aos artigos selecionados, foi possível fazer uma análise sobre os óleos essenciais com ação sobre espécies de *C. neoformans*, analisar o perfil de toxicidade dos óleos e a existência estudos clínicos demonstrando sua efetividade e segurança. O Quadro 1 apresenta os óleos essenciais com atividade inibitória sobre *Cryptococcus*, seus compostos majoritários e suas Concentrações Inibitórias Mínimas.

Quadro 1- Óleos essenciais testados contra *Cryptococcus* spp., seus compostos majoritários e respectivas Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs).

Óleos Essenciais	Nomes populares	Compostos majoritários	CIM	Referências
<i>Foeniculum vulgares</i>	Funcho	E-anetol, α -phellandreno, α -pineno e fenchone.	128 - 256 μ g/ml 0,32-0,64 μ g/ml	Queiroz (2012) ²⁵ ; Cabral <i>et al.</i> , 2017) ²⁶
<i>Laurus nobilis</i>	Louro	Isoeugenol, mirceno, chavicol, metileugenol, linalol, cariofileno e limoneno.	256 - 512 μ g/ml	(Pinheiro, 2014) ²⁷
<i>Coriandrum sativum</i>	Coentro	Cânfora, acetato de ciclo-hexanol, limonene e α -penene.	32 - 64 μ g/ml	Queiroz (2012) ²⁵ Darughe; Barzegar; Sahari (2012) ²⁸
<i>Origanum vulgare</i>	Orégano	Carvacrol, α -terpinol, linalool e γ -terpenene.	OE ₁ : 0,64 μ g/ml OE ₂ : 0,16 μ g/ml OE ₃ : 0,64 μ g/ml	Vale-Silva <i>et al.</i> (2012) ²⁹
<i>Ocimum gratissimum</i>	Alfavaca-cravo	Eugenol, α -bisaboleno e timol.	125 - 250 μ g/ml	Lemos <i>et al.</i> (2005) ³⁰
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	Citronelol, citronelal e geraniol.	32 - 256 μ g/ml	Nunes (2014) ³¹
<i>Thymus vulgares</i>	Tomilho	Timol, cravacol, linalol e p-cimeno.	32 - 128 μ g/ml 0,09%	Nunes (2014) ³¹ Santos (2016) ³²
<i>Litsea cubeba</i>	Pimenta chinesa	Citral	16 - 512 μ g/ml	Tremea (2015) ³³

Óleos Essenciais	Nomes populares	Compostos majoritários	CIM	Referências
<i>Cymbopogon martini</i>	Palmarosa	Geraniol	64 - 512 µg/ml	Tremea (2015) ³³
<i>Eugenia dysenterica</i>	Cagaita	β-cariofileno, A-humuleno, limoneno, α- theyne e α-terioineol.	125 - 250 µg/ml	Costa <i>et al.</i> (2000) ³⁴
<i>Eugenia caryophyllus</i>	Cravo-da-índia	Eugenol e β- cariofileno.	0,04%	Santos (2016) ³²
<i>Cannabis sativa</i>	Maconha	α-humuleno, β-cariofileno e óxido cariofileno.	33,15 µg/ml	Wanas <i>et al.</i> (2016) ³⁵

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

A espécie *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) popularmente conhecida como alfavaca-cravo, apresenta folhas aromáticas usadas nas práticas de medicina caseira, e como condimento em culinária (MATOS, 2000)³⁶. Lemos *et al.* (2005)³⁰ analisaram atividade antifúngica do OE de *O. gratissimum* frente as cepas de *C. neoformans*, deste modo utilizou 25 cepas para determinação da CIM. O OE apresentou uma inibição de 8% dos isolados na CIM de 125µg/mL e para inibir 50 e 90% dos isolados foram observados uma CIM de 250 µg/mL. Sabe-se que esse óleo essencial é composto por 21 fitoconstituintes, sendo os principais compostos o eugenol (57,82%), α-bisaboleno (17,19%), e timol (9,8%).

O orégano (*Origanum vulgare* L., família Lamiaceae), por sua vez, é uma planta condimentar que além de apresentar propriedades aromáticas apresenta também propriedades antimicrobianas e antioxidantes, que atuam como conservantes naturais inibindo o crescimento de microrganismos. No estudo de Vale-Silva *et al.* (2012)²⁹ foram usadas três amostras do OE das partes aéreas dessa planta (amostra 1 e 2 Viseu e 3 Soure), no qual o óleo 1 e 3 apresentou CIM de 0,64 µL/mL e a amostra 2, CIM de 0,16µL/mL frente a cepa de *C. neoformans*. Os três óleos exibiram atividade fungicida de amplo espectro, sendo o óleo 2 o mais potente apresentando Concentração Letal Mínima (MLC) entre 0,32 e 1,25 µL/mL, e o menos potente foi a amostra 3 no qual o MLC variou entre 0,32 e 20,0 µL/mL. Tal atividade pode estar relacionada aos principais componentes do óleo que são eles o carvacrol, α- terpinol, linalool e γ-terpineno. Além disso, as diferenças quantitativas químicas foram encontradas entre as amostras de OE, sendo que a potência dos óleos variam de acordo com as concentrações de substâncias presentes, percebendo-se que a potência fungicida aumenta se a concentração de carvacrol estiver acrescida, por outro lado pode-se correlacionar o γ-terpineno com a inibição da filamentação.

Coriandrum sativum L. popularmente conhecido como coentro, uma hortaliça de importância culinária no país, é empregado como condimento de intenso aroma sendo consumido *in natura*, enquanto que *Foeniculum vulgares* Mill é conhecida como funcho e pertence, assim como o coentro, a família Apiaceae/Umbelliferae (JOLY, 2002)³⁷. Nos estudos elaborados por Queiroz (2012)²⁵ os óleos essenciais de *C. sativum* e *F. vulgares* apresentaram CIM 64 µg/mL e 256 µg/mL respectivamente, em que houve a capacidade

de inibir 100% o crescimento de cepas de *C. neoformans*. Em outro estudo elaborado por Cabral *et al.*, (2017)²⁶ com o OE de *F. vulgares* Mill, comprovou-se sua ação antifúngica contra as cepas de *C. neoformans*, no qual apresentou CIM variando 0,32-0,64µL/mL, tendo como principais componentes observados no óleo o E-anetol, α -phellandreno, α -pineno e fechone. Darughe, Barzegar & Sahari (2012)²⁸ analisaram o OE de *C. sativum* quanto à atividade antifúngica e os principais constituintes evidenciados foram a cânfora, acetato de ciclo-hexanol, limonene e α -penene.

Laurus nobilis L. pertence à família Laureaceae e é uma planta aromática de pequeno porte, conhecida popularmente como louro. As folhas secas são muito usadas no preparo de alimentos, e o óleo essencial, é um complemento valioso no aroma de vários tipos de alimentos³⁸. As propriedades antimicrobianas e inseticidas tornaram o uso dessa planta frequente para a conservação de alimentos pela indústria³⁹. Pinheiro (2014)²⁷ avaliou a atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de *Laurus nobilis* que apresentou atividade contra as cepas de *C. neoformans* exibindo inibição do crescimento fúngico sobre 70% das cepas, tendo a CIM estabelecida em 256 µg/mL. O OE apresentou presença de sete fitoconstituintes majoritários responsáveis pela ação antifúngica, sendo estes o isoeugenol, mirceno, chavicol, metileugenol, linalol, cariofileno e limoneno.

Cymbopogon winterians (citronela) é uma planta pertencente à família *Poaceae* ou *Gramineae* e seu óleo essencial vem sendo utilizado como repelente, larvicida, ansiolítico, analgésico e apresenta relatos de ação de atividade antifúngica e antibacteriana. Tais aplicabilidades, podem estar relacionadas a presença de alguns terpenos como o citronelol, citronelal e geraniol^{40,41,42,43,44}. Enquanto que o *Thymus vulgaris* (tomilho) é uma planta pertencente à família *Labiatae*⁴⁵, e o seu OE extraído de folhas e flores frescas, é comumente utilizado pela indústria cosmética, alimentícia e em fitoterápicos⁴⁶⁻⁴⁸. Na sua composição são encontrados timol e carvacrol como componentes majoritários.

Segundo os estudos realizados por Nunes (2014)³¹ as atividades de OE de *C. winterianus* e *T. vulgaris* avaliadas em isolados de *C. neoformans*, mostraram que *C. winterianus* apresentou CIM que variaram de 32 a 256 µg/mL, enquanto que *T. vulgaris*, apresentou valores de CIM entre 32 a 128 µg/mL. Para *C. winterianus*, a maioria dos isolados (62,5%), apresentou CIM de 128 µg/mL. Para *T. vulgaris*, as CIM responsáveis por inibir 50% e 90% dos isolados foram de 64 µg/ mL e 128 µg/ mL, respectivamente. Santos (2016)³², por sua vez, ao estudar *T. vulgaris* observou que para inibir 50% dos isolados era necessário CIM do óleo a 0,04%, já para inibir 90% dos isolados utilizou-se CIM do óleo a 0,30%. Ademais, os autores acreditam que a atividade antifúngica obtida não está associada somente ao carvacrol e timol, mas também ao linalol e p-cimenro, que foram observados como majoritários.

Os estudos desempenhados por Teixeira *et al.* (2015)⁴⁹ e Nóbrega *et al.* (2017)⁵⁰, evidenciaram atividade antifúngica do timol e carvacrol frente a cepas de *C. neoformans*. Observou-se CIM variando 20 µg/mL a 51 µg/mL para o timol e 25µg/mL a 81µg/mL para o carvacrol. Esses estudos corroboram com a análise realizada por Nunes (2014)³¹ e Santos (2016)³² em que o timol e carvacrol são os principais constituintes do óleo essencial de *Thymus vulgares*, comprovando sua eficácia.

Tremea (2015)³³ determinou a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Listsea cubeba* e *Cymbopogon martini*. Os OEs foram extraídos do fruto de *L. cubeba* e das folhas de Palmarosa (*C. martini*) e seus constituintes majoritários foram citral e geraniol respectivamente. Na pesquisa foram usados 15 isolados de *C. neoformans* e duas cepas padrão. Para OE de *L. cubeba* exibiu CIM entre 16 e 512 µg/mL, sendo que para CIM₅₀ foi igual a 64 µg/mL e a CIM₉₀ foi igual a 128 µg/mL, *C. martini* exibiu CIMs entre 64 a 512 µg/mL, com CIM₅₀ igual a 256 µg/mL e CIM₉₀ igual a 512 µg/mL.

Costa *et al.* (2000)³⁴ estudaram a ação do OE de *Eugenia dysenterica* (Cagaita), obtido de folhas por hidrodestilação. O óleo essencial era uma mistura com mais de 50 compostos, 42 foram identificados, correspondendo a 87,8% do total do óleo, sendo seus principais componentes o β- cariofileno, α- humuleno, limoneno, α- thujene e α- terpineol. Para determinar sua ação foram usados 35 cepas de *C. neoformans* e duas de *C. gatti*, apresentando CIM que variou entre 125 – 250 µg/mL.

Em outra pesquisa foi analisada uma espécie do gênero *Eugenia* e família Myrtaceae, (*Eugenia caryophyllus*), segundo Santos (2016)³² OE de *E. caryophyllus* apresenta compostos como cariofileno, humuleno, acetato de eugenila, óxido de cariofileno, aldeídos e derivados de furfural, sendo o eugenol e β-cariofileno, os principais fitoconstituintes. Nesse estudo foi observada uma inibição contra *C. neoformans*, no qual para inibir 50% dos microorganismos foi necessário CIM do óleo a 0,09%, enquanto que para inibir 90% foram utilizados uma CIM do óleo a 0,78%.

Cannabis é um dos gêneros de plantas medicinais mais conhecido, havendo destaque para a espécie *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae) que apresenta mais de 750 constituintes em sua composição^{51,52}. Wanas *et al.*, (2016)³⁵ observaram que OE dessa planta apresentou atividade antifúngica para *C. neoformans*, sendo que para inibir 50% das cepas testas foi necessário uma CIM de 33,1 µg/mL. Os principais componentes encontrados no OE responsável por atividade antifúngica foram α-humuleno, β- cariofileno e oxido cariofileno.

O uso popular dessas plantas comprova que há uma gama quase infinita de aplicações curativas e preventivas⁵³. Contudo, apesar de serem denominadas plantas medicinais, podem apresentar toxicidade de acordo com a utilização, com o tempo de tratamento, com a forma de preparo, entre outros fatores. O cuidado com a utilização é imprescindível e de suma importância no controle dos possíveis efeitos adversos e

colaterais que o uso crônico e/ou agudo pode acarretar no organismo. Portanto, a investigação do potencial tóxico de plantas medicinais pode elucidar importantes aspectos farmacológicos de seus princípios naturais, permitindo uma utilização segura, respeitando seus possíveis riscos toxicológicos ⁵⁴.

Deste modo, os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de prever os riscos dos óleos essenciais, sendo observados no Quadro 2.

Quadro 2- Óleos essenciais com atividade contra espécies de *Cryptococcus* que apresentaram testes de toxicidade e citotoxicidade.

Óleos essenciais	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>Ocimum gratissimum</i>	Estudos foram conduzidos em camundongos, machos. Resultados: sinais de toxicidade e óbito em camundongos machos nas doses acima de 0,27g/kg de óleo. Estudo realizado com náuplios de <i>Artemia salina</i> . Resultado: Apresentou sinais de toxicidade com $CL_{50}=233,8 \mu\text{g/mL}$.	Estudo realizado com ratos, machos, por durante 30 dias. Resultados: sinais de toxicidade, óbito e alteração em órgãos vitais na utilização de doses acima de 80mg/kg de óleo. $DL_{50}= 0,43\text{g/kg}$.	Estudos não encontrados	No utilizou o ensaio MTT. Resultado: OE foi capaz de reduzir a viabilidade para valores menor que 80% nas duas maiores concentrações 160 e 200 $\mu\text{g/mL}$.	Orafidiya <i>et al.</i> (2004) ⁵⁵ ; Silva <i>et al.</i> (2010) ⁵⁶ ; Oliveira (2015) ⁵⁷ .
<i>Origanum vulgares</i>	Estudo realizado em ratos (wistar). Resultados: a dose inicial de 3% é considerada terapêutica e segura para a reprodução de ratos, observou sinais de toxicidades na concentração mais elevada (27%) causando alterações na fertilidade.	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudo realizado pelo método do MTT. Resultados: o óleo essencial do orégano apresentou baixa citotoxicidade entre 0,052 – 0,013 $\mu\text{g/mL}$.	Hollenbach <i>et al.</i> (2013) ⁵⁸ ; Hollenbach <i>et al.</i> (2015) ⁵⁹ ; Blank <i>et al.</i> (2016) ⁶⁰
<i>Coriandrum sativum</i>	No estudo realizado com <i>Artemia salina</i> . Resultado: apresentou sinais de toxicidade na $CL_{50}= 23 \mu\text{g/mL}$. Estudo realizado com náuplios de <i>Artemia salina</i> , Resultado: sinais de intoxicação por óleo de coentro. $LC_{50} = 2, 25 \text{ mg/ml}$.	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	No estudo utilizou o ensaio MTT. Resultados: apresenta sinais de citotoxicidade na concentração de 800 $\mu\text{g/ml}$ resultaram em 63% de morte celular. $CL_{50}= 663,2\mu\text{g/ml}$.	Soares <i>et al.</i> (2012) ⁶¹ ; Bogavoc <i>et al.</i> (2015) ⁶² ; Caputo <i>et al.</i> (2016) ⁶³ .
<i>Foeniculum vulgares</i>	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudo realizado pelo ensaio MTT. Resultado: não apresentou citotoxicidade nos queratinócitos, hepatócitos e fibroblastos na concentração de 1.25 $\mu\text{l/ml}$, nos macrófagos não apresentou na concentração de 0,64 $\mu\text{l/ml}$.	Cabral <i>et al.</i> (2017) ²⁶

Óleos essenciais	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Ensaio pelo método de (MTT). Resultados: indicam que a viabilidade celular, manteve-se superior a 100%, demonstrando que o OE não apresentou citotoxicidade nas concentrações testadas.	Guimarães (2013) ⁶⁴
<i>Thymus vulgaris</i>	Estudo realizado com náuplios de <i>Artemia salina</i> , nas concentrações 0,312 – 5%. Resultado: o OE apresentou toxicidade em todas as concentrações testadas.	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudo elaborado pelo método de MTT. Resultados: não apresentou citotoxicidade nas concentrações equivalente a sua CIM= 125- 250µg/ml.	Bogavoc <i>et al.</i> (2015) ⁶² ; Lima; Lima; Donazzolo, (2007) ⁵³
<i>Litsia cubeba</i>	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudo determinado através do ensaio de atividade hemolítica. Resultado: o ensaio mostrou que o OE não apresentou toxicidade na entre 16 - 512µg/ml e entre 64 e 2048 µg/mL.	Tremea (2015) ³³
<i>Cymbopogon martine</i>	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	Estudos não encontrados	No estudo a citotoxicidade dos OEs foi determinada através do ensaio de atividade hemolítica. Resultado: o ensaio mostrou que o OE não apresentou toxicidade na CIM entre 64 - 512µg/mL e entre 512 e 2048 µg/mL. Estudo utilizou o ensaio de MTT usando linfócitos humanos. Resultado: não foi observado toxicidade em concentrações entre 50 e 200 µg/mL.	Tremea (2015) ³³ Sinha; Biswas; Mukherjee, (2011) ⁶⁵

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

As avaliações *in vivo* e *in vitro* muitas vezes são capazes de predizer efeitos adversos em humanos exposto às espécies químicas, sendo importantes ferramentas em estudos toxicológicos. Com tudo, esta etapa denominada ensaio de toxicidade pré-clínica, representa ganhos na segurança do uso, e econômicos no desenvolvimento de novos fármacos ^{66,67}.

Nesse estudo foi observado que o óleo essencial de *Origanum vulgares* quanto a toxicidade aguda apresentou baixo sinal de toxicidade, minimizando eventuais riscos aos indivíduos.

Com tudo o óleo essencial de *Coriandrum sativum* no estudo de toxicidade aguda elaborado por Soares *et al.*, (2012)⁶¹, apresentou nas concentrações testadas baixos sinais de toxicidade (CL₅₀= 23µg/mL), em contra partida na pesquisa de Bogavoc *et al.*,

(2015)⁶² o mesmo óleo apresentou sinais de toxicidade com $CL_{50} = 2,25\text{mg/mL}$ ou $2250\ \mu\text{g/mL}$, com isso conclui-se que a utilização desse óleo em concentração igual ou inferior a $23\ \mu\text{g/mL}$ é mais segura.

Quantos os óleos essenciais de *Foeniculum vulgares*, *Cymbopogon winterianus*, *Litisea cubeba* e *Cymbopogon martini* só foram encontrados estudos de citotoxicidade, nos quais verificaram-se baixos sinais de toxicidade, sendo necessário estudos mais avançados. Os óleos essenciais de *Laurus nobilis*, *Eugenia dysenterica* e *Cannabis sativa* não apresentam nenhuma informação sobre toxicidade foi verificada.

Os OE de *Ocimum gratissimum* e *Thymus vulgares* no teste de toxicidade aguda apresentaram sinais de toxicidade, não podendo ser usados nas concentrações testadas.

Na literatura não foram encontrados estudos clínicos com óleos essenciais para o tratamento de infecção por *Cryptococcus* spp. Tal fato pode ocorrer pela dificuldade de elaboração de estudos clínicos de uso sistêmico, devido a não aceitação do público alvo, falta de investimento para pesquisa, ou até mesmo não se pode descartar a possibilidade de alguma possível patente estar tramitando, nesse caso necessitando de sigilo.

O trabalho apresentado ressalta a grande oportunidade de utilização das plantas como uma alternativa para situações em que os medicamentos alopáticos são ineficazes e de alto custo, todavia a carência de estudos de toxicidade e clínicos são fatores limitantes no desenvolvimento de novos antifúngicos, em especial contra *Cryptococcus*.

4. Conclusões

Doze óleos essenciais que apresentaram atividade antifúngica contra cepas de *Cryptococcus* spp. foram encontrados na literatura, no período estudado, sendo que os óleos essenciais de *O. vulgares* e *C. sativum* apresentaram baixa toxicidade em relação aos demais óleos. Contudo, mais estudos pré-clínicos e até clínicos, precisam ser realizados para garantir a segurança destes óleos, os quais podem representar, potenciais candidatos a fármacos para o tratamento de criptococose.

Referências

1. Favalessa OC, Ribeiro LC, Tadano T, Fontes CJF, Dias FB, Coelho BPA, Hahn RC. First description of phenotypic profile and in vitro drug susceptibility of *Cryptococcus* spp yeast isolated from HIV-positive and HIV-negative patients in State of Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42(6): 661-665.
2. Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. The yeasts, a taxonomic study, 5th edn. Elsevier, Amsterdam, p. 87-110, 2011.

3. Kwon-Chung KJ, Fraser JA, Doering TL, Wang Z, Janbon G, Idnurm A, Bahn YS. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the Etiologic Agents of Cryptococcosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(7).
4. Stie J, Fox D. Blood-brain barrier invasion by *Cryptococcus neoformans* is enhanced by functional interactions with plasmin. *Microbiology*. 2012;158(1): 240-258.
5. Liu TB, Kim JC, Wang Y, Toffaletti DL, Eugenin E, Perfect JR, Kim KJ, Xue C. Brain inositol is a novel stimulator for promoting *Cryptococcus* penetration of the blood-brain barrier. *PLoS Pathogens*. 2013; 9(4).
6. Rêgo MF, Fontes RER, Nascimento WS, Silva HM. Análise bibliográfica dos principais aspectos da criptococose. *Anais dos cursos de pós-graduação lato sensu UniEvangélica*. 2018;2(1): 23-33.
7. Stie J, Fox D. Induction of brain microvascular endothelial cell urokinase expression by *Cryptococcus neoformans* facilitates blood-brain barrier invasion. *PLoS One*. 2012;7(11).
8. Zhu L, Huang R, Guo H, Zhang J, Dong C, Han H. Cryptococcal Meningitis: Description of 3 Cases and Estimation of T-cell Subsets. *Indian J Pediatr*. 2014;81(6): 536-540.
9. Canavari IC. et al. Criptococose: revisão de literatura. *RedVet*. 2017;18(9):1-5.
10. Consenso em Criptococose. Relatório Técnico. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(5): 524-544.
11. Pasa CR. Tipagem molecular e suscetibilidade antifúngica de *Cryptococcus* isolados de pacientes em hospital universitário com investigação domiciliar [dissertação]. Campo Grande: Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. UFMG; 2011. 125 p.
12. Schaars CF, Meintjes GA, Morroni C, Pós FA, Maartens L. Outcome of AIDS-associated cryptococcal meningitis initially treated with 200 mg/day or 400 mg/day of fluconazole. *BMC Infect Dis*. 2006; 6: 118.
13. Larru B, Zaoutis TE. Newer antifungal agents. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25(1):110-115.
14. Pizani AT, Santos MO. Criptococose em pacientes HIV positivos: revisão sistemática da literatura. *Revista Saúde Unioledo*. 2017;1(1): 90-106.
15. Andrade Júnior FP, Teixeira APC, Oliveira WA, Lima EO, Lima IO. Estudo da associação do timol com anfotericina B contra *Rhizopus orizae*. *Periódico Tchê Química*. 2019;16(31): 156-163.
16. Sarto MPM, Zanusso Júnior G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Revista Uningá Review*. 2018;22(1).
17. Andrade Júnior FP, Alves TWB, Romano TKF, Medeiros FD. Potencial antibacteriano e antifúngico de extratos de *Anacardium occidentale*. *Periódico Tchê Química*. 2018;15(30): 313-321.

18. Sudipta J, Ray A, Banerjee A, Sahoo A, Nasim N, Sahoo S, Kar B, Patnaik J, Panda PC, Nayak S. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from leaves and rhizomes of *Curcuma angustifolia* Roxb. *Natural Product Research*. 2017;4(36).
19. Mouhi L, Moghrani H, Nasrallah N, Amrane A, Maachi R. Anti-inflammatory activity of essential oil of an endemic *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. with chemotype carvacrol, and its healing capacity on gastric lesions. *Journal of Food Biochemistry*. 2017; 41(3).
20. Polotoglu K, Karakoç OC, Yucel YY, Guçel S, Dermirci B, Dermirci F, Baser KHC. Insecticidal activity of *Salvia veneris* Hedge. Essential oil against coleopteran stored product insects and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera). *Industrial Crops and Products*. 2017;97: 93-100.
21. Govindarajan M, Rajeswary M, Senthilmurugan S, Vijayan P, Alharbi NS, Kadaikunnan, Khaled JM, Benelli G. Larvicidal activity of the essential oil from *Amomum subulatum* Roxb. (Zingiberaceae) against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae), and non-target impact on four mosquito natural enemies. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2018; 101: 219-224.
22. Soares BV, Neves LR, Ferreira DO, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EC, Gonçalves RA, Tavares-Dias M. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). *Veterinary Parasitology*. 2017;234: 49-56.
23. Bozovic M, Ragno R. *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its Main Essential Oil Constituent Pulegone: Biological Activities and Chemistry. *Molecules*. 2017;22(2).
24. Soares CB, Hoga LAK, Peduzzi M, Sangaleti C, Yonekura T, Silva DRAD. Integrative review: concepts and methods used in nursing. *Rev Esc Enferm USP*. 2014;48(2):335-345.
25. Queiroz EO. In vitro antifungal activity of essential oils of *Coriandrum sativum* L. (coriander) and *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) against strains of *Cryptococcus neoformans* [dissertação]. João Pessoa: Centro de Ciências da Saúde/UFPB; 2012. 46 p.
26. Cabral C, Miranda M, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Salgueiro L. Assessment of safe bioactive doses of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil from Portugal. *Nat Prod Res*. 2017;31(22):2654-2659.
27. Pinheiro LS. Antifungal activity in vitro of essential oil *Laurus Nobilis* L. (laurel) on strains *Cryptococcus neoformans* [dissertação]. João Pessoa: Centro de Ciências da Saúde/UFPB; 2014. 78 p.
28. Darughe F, Barzegar M, Sahari MA. Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. *International Food Research Journal*. 2012; 19(3): 1253-1260.
29. Vale-Silva L, Silva MJ, Oliveira D, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Salgueiro G, Pinto G. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp.

- virens with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. *J Med Microbiol.* 2012;61(2): 252-260.
30. Lemos JDA, Passos XS, Fernandes OFLF, Paula JR, Ferri PH, Souza LKH, Lemos AA, Silva MRR. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100(1): 55-58.
31. Nunes RT. Atividade biológica de óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* e *Thymus vulgaris* em isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* [dissertação]. Goiânia: Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública/ UFC; 2014. 78 p.
32. Santos PS. Avaliação in vitro da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Thymus vulgaris* e seus compostos químicos majoritários sobre *Cryptococcus neoformans* [dissertação]. São Paulo: Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo; 2016. 187 p.
33. Treméa CM. Atividade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba* e *Cymbopogon martini* sobre isolados do complexo *Cryptococcus neoformans* [dissertação]. Goiânia: Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro/UFG; 2015. 97 p.
34. Costa TR, Fernandes DE, Santos SC, Oliveira CM, Liao LM, Ferri PH, Paula JR, Ferreira HD, Sales BH, Silva MR. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *J Ethnopharmacol.* 2000;72(1): 111-117.
35. Wanas AS, Radwan MM, Mehmedic Z, Jacob M, Khan IA, Elsohly A. Antifungal activity of the volatiles of high potency *Cannabis sativa* L. against *Cryptococcus neoformans*. *Rec Nat Prod.* 2016;10(2): 214-220.
36. Matos FJA. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Edições UFC; 2000.
37. Joly AB. Bôtanica: Introdução á taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional; 2002.
38. Patrakar R, Mansuriya M, Patil P. Phytochemical and pharmacological review on *Laurus nobilis*. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences.* 2012;1(2): 595-602.
39. Zhong Wei Horticultura Products Company [homepage na internet]. *Laurus nobilis* seed [acesso em 11 jul 2020]. Disponível em: <http://www.cnseed.org/litsea-cubeba-seed.html>.
40. Evans WC. Orders and families of medicinal plants; animal-derived drugs. *Pharmacognosy.* 1996; 28-55.
41. Mendonça FAC, Silva KFS, Santos KK, Ribeiro Júnior KAL, Sant'ana AEG. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia.* 2005;76(7): 629-636.

42. Martins RM. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2006;8(2): 71-78.
43. Quintans-Júnior LJ. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. *Phytomedicine*. 2008;15(8): 619-624.
44. Oliveira WAD, Pereira FO, Luna GCDG, Lima IO, Wanderley PA, Lima RB, Lima EO. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor against *Candida albicans*. *Braz J Microbiol*. 2011;42(2): 433-441.
45. Naghibi F, Mosaddegh M, Motamed SM, Abdolbaset G. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2005;2: 63-79.
46. Ozcan M, Chalchat JC. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulg J Plant Physiol*. 2004;30(3): 68-73.
47. Lee SJ, Umano K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 2005;91(1): 131-137.
48. Khazaie HR, Nadjafi F, Bannayan M. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crops and Products*. 2008;27(3): 315-321.
49. Teixeira APC. et al. Atividade antifúngica do fitoconstituente timol frente às cepas de *Cryptococcus neoformans*. In: *Anais do Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, 10, 2015, Petrolina. Resumo*. Petrolina: Universidade Federal do Vale do São Francisco, p.31, 2015.
50. Nóbrega RDO, Teixeira AP, Oliveira WA, Lima EO, Lima IO. Investigation of the antifungal activity of carvacrol against strains of *Cryptococcus neoformans*. *Pharm Biol*. 2016;54(11): 2591-2596.
51. Hazekamp A. Doctoral thesis, Leiden University, Netherland, 2007.
52. Upton R, Craker L, Elsohly M, Romm A, Russo E, Sexton M. Cannabis inflorescence. *The American Herbal Pharmacopoeia*. 2013;61.
53. Lima SMG, Lima AF, Donazzolo J. Resgate do conhecimento popular e uso de plantas medicinais na promoção da saúde em Sananduva – RS. *Rev Bras Agroecologia*. 2007;2(1): 256-259.
54. Amaral EA, Silva RMG. Avaliação da Toxicidade Aguda de Angico (*Anadenanthera falcata*), pau-santo (*Kilmeyera coreacea*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e cipó-de-são-jão (*Pyrostegia venusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. *Revista Eletrônica da Pesquisa*. 2008;5(5): 1-16.

55. Orafidiya LO, Agbani EO, Iwalewa EO, Adelusola KA, Oyedapo OO. Studies on the acute and sub-chronic toxicity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. leaf. *Phytomedicine*. 2004;11(1): 71-76.
56. Silva LL, Heldwein CG, Reetz LGB, Horner R, Mallmann CA, Heinzmann BM. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. *Rev Bras Farmacogn*. 2010;20(5): 700-705.
57. Oliveira EED. Avaliação do efeito dos óleos essenciais de *Ocimum Gratissimum* e *Mentha x Villosa* em linhagem de células de adenocarcinoma humano de pulmão: citotoxicidade, ciclo celular e produção de TGF- β 1 [dissertação]. Juiz de Fora: Pós Graduação em Biologia/UFJF; 2015. 66 p.
58. Hollenbach CB. Estudo da toxicidade reprodutiva do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em ratos Wistar [tese]. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária/ UFRGS; 2013. 94 p.
59. Hollenbach CB, Bing RS, Stedile R, Mello FPS, Schuch TL, Rodrigues MRA, Mello FB, Mello JRB. Reproductive toxicity assessment of *Origanum vulgare* essential oil on male Wistar rats. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2015;43(1): 1-7.
60. Blank DE, Alves GH, Freitag RA, Correa RA, Hubner SO, Cleff MB. Composição química e citotoxicidade de *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L. *Science and Animal Health*. 2016;4(2): 117-130.
61. Soares BV, Morais SM, Fontenelle ROS, Queiroz VA, Vila-Nova NS, Pereira CM, Brito ES, Neto MA, Brito EH, Cavalcante CS, Castelo-Branco DS, Rocha MF. Antifungal activity, toxicity and chemical composition of the essential oil of *Coriandrum sativum* L. fruits. *Molecules*. 2012;17(7): 8439-8448.
62. Bogavac M, Karaman M, Janjusevic LJ, Sudji J, Radovanovic B, Novakovic Z, Simeunovic J, Bozin B. Alternative treatment of vaginal infection – in vitro antimicrobial and toxic effects of *Coriandrum sativum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *J. Appl. Microbiol*. 2015;119(3): 697-710.
63. Caputo L, Souza LF, Alloisio S, Cornara L, Feo V. *Coriandrum sativum* and *Lavandula angustifolia* Essential Oils: Chemical Composition and Activity on Central Nervous System. *Int J Mol Sci*. 2016;17(2).
64. Guimarães FDG. Avaliação da atividade microbiológica e citotóxica do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor [dissertação]. Juiz de Fora: Faculdade de Farmácia/UFJF; 2013. 76 p.
65. Sinha S, Biswas D, Mukherjee A. Antigenotoxic and antioxidant activities of palmarosa and citronella essential oils. *J Ethnopharmacology*. 2011;137(3): 1521-1527.
66. Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, Lilly P, Sanders J, Sipes G, Bracken W, Dorato M, Van Duen K, Smith P, Berger B, Heller A. Concordance of

the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2000;32(1):56-67.

67. Fuchs TC, Frick K, Emde B, Czasch S, von Landerberg F, Hewitt P. Evaluation of novel acute urinary rat kidney toxicity biomarker for subacute toxicity studies in preclinical trials. *Toxicol Pathol.* 2012;40(7): 1031-1048.