



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

LETÍCIA GREJO DE OLIVEIRA

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) NO TRATAMENTO AO ESTRESSE
OXIDATIVO NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Assis/SP

2021



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

LETÍCIA GREJO DE OLIVEIRA

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL
DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) NO TRATAMENTO AO
ESTRESSE OXIDATIVO NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA e a Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA, como requisito parcial à obtenção do Certificado de Conclusão.

Orientando(a): Letícia Grejo de Oliveira
Orientador(a): Dr^a Mary Leiva de Faria

Assis/SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

O48e OLIVEIRA, Letícia Grejo de
Estudo da atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim (*rosmarinus officinalis* L.) no tratamento ao estresse oxidativo na doença de Alzheimer / Letícia Grejo de Oliveira. – Assis, 2021.

61p.

Trabalho de conclusão do curso (Química Industrial)-
Fundação Educacional do Município de Assis-FEMA.

Orientadora: Dra. Mary Leiva de Faria

1.Alecrim-óleo essencial 2.Alzheimer-alecrim

CDD 581.634

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL
DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) NO TRATAMENTO AO
ESTRESSE OXIDATIVO NA DOENÇA DE ALZHEIMER

LETICIA GREJO DE OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal de
Ensino Superior de Assis, como requisito do
Curso de Graduação, avaliado pela seguinte
comissão examinadora:

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Leiva de Faria

Examinador: Prof^a. Me. Elaine Amorim Soares

Assis/SP
2021

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Laércio e Lucinei e a minha irmã, Luana que me acompanharam durante essa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a minha família, por ter me proporcionado chegar até aqui.

Aos meus amigos antigos e os da faculdade que me ajudaram diretamente e indiretamente durante esses quatro anos, e me acompanharam em todos os momentos de dificuldades e de conquistas.

À professora Mary Leiva de Faria, pela orientação e disponibilidade para me auxiliar durante o desenvolvimento do trabalho.

À professora Elaine Amorim Soares, ao Sérgio Cortez, Rafaella Lima Silva e Fernando Rodrigues pelo auxílio no desenvolvimento prático do trabalho.

A vida não é fácil para nenhum de nós. Temos que ter persistência e, acima de tudo, confiança em nós mesmos.

Marie Curie
1867- 1934

RESUMO

O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível que normalmente afeta os idosos devido ao mau processamento de algumas proteínas decorrente do envelhecimento natural, porém, há casos raros sobre o aparecimento dessa enfermidade em pessoas mais jovens associada aos hábitos não saudáveis adquiridos pela população. O Alzheimer precoce tem como principal responsável o estresse oxidativo, ou seja, o desequilíbrio entre compostos antioxidantes e oxidantes, no qual favorece o excesso de radicais livres no organismo, principal responsável pela morte de células. Em decorrência desse desequilíbrio, o Alzheimer se desenvolve quando o ataque desses radicais livres em excesso ocorre ao nível mitocondrial. A doença de Alzheimer (DA) está relacionada também à diminuição das taxas de acetilcolina (ACh) no processo sináptico. Dentre os tratamentos preventivos da doença de Alzheimer, o mais requerido internacionalmente em decorrência de não apresentar toxicidade ao corpo humano é o tratamento aromaterapico que consiste na aplicação de óleos essenciais extraído especialmente das plantas da família Lamiaceae. O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L) pode ser utilizado na prevenção do Alzheimer em decorrência da sua composição química, especialmente compostos terpênicos que atuam pela sua ação antioxidante ou pela inibição da acetilcolinesterase (AChE), que retarda a hidrólise catabólica da acetilcolina com o intuito de compensar a escassez da mesma nos terminais sinápticos. Desta forma, esse trabalho teve o objetivo de extrair e determinar a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim. Os procedimentos metodológicos utilizados consistiram em primeiramente extrair o óleo essencial do material botânico de alecrim por hidrodestilação em destilador do tipo Clevenger. A determinação da capacidade antioxidante foi realizada em triplicata pelo método de radical livre utilizando o reagente 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) na concentração de 60 μ M, em que 0,5 mL do óleo essencial foi homogeneizado com 3,9 mL do radical estável DPPH. Após o repouso de 30 minutos com a ausência de luz, a leitura foi feita em espectrofotômetro de UV a 515 nm utilizando o metanol como branco. O rendimento obtido na extração do óleo essencial de alecrim foi de 0,42%, calculado pela quantidade de óleo que se obteve com a massa de vegetal usada. O resultado obtido para a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim foi satisfatório, sendo a capacidade de redução de DPPH de $87,21 \pm 0,25$ no tempo de 30 minutos. Esse resultado comprova a potencialidade referente as espécies da família de *Lamiaceae*. Em relação à capacidade antioxidante, os resultados obtidos indicam que o óleo essencial de alecrim pode ser utilizado no tratamento da doença de Alzheimer, visto que o mesmo pode atuar inibindo o stress oxidativo, a principal causa para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Deve-se considerar, entretanto, a composição do óleo essencial visto que os fatores ambientais e de cultivo podem influenciar na capacidade antioxidante do mesmo.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo essencial, Alzheimer, Alecrim.

ABSTRACT

Alzheimer's is a progressive and irreversible neurodegenerative disease that usually affects the elderly due to poor processing of some proteins resulting from natural aging, however, there are rare cases of the appearance of this disease in younger people associated with unhealthy habits acquired by the population. Early Alzheimer's is mainly responsible for oxidative stress, that is, the imbalance between antioxidant and oxidant compounds, which favors the excess of free radicals in the body, which is mainly responsible for cell death. As a result of this imbalance, Alzheimer's develops when the attack of these excess of free radicals occurs at the mitochondrial level. Alzheimer's disease (AD) is also related to decreased levels of acetylcholine (ACh) in the synaptic process. Among the preventive treatments for Alzheimer's disease, the most required internationally as it does not present toxicity to the human body is the aromatherapy treatment, which consists of the application of essential oils extracted especially from plants of the Lamiaceae family. Rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L) can be used to prevent Alzheimer's due to its chemical composition, especially terpenic compounds that act by their antioxidant action or by inhibiting acetylcholinesterase (AChE), which delays the catabolic hydrolysis of acetylcholine with the aim of compensating for the scarcity of it at the synaptic terminals. So, this work aimed to extract and determine the antioxidant activity of rosemary essential oil. The methodological procedures used consisted of firstly extracting the essential oil from the rosemary botanical material by hydrodistillation in a Clevenger type distiller. The determination of the antioxidant capacity was carried out in triplicate by the free radical method using a reagent 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) at a concentration of 60 μ M, in which 0.5 mL of the essential oil was homogenized with 3.9 mL of the stable radical DPPH. After resting for 30 minutes in the absence of light, the reading was taken in a UV spectrophotometer at 515 nm using methanol as a blank. The yield obtained in the extraction of rosemary essential oil was 0.42%, calculated by the amount of oil obtained with the mass of vegetable used. The result obtained for the antioxidant activity of rosemary essential oil was satisfactory, with the capacity to reduce DPPH of 87.21 ± 0.25 in a time of 30 minutes. This result proves the potentiality regarding the species of *Lamiaceae* family. Regarding the antioxidant capacity, the results obtained indicate that rosemary essential oil can be used in the treatment of Alzheimer's disease, as it can act by inhibiting oxidative stress, the main cause for the development of neurodegenerative diseases. However, the composition of the essential oil must be considered, since environmental and cultivation factors can influence its antioxidant capacity.

KEYWORDS: Essential oil, Alzheimer's, Rosemary

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Desenhos feitos por Alois Alzheimer dosovelos neurofibrilares encontrados na August	17
Figura 2:	Patologias encontradas em August D.	18
Figura 3:	Diferentes regiões do cérebro, com destaque em vermelho para as áreas mais afetadas pela DA.....	20
Figura 4:	Estruturas dos principais inibidores de AChE aprovados para o tratamento da DA.....	22
Figura 5:	Possíveis conformações dos monômeros de A β e suas diferentes formas de agregação.....	24
Figura 6:	Neurônio saudável (A) neurônio de um paciente com DA (B).....	25
Figura 7:	Reações de produção de espécie reativa.....	28
Figura 8:	Estrutura dos principais antioxidantes utilizados no tratamento da DA.....	30
Figura 9:	Reação entre o radical livre e o antioxidante.....	31
Figura 10:	Alguns monoterpenos de ocorrência em óleos essenciais.....	33
Figura 11:	Alguns sesquiterpenos e fenilpropanoides de ocorrência em óleos essenciais.....	34
Figura 12:	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	35
Figura 13:	Alguns monoterpenos encontrados no óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	36
Figura 14:	Ácido carnósico e diterpenos do tipo abietano relacionados de alecrim.....	38
Figura 15:	Exemplos de monoterpenos, fenilpropanóides e sesquiterpenos encontrados nos óleos essenciais.....	40
Figura 16:	Destilador feito com materiais alternativos.....	46
Figura 17:	Destilador de óleos essenciais do tipo Clevenger.....	48
Figura 18:	Óleo essencial de Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>) no início e final da extração.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos encontrados no óleo essencial de alecrim.....	37
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DA – Doença de Alzheimer

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	DOENÇA DE ALZHEIMER.....	17
2.1	HIPÓTESE COLINÉRGICA.....	21
2.1.1	Inibidores da acetilcolinesterase (AChE).....	22
2.2	HIPÓTESE DA CASCATA AMILOIDE.....	23
2.2.1	Inibidores de Secretases.....	25
2.3	STRESS OXIDATIVO (HIPÓTESE METÁLICA).....	25
2.3.1	Antioxidantes.....	29
3.	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	32
3.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	32
3.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	33
4.	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	35
5.	Óleos Essenciais no Tratamento de Alzheimer.....	39
6.	Aromas na Sala de Aula: uma proposta para o ensino médio.....	43
6.1	INTRODUÇÃO A AULA INTERDICPLINAR SOBRE AROMAS.....	44
6.1.1	Extração de Óleos Essenciais.....	44
6.1.2	Materiais.....	45
6.1.3	Procedimento Experimental.....	45
7.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
7.1	MATERIAIS.....	47
7.1.1	Alecrim.....	47
7.1.2	Equipamentos.....	47
7.2	MÉTODOS.....	47
7.2.1	Extração do óleo essencial.....	47
7.2.2	Determinação da capacidade antioxidante através do método de sequestro de Radicais Livres (DPPH⁺).....	48

7.2.2.1	Calculo da atividade antioxidante.....	49
8.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
8.1	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	51
8.2	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM.....	52
9.	CONCLUSÃO.....	53
10.	REFERÊNCIAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença que afeta principalmente os idosos, sendo responsável por 50-60% dos casos de demência em pessoas acima de 65 anos de idade. Foi descrita pelo médico Alois Alzheimer em 1901, ao observar as condições neuropsicológicas de uma paciente de 51 anos de idade. O médico encontrou, após efetuar a autópsia, a formação de placas e emaranhados no cérebro, que passaram a constituir a principal característica da doença (CARDOSO; COZZOLINO, 2009; SOUZA et. al, 2012).

Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível que normalmente afeta os idosos devido ao mau processamento de algumas proteínas decorrente do envelhecimento natural, porém, há casos raros sobre o aparecimento dessa enfermidade em pessoas mais jovens associada aos hábitos não saudáveis adquiridos pela população. O Alzheimer precoce tem como principal responsável o estresse oxidativo, ou seja, o desequilíbrio entre compostos antioxidantes e oxidantes, no qual favorece o excesso de radicais livres no organismo, principal responsável pela morte de células (BARBOSA et. al, 2010). Em decorrência desse desequilíbrio, o Alzheimer se desenvolve quando o ataque desses radicais livres em excesso ocorre ao nível mitocondrial (ECYCLE, 2015).

Os métodos de prevenção envolvem atividades físicas, estímulo mental e uma dieta saudável e rica em antioxidantes, como a vitamina C e E, os quais são importantes pois são capazes de inibir o ataque dos radicais livres e consequentemente proteger a oxidação de células sadias. Além disso, existem medicamentos que prometem o retardo da doença ou sua estabilidade e colaboram para a maior vivência da pessoa diagnosticadas com o Alzheimer (CORREIA et. al, 2015).

Atualmente vem sendo desenvolvidos estudos sobre terapia mental utilizando aromatizantes que auxiliam a combater o estresse oxidativo. A aromaterapia pode ser feita através de óleos essenciais extraídos de produtos naturais

aplicados por via oral, aromática ou aplicação tópica, de forma que, ao consumirmos, as células são estimuladas e geram um impulso, o qual é encaminhado para o sistema límbico, ou seja, parte do cérebro relacionada a memória. A eficácia do tratamento aromaterápico varia de acordo com a qualidade do óleo essencial e adequação do mesmo com uma doença específica (PRICE, 1999). Existem diversas essências com aplicações diferentes, para o tratamento da doença de Alzheimer (DA), sendo que as mais utilizadas são a base de *Salvia rosmarinus* e *Melissa officinalis*, comumente conhecidos respectivamente por alecrim e erva-cidreira (TORRES, 2017).

Com o propósito de demonstrar os benefícios decorrentes da aromaterapia no tratamento de doenças degenerativas causadas por estresse oxidativo, como o Alzheimer, esse trabalho tem o objetivo de extrair e determinar a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), bem como descrever como esse óleo essencial atua no tratamento dessa enfermidade.

2. DOENÇA DE ALZHEIMER

O Alzheimer é uma doença que afeta normalmente os idosos e ocasiona a demência. Seu nome foi mencionado pela primeira vez por volta de 1907 como homenagem ao Alois Alzheimer, psiquiatra e neuropatologista alemão, que se dedicou ao caso de August Deter, uma mulher de 51 anos que apresentava sintomas de demência e oscilações de humor. Auguste era considerada saudável exceto pelos exames neurológicos que apresentavam pequenas anomalias, como as mostradas nas figuras 1 e 2. Após quatro anos ela veio a óbito e em sua autopsia Alois Alzheimer pode notar as semelhanças cerebrais da jovem com as de um idoso com demência senil (SAYEG, 2020).

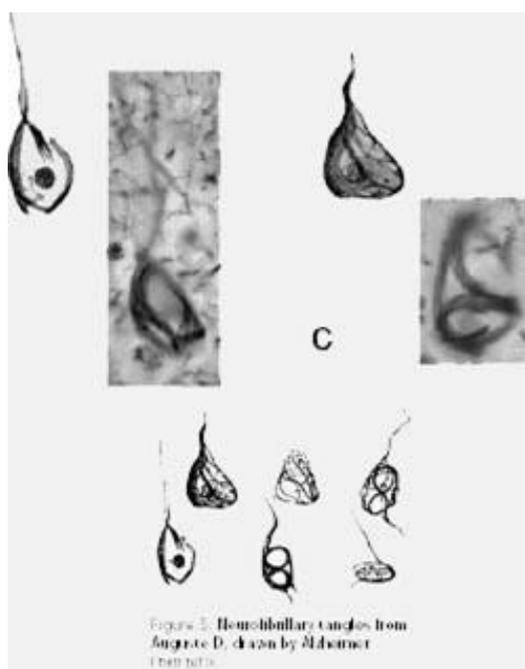


Figura 1 - Desenhos feitos por Alois Alzheimer dos novelos neurofibrilares encontrados na August (SAYEG, 2020)

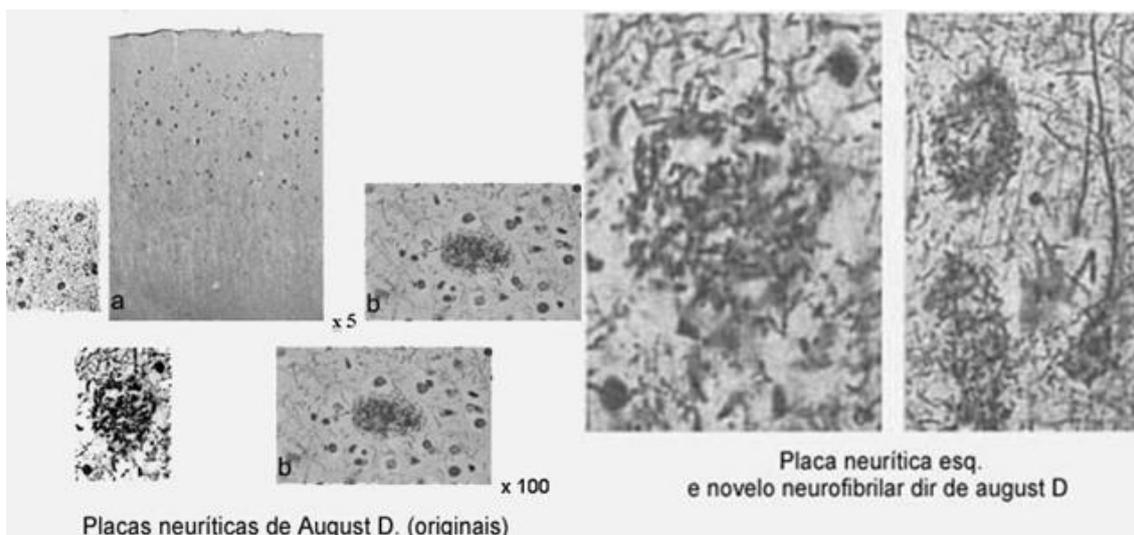


Figura 2 - Patologias encontradas em August D. (SAYEG, 2020)

No decorrer de um ano, o médico pôde estudar mais casos com os mesmos relatos de August Deter, confirmando assim suas teorias de que existia uma doença neurodegenerativa que afetava áreas do cérebro gradativamente. Com os dados levantados e comprovados ele publicou os casos de seus pacientes estudados e no ano posterior surgiu o termo “doença de Alzheimer” (SAYEG, 2020).

Com o passar dos anos a Doença de Alzheimer passou a ser classificada em relação ao seu tempo de início. Sendo assim, uma pessoa com os sintomas da doença que possui menos de 65 anos é rotulada como demência pré-senil ou de início precoce. Já a DA em idosos, que possuem mais de 65 anos, é considerada como demência senil ou de início tardio e acomete cerca de 80% dos pacientes (CARDOSO; COZZOLINO, 2009, DE FALCO, et al., 2016).

O principal fator de risco é a idade, sendo que o risco de aparecimento da mesma vai de 0,7% dos 60 a 64 anos de idade para 40% em torno de 90 a 95 anos (FORLENZA, 2005). Quando a mesma afeta as pessoas com menos de 65 anos, geralmente está associada à hereditariedade ou ao estresse oxidativo ocasionado pelo cotidiano. No primeiro caso o início precoce está relacionado a mutações ocorrentes nos genes que causam alterações proteicas. Já no caso do estresse oxidativo, os radicais livres

causam danos celulares através de peroxidação lipídica, além de oxidação proteica e do DNA (CARDOSO; COZZOLINO, 2009; SOUZA et. al, 2012).

A DA evidencia-se pelo distúrbio progressivo da memória e outras funções cognitivas, prejudicando o desempenho funcional e social. A aquisição de novas informações é diminuída, piorando progressivamente até que não haja aprendizado novo. No estágio avançado da doença observa-se a tríade afasia, apraxia e agnosia, que se caracteriza pela perda da fala, da capacidade de nomear pessoas e objetos, bem como de desempenhar tarefas. Essas mudanças cerebrais e comportamentais afetam o social do paciente, visto que as funções mentais superiores são base para as outras funções. Dessa forma os processos de aprendizado serão afetados, o que acarreta a má desenvoltura de atividades básicas cotidianas e por esse motivo a maioria dos pacientes acaba precisando de ajuda de um cuidador, que auxilia o paciente a desenvolver suas tarefas diárias. Esse trabalho acaba sendo dificultado por outras das características que 75% dos casos de pessoa com Doença de Alzheimer apresentam, que são as alterações psíquicas, comportamentais, do humor e do sono, agitação psicomotora e agressividade, que acabam exigindo medicação pontual para eliminar esses sintomas (TAMAI, 2002; FLORENZA, 2005).

O diagnóstico da doença de Alzheimer (DA) apresenta características neuropatológicas e neuroquímicas marcantes, e só pode ser realizado por meio de exames no tecido cerebral por biópsia ou necropsia. Portanto, a identificação ocorre em grande parte, por exclusão, de acordo com o histórico médico do paciente e outros exames como o de sangue, tomografia ou ressonância, em que se identificam múltiplos infartos e hidrocefalia (SERENIKIL, VITAL, 2008).

As patologias decorrentes da DA incluem a perda neuronal e dendrítica; neuritos distróficos e atrofia do hipocampo; degeneração neurovascular; presença de placas senis extracelulares constituídas de agregados filamentosos da proteína β -amiloide ($A\beta$) e formação de massas (emaranhados) neurofibrilares intracelulares, que se formam a partir do colapso do citoesqueleto neuronal, decorrente da hiperfosforilação da proteína TAU. Essa alteração favorece a formação de agregados que impedem a passagem

de proteínas neurotróficas e funcionais, o que gera a perda no transporte axonal e dendrítico nos neurônios, que seriam sequencialmente a perda no transporte de nutrientes e informações neuronais (CASTELLANI; ROLSTON; SMITH, 2011). As placas senis decorrem do metabolismo anormal da proteína precursora do amiloide (APP), que leva à formação de agregados do peptídeo β -amilóide (FORLENZA, 2005).

Verificam-se as placas senis e os emaranhados neurofibrilares desde o início da doença, em estruturas do lobo temporal medial, englobando o hipocampo e o giro para-hipocampal, tidas como estruturas primordiais para os processos de memória. A medida que a doença vai evoluindo, o processo degenerativo se dissemina para o neocórtex de associação, abrangendo áreas cerebrais responsáveis por outros processos cognitivos (FORLENZA, 2005; LIMA, 2008)

As placas e massas decorrentes da DA estão localizadas nas áreas cerebrais, principalmente nas amídalas cerebelosas, no hipocampo e no córtex entorrinal do lóbulo temporal. Já as regiões, frontais e parietais do córtex associativo são as menos afetadas. A figura 3 mostra as diferentes regiões do cérebro, estando as áreas mais afetadas pela DA em destaque (DE FALCO et al., 2016).

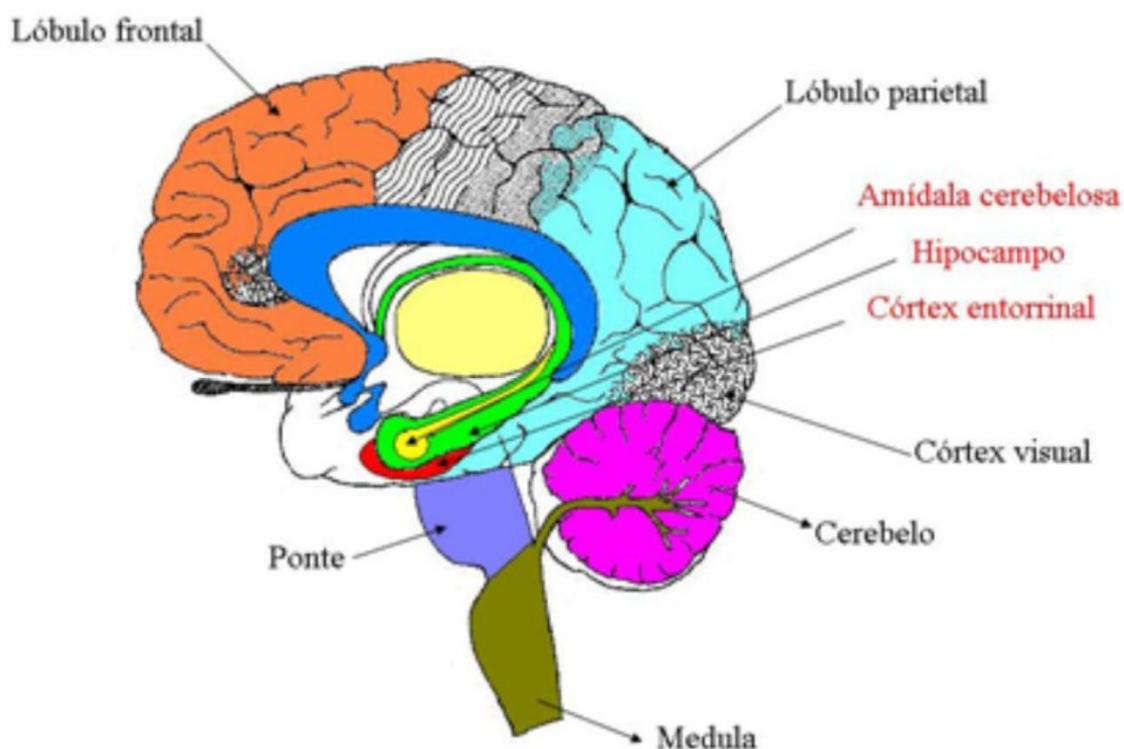


Figura 3 – Diferentes regiões do cérebro, com destaque em vermelho para as áreas mais afetadas pela DA (In: DE FALCO et al., 2016, p 64).

Desde o descobrimento da doença até os dias atuais, os estudos a respeito dessas características neuropatológicas da DA tem se desenvolvido de acordo com o avanço tecnológico, na tentativa de explicar a etiologia da doença. Dessa forma, surgiram diversas hipóteses importantes para a compreensão das causas para o desenvolvimento da doença de Alzheimer e as principais são a hipótese colinérgica, a cascata de amiloide e o stress oxidativo (hipótese metálica) (SERENIKL; VITAL, 2008).

2.1 HIPÓTESE COLINÉRGICA

Foi a primeira hipótese estudada, desenvolvida com base na disfunção amnésica do idoso no início da década de 80. A etapa colinérgica é a mais importante para os processos de aprendizagem e memória, dessa forma, muitos estudos foram desenvolvidos para descobrir quais eram as mudanças ocorrentes nessa região com o aparecimento da doença de Alzheimer. Os estudos demonstraram que as mudanças consistiam diminuição da colina acetiltransferase (ChAT), enzima responsável pela síntese da acetilcolina (ACh), no córtex e no hipocampo, bem como uma redução variável dos neurônios colinérgicos situados no núcleo basal de Meynert. Desta forma, em nível celular, a DA está relacionada à diminuição das taxas de acetilcolina (ACh) no processo sináptico. Esta redução tem como consequência uma diminuição da neurotransmissão colinérgica cortical, bem como de outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina e glutamato, surgindo as disfunções neuroquímicas e sinápticas (LIMA, 2008; DE FALCO et. al., 2016).

A acetilcolinesterase (AChE) hidrolisa a acetilcolina e regula, desta forma, a atividade e permanência da acetilcolina na fenda sináptica. Segundo Lima (2008, p. 79), “o fundamento da hipótese colinérgica está relacionado à capacidade de fármacos potencializadores da função colinérgica central induzirem melhora do perfil cognitivo da doença”.

2.1.1 Inibidores da acetilcolinesterase (AChE)

Os anticolinesterásicos são os agentes mais promissores da doença de Alzheimer, pois os mesmos atuam na fenda sináptica inibindo a Acetilcolinesterase (AChE) e com isso retardam a degradação metabólica da acetilcolina, disponibilizando esse neurotransmissor para a comunicação entre as células, o que aumenta a capacidade desse neurotransmissor em estimular os receptores nicotínicos e muscarínicos cerebrais. Os compostos presentes nessa classe terapêutica de drogas que apresenta melhoras nos sintomas cognitivos da doença são a Galantamina, Donepezila, Tacrina e Rivastigmina, representados na figura 4 e apresentam efeitos sobre o retardo na progressão da disfunção cognitiva. Ao total são quatro medicamentos aprovados pela Administração Federal de Alimentos e Medicamentos americana (FDA) e apresentam melhorias em aproximadamente 30 a 40% dos pacientes no início da doença (SERENIKIL, VITAL, 2008; GABRIEL, 2019; DE FALCO et. al., 2016).

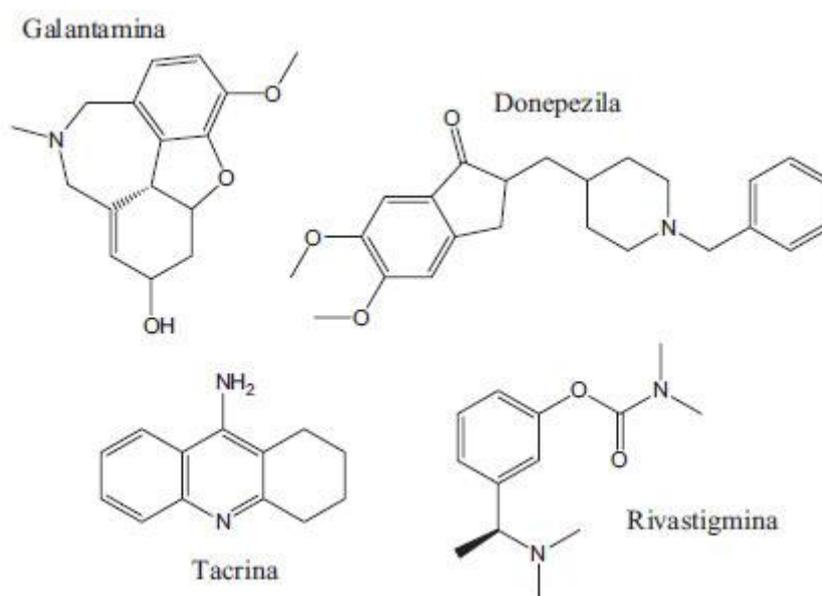


Figura 4 - Estruturas dos principais inibidores de AChE aprovados para o tratamento da DA (In: DE FALCO et al., 2016, p. 71).

Além desses inibidores já aprovados, outras drogas como o Metrifonato, e a huperzona A estão sendo analisados (MINETT; BERTOLUCCI, 2000).

Os efeitos dessas drogas representadas na figura 4, não foram determinados em longo prazo e são liberados apenas para o tratamento da doença em níveis primários, exceto a donepezila que pode ser utilizada para o tratamento com a presença de sintomas severos, porém são almejadas em decorrência de sua intervenção no processo degenerativo que impede a propagação da cascata de eventos que acarretam a morte neuronal (GABRIEL, 2019).

Pesquisas voltadas para a seleção de plantas com atividade anticolinesterásica para o tratamento da DA estão sendo efetuadas atualmente no Brasil. Essas pesquisas têm o objetivo de reduzir custos de produção dos princípios ativos, bem como a redução dos efeitos colaterais apresentados pelas drogas sintéticas comercializadas (DE FALCO et al., 2016).

2.2 HIPÓTESE DA CASCATA AMILOIDE

Essa tem sido a hipótese dominante nos últimos vinte anos, todas as outras hipóteses como a oligomérica e a metálica podem ser consideradas extensões da mesma (DE FALCO et al. 2016).

De acordo com essa hipótese desenvolvida em 1992, a fim de explicar as formas genéticas da Doença de Alzheimer, a neurodegeneração na doença de Alzheimer se inicia com o aumento da quebra das ligações peptídicas da proteína precursora amiloide (APP). Esse processo, nomeado de clivagem proteolítica, tem como produto principal o peptídeo β -amilóide ($A\beta$), que seria o responsável por iniciar uma cascata de eventos tóxicos que conduzem à formação de placas senis e a neurodegenerescência como a hiperfosforilação da Tau, proteína solúvel associada aos microtúbulos que está presente em uma subunidade dos filamentos helicoidais emparelhados encontrados nos emaranhados observados no córtex dos afetados pela DA. Em sua forma hiperfosforilada se torna um polímero insolúvel filamentosos (GABRIEL, 2019).

A clivagem da proteína precursora amilóide (APP) em diferentes lugares é efetuada por duas secretases, a γ -secretase e a β -secretase. Essa clivagem origina fragmentos de $A\beta$ de diferentes tamanhos, com 40 e 42 resíduos, respectivamente: $A\beta$ 1-40 e $A\beta$ 1-42. Embora ambos sejam capazes de se

agregar e gerar protofibrilas, fibrilas e, por fim, placas insolúveis, o fragmento A β 1-42, mais hidrofóbico, apresenta maior potencial amiloidogênico. O peptídeo A β pode ser encontrado de diversas formas: em forma de monômeros, de estruturas constituídas de dímeros e de trímeros, que irão gerar as denominadas arquiteturas “monoméricas ou oligoméricas” e na forma de “protofibrilas”, que retratam as estruturas de classe intermediária entre os agregados descritos e as fibrilas presentes nas placas senis (figura 5). O agrupamento de monômeros A β se inicia com a dimerização do peptídeo, gerando oligômeros fibrilares que, posteriormente polimerizam-se para formar fibrilas amilóides maduras. Oligômeros pré-fibrilares, formados por esse mesmo dímero, geram depois protofibrilas, as quais podem sofrer uma mudança conformacional em bloco para formar fibrilas amilóides. A dimerização dos monômeros A β podem ser mediados por biometais, como o cobre, gerando pequenos oligômeros de A β -Cu, que provavelmente levam a formação de agregados maiores (DE FALCO et al. 2016).

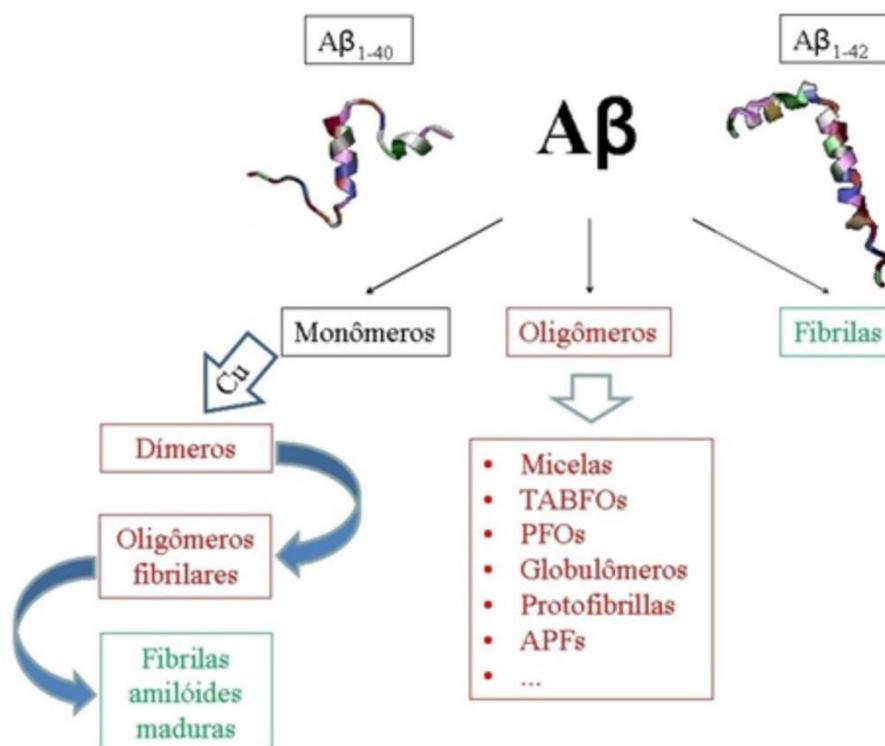


Figura 5 - Possíveis conformações dos monômeros de A β e suas diferentes formas de agregação (In: DE FALCO et al., 2016, p. 65)

Dentre as espécies oligoméricas estão incluídos os agregados desordenados, as micelas, as protofibrilas, os agregados pré-fibrilares, oligômeros fibrilares tóxicos de A β (TABFOs - do inglês, Toxic Amyloid-Beta Fibrillar Oligomers), os ligantes amiloides difusíveis, os oligômeros pré-fibrilares (PFOs - do inglês, Prefibrillar Oligomers), os globulômeros e protofibrilas anulares (APFs - do inglês, Annular Protofibrils). Os estados de aglomeração de maior toxicidade parecem ser os oligômeros e as protofibrilas (DE FALCO et al. 2016).

A deposição de peptídeos β -amilóide, ocorre nos lobos temporais, região do hipocampo e córtex, que compromete a neurotransmissão colinérgica. Com a evolução desse aumento na produção dessa proteína insolúvel ocorrem as reações gliais inflamatórias, oxidativas e o comprometimento do citoesqueleto levando a duas das patologias da DA ocorrentes nos neurônios, a formação de emaranhados neurofibrilares e a transformação das placas senis em neuríticas, responsável pela amiloide cerebrovascular (SERENIKL, VITAL, 2008; FORLENZA, 2005). Pode-se notar a diferença entre um neurônio saudável com o de uma pessoa com a doença de Alzheimer na figura 6.

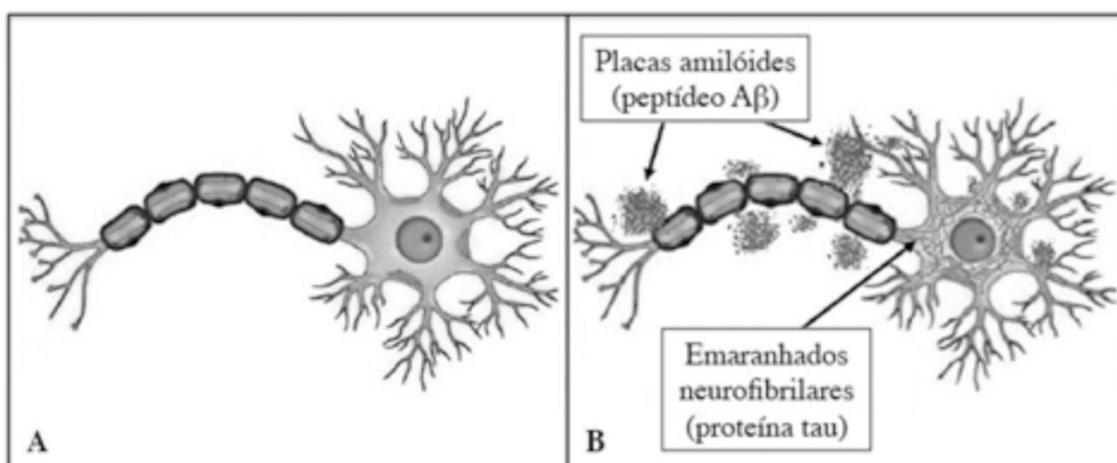


Figura 6 - Neurônio saudável (A) neurônio de um paciente com DA (B). (In: DE FALCO, et al., 2016, p. 65).

Outra derivação dessa hipótese confirma que a secreção e a deposição de A β e a agregação das placas estão relacionadas ao estresse oxidativo. Dessa forma as placas amiloides não são a única causa da doença, pois a mesma é

influenciada por outros fatores como a desregulação da homeostase metálica (RIBEIRO, 2010).

2.2.1 Inibidores de Secretases

Uma alternativa utilizada para o tratamento da doença de Alzheimer é a diminuição da produção do peptídeo A β (APP) obtido pela estimulação da via α -secretase e pela redução na atividade das β (BACE) e γ secretases que são a via amiloidognênica da clivagem proteolítica da APP. Esse tratamento tem como base os efeitos de anti-inflamatórios como o ibuprofeno, indometacina e sulindac que transformam a A β em um peptídeo menor e não neurotóxico (SERENIKL, VITAL, 2008; GABRIEL, 2019).

2.3 STRESS OXIDATIVO (HIPÓTESE METÁLICA)

O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e o sistema oxidante do organismo, sendo essa a principal causa para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Em razão ao alto consumo de oxigênio, presença de ácidos graxos poli-insaturados e baixas taxas de enzimas antioxidantes, o sistema nervoso central é considerado mais vulnerável aos danos ocasionados pelos radicais livres. Por essa razão o aparecimento de doenças neuronais é mais propenso que outras (CARDOSO; COZZOLINO, 2009; SOUZA et al., 2012).

Os radicais livres são produzidos naturalmente durante o funcionamento das células em organismos aeróbicos ou por alguma disfunção biológica. A maior parte deles reagem e são removidos pelas defesas antioxidantes da célula, que são as enzimas e moléculas não enzimáticas. Quando em nível equilibrado os radicais são benéficos visto que estão envolvidos em processos fisiológicos de regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológica. No entanto, caso a produção de radicais seja maior que a de defesas ocorrerá a oxidação de moléculas como lipídios celulares,

proteínas e DNA danificando as mesmas (ANDRADE et al., 2013; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Esse ataque do sistema oxidante ocorre pelo fato de que os radicais são moléculas extremamente instáveis e reativas pela presença de elétrons desemparelhados na última camada. Portanto, ao reagir com outras moléculas com o intuito de tomar o elétron da mesma, os radicais provocam uma reação em cadeia em que a molécula atacada é convertida em radical livre e passa a atacar outras moléculas a fim de recuperar seu elétron. Desse processo ocorre o aparecimento de produtos tóxicos para a célula, disfunção mitocondrial, inflamações e defeitos nas proteínas que dão origem a diversas patologias como choque hemorrágico, câncer, Alzheimer, infarto do miocárdio, acidentes vasculares cerebrais (AVC) e Parkinson (ABREU; FERREIRA, 2007; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A hipótese metálica indica que os íons metálicos endógenos que possuem atividade redox como o cobre (II), ferro (III) e íons como o zinco (II) contribuem para a evolução de doenças neurodegenerativas, pois favorecem a agregação e aumentam a toxicidade de beta amiloide ($A\beta$). Dessa forma, estudos a partir dessa hipótese indicam que estes biometais seriam capazes de induzirem ao aumento do estresse oxidativo no cérebro a partir de reações de Haber-Weiss e Fenton, representadas na figura 7. Nessas reações ocorre a formação das mais abundantes espécies reativas que possuem o elétron desemparelhado localizado entre os átomos de oxigênio denominadas EROs, ou entre os átomos de Nitrogênio, os ENOs. A oxidação de biomoléculas catalisadas por ferro a partir da reação de Fenton, por exemplo, gera anormalidades no RNA causando redução na síntese proteica, uma das anormalidades encontradas com o aparecimento da Doença de Alzheimer (FALCO et al., 2016).

Reação de Haber-Weiss:



Reação de Fenton:



Figura 7 - Reações de produção de espécie reativa (In: FALCO, et al, 2016, p. 66).

Esses radicais livres são capazes de causar diversos danos. Entre eles, a hidroxila ($\text{HO}\cdot$) classificada como ERO, é o mais reativo e ataca as biomoléculas causando danos no RNA e DNA, nas proteínas, lipídios, membranas celulares do núcleo e membrana mitocondrial, além desse grupo radicalar, também são considerados como ERO o superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$); peroxila ($\text{ROO}\cdot$); alcóxila ($\text{RO}\cdot$); e os não-radicalares como oxigênio, peróxido de hidrogênio e o ácido hipocloroso. Os compostos presentes no grupo de ERN são o óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), produzido nos tecidos biológicos; óxido nitroso (N_2O_3); ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-). Grande parte desses radicais, assim como a hidroxila, são tóxicos quando em desequilíbrio com os agentes antioxidantes (ABREU; FERREIRA, 2007; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Em decorrência do envolvimento patogênico de biometais com a DA, a hipótese metálica está sendo amplamente estudada. Diversas pesquisas indicam que o zinco e o cobre competem na agregação dos resíduos de beta amilóide, e além disso conduzem ao acúmulo de biometais dentro dos neurônios, causando danos oxidativos e neurodegeneração. Desse modo, a partir do momento que os biometais, como o ferro, se ligam aos emaranhados neurofibrilares eles induzem ao estresse oxidativo, reafirmando o envolvimento e a importância da determinação de metais em amostras biológicas de pessoas com a doença de Alzheimer (FALCO et al., 2016).

Em geral as causas para o aumento oxidativo também estão relacionadas aos maus hábitos adquiridos pela população, como a inalação de produtos químicos como, exposições à radiação ultravioleta, sedentarismo, dietas pouco saudáveis e conseqüentemente hipercalóricas. Por esse motivo, estudos indicam que a mudança nos hábitos como a ingestão de produtos antioxidantes tem ação positiva em relação ao combate ao estresse oxidativo, apresentando menor relato de morte neuronal e prevenção dos ataques a proteínas hiperfosforilada, sendo assim a indicação é de que seja feita a ingestão de antioxidantes para reduzir ou impedir a instalação das demências (CARDOSO; COZZOLINO, 2009; SOUZA et al., 2012).

2.3.1 Antioxidantes

Dentre os possíveis inibidores dos efeitos causados pela proteína A β estão os antioxidantes lipofílicos, como o α -tocoferol, as vitamina C e E, o ácido α -lipóico (ALA) e os polifenóis. A estrutura molecular de alguns desses compostos estão apresentadas na figura 8. Estudos indicam que uma dieta rica em ácido α -lipóico, uma co-enzima mitocondrial com ações diretas e indiretas de antioxidantes, apresenta melhorias no desempenho cognitivo, diminuição da carga amiloide e também reduz os danos oxidativos. Os polifenóis são considerados agentes neuroprotetores que reduzem a agregação do peptídeo A β e possuem a capacidade de eliminar os radicais livres. Dentre os polifenóis destacam-se os flavonoides, que agem como protetores das células neuronais contra a neurotoxicidade causada pelo estresse oxidativo. Já os nitrofenóis são capazes de inibir a agregação amiloidal e provocar a desagregação das fibras amiloidais já formadas (SERENIKL, VITAL, 2008; DE FALCO et al., 2016).

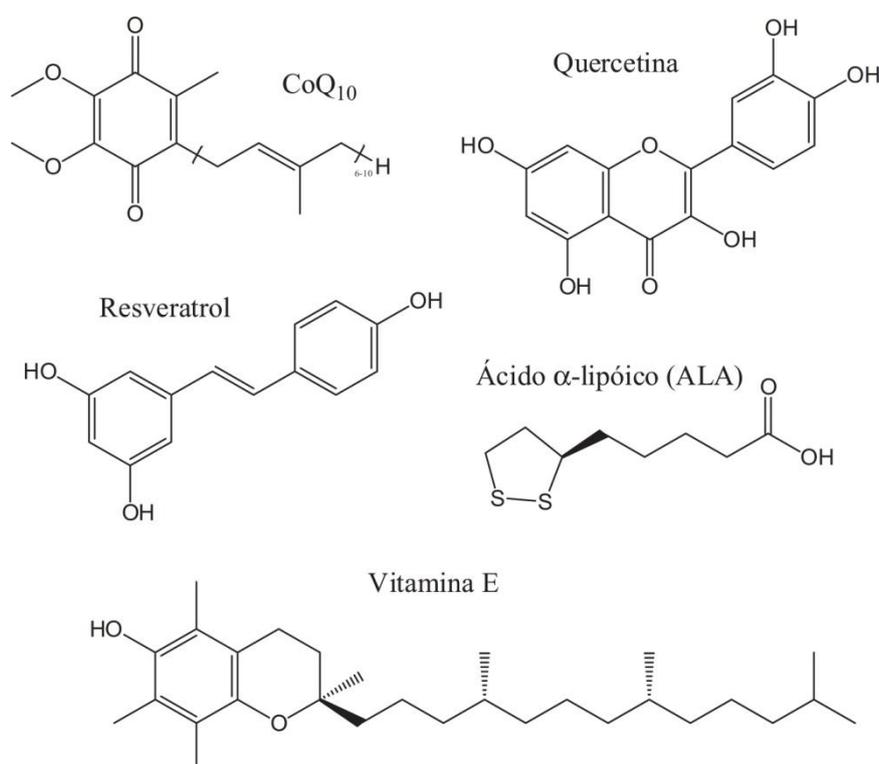


Figura 8 - Estrutura dos principais antioxidantes utilizados no tratamento da DA (In: DE FALCO et al., 2016, p. 74)

As propriedades protetivas e ação no processo oxidativo dos antioxidantes depende da sua classificação que pode ser dividida entre primária e secundária. Nas propriedades protetivas primárias os compostos antioxidantes conseguem estabilizar os radicais livres devido a doação de átomos, podendo ser elétrons ou hidrogênios. Já na secundária estes compostos são capazes de retardar a reação dos radicais por diversos mecanismo como a complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos, levando a formação de espécies não radicais e por absorção da radiação ultravioleta. Um exemplo de como ocorre a reação entre radical e antioxidante presente na semente da uva pode ser observada na figura 9 (DE FALCO et al., 2016).

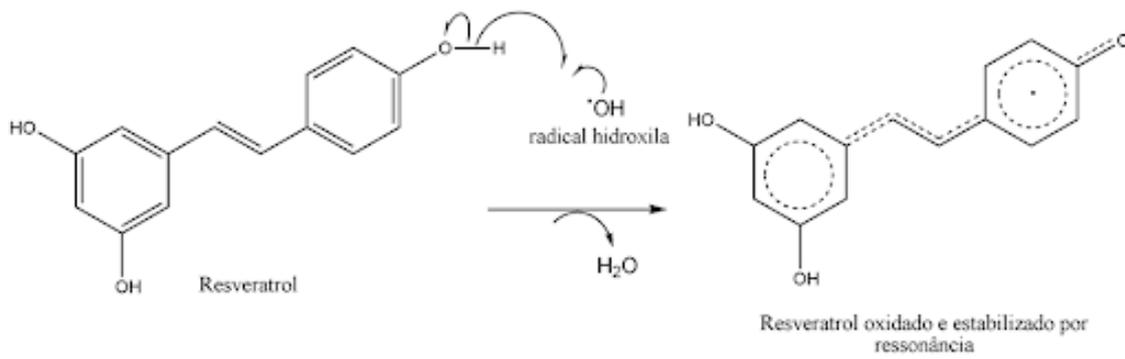


Figura 9 - Reação entre o radical livre e o antioxidante (In: D'AVILA, 2020).

O radical livre é estabilizado pelo antioxidante que passa a ser um radical, porém diferentemente do outro, ele é altamente estável devido a ressonância dos elétrons presentes no anel benzênico, que dá estabilidade a molécula (D'AVILA, 2020).

3. ÓLEOS ESSENCIAIS

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

Os óleos essenciais são produtos aromáticos naturais e biodegradáveis que apresentam baixa toxicidade aos mamíferos e fazem parte de todo o reino vegetal. Sua produção ocorre por meio das células secretoras ou grupo de células nas glândulas especiais da planta denominadas tricomas, geralmente para fins de proteção ou maior reprodução do vegetal (ÉVORA, 2015; SILVEIRA et al., 2012).

São caracterizados como metabólitos secundários de baixo peso molecular, e como substâncias oleosas, solúveis em solventes orgânicos, normalmente de densidade menor que a da água, voláteis e que exalam aroma, sendo por essa razão também conhecidos como compostos aromáticos. Uma pequena fração da composição das plantas aromáticas é composta pelos óleos essenciais que podem ser utilizados em indústrias alimentar, cosmética, biotecnológica e farmacêutica, sendo que neste último caso os óleos essenciais passam a ser nomeados como fármacos aromáticos (ÉVORA, 2015; SCHERER et al., 2009).

Dentre as famílias botânicas, as principais produtoras de óleos essenciais são as *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Geraniaceae*, *Lamiaceae*, *Pineaceae*, *Rutaceae*, e *Verbenaceae*. Esses óleos podem ser extraídos das raízes, rizomas, caules, cascas, folhas, flores, frutos e sementes (ÉVORA, 2015).

A utilização desses óleos vem sendo estudada nas últimas décadas a partir da junção entre o uso da medicina popular milenar com a medicina moderna. Dessa forma, a procura por substâncias biologicamente ativas para aplicação como ingredientes funcionais em formulações de produtos alimentícios e cosméticos, por exemplo, tem gerado grande aceitação do uso de óleos essenciais pelos consumidores em decorrência das propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, além da substituição dos

produtos sintéticos e tóxicos por esses produtos naturais (ÉVORA, 2015; SCHERER et al., 2009).

3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Diversos compostos podem estar presentes nos óleos essenciais, em decorrência dos diversos fatores que influenciam a biossíntese de compostos voláteis. Dentre os constituintes químicos dos óleos pode-se citar os hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, fenilpropanoides, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas (SILVEIRA et al., 2012).

As substâncias mais encontradas em óleos essenciais são os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Os diterpenos são encontrados apenas em óleos voláteis extraídos com solventes orgânicos. Os monoterpenos podem ser classificados como acíclicos (linalol), monocíclicos (α -terpineol) e bicíclicos (α -pineno) (figura 10) (SIMÕES et al, 200).

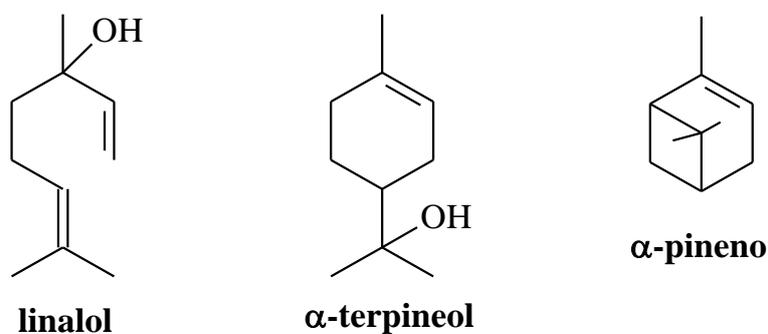


Figura 10 – Alguns monoterpenos de ocorrência em óleos essenciais (In: SIMÕES et al., 2000, p. 391).

Os sesquiterpenos são classificados em estrutura acíclica (nerolidol), monocíclica (ácido abscísico) ou bicíclica (β -selineno) (figura 11). Além desses compostos existem os fenilpropanóides que são compostos de natureza fenólica como o safrol e o anetol (figura 11) também encontrados nos óleos essenciais (ÉVORA, 2015; SILVEIRA et al., 2012; SIMÕES et al., 2000).

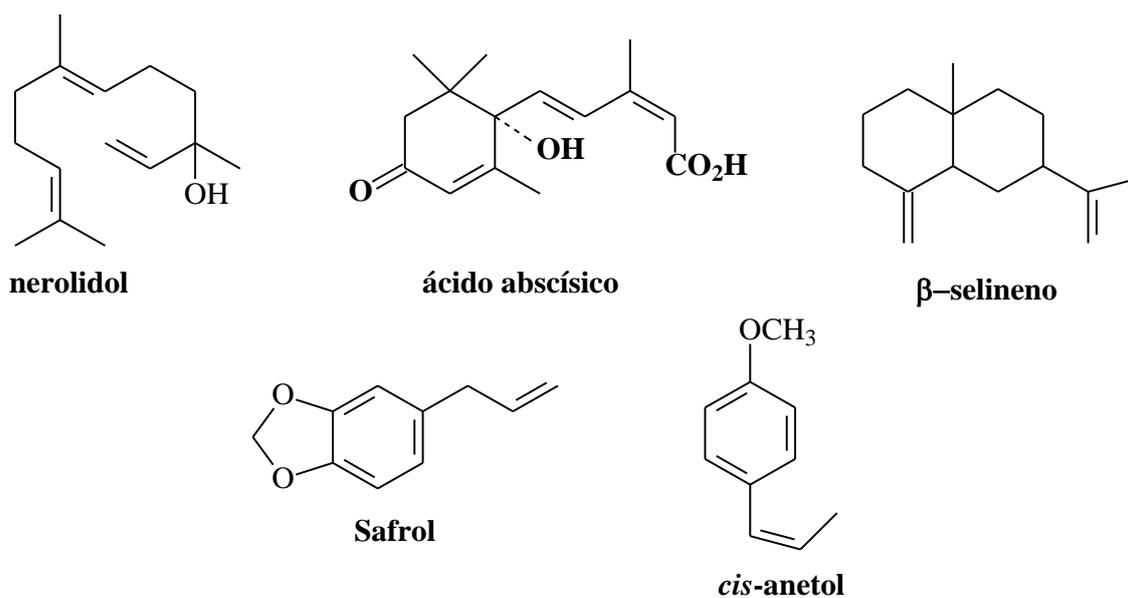


Figura 11 – Alguns sesquiterpenos e fenilpropanoides de ocorrência em óleos essenciais (In: SIMÕES et al., 2000, p. 392; LIMA; CARDOSO, 2007, p. 19)

A composição e concentração dos componentes dos óleos essenciais podem variar até mesmo entre plantas da mesma espécie devido aos fatores ecológicos e agrônômicos e as condições edafoclimáticas. Dessa forma, as espécies apresentam diferenças químicas que afetam nas propriedades funcionais como atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos (SCHERER et al., 2009).

4. ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*)

O alecrim, *Rosmarinus officinalis* (figura 12), é um arbusto da família de *Lamiaceae* nativo do Mediterrâneo, cujo óleo essencial é muito utilizado no ramo industrial devido a sua composição química, a qual constitui princípios ativos terapêuticos, antioxidantes e aromatizantes. A inalação ou ingestão do óleo essencial de alecrim é capaz de estimular o sistema nervoso central e por essa razão em tempos milenares já se utilizavam a essência de alecrim com o intuito de melhorar o sistema cognitivo através da aromaterapia, para efeitos estimulantes e propriedades estomacais (PORTE; GODOY, 2001; STEFFENS, 2010).



Figura 12 – Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (In: Pinterest, 2021)

O óleo essencial extraído do alecrim é constituído por diferentes antioxidantes, como os diterpenos, triterpenos e flavonoides, além de compostos como hidrocarbonetos monoterpênicos e ésteres terpênicos. Contudo, a composição

química do mesmo pode apresentar variações de teor do princípio ativo, devido a influências ambientais e tratamento das plantas desde o processo de cultivo e manejo (PORTE; GODOY, 2001; RIBEIRO et al. 2012).

O óleo volátil de alecrim é composto de 95 a 98% de monoterpenos e derivados e de 2 a 5% de sesquiterpenos. Dentre os principais compostos voláteis presentes no alecrim podemos citar α -pineno, 1,8-cineol, canfeno, cânfora, borneol e verbenona (figura 13).

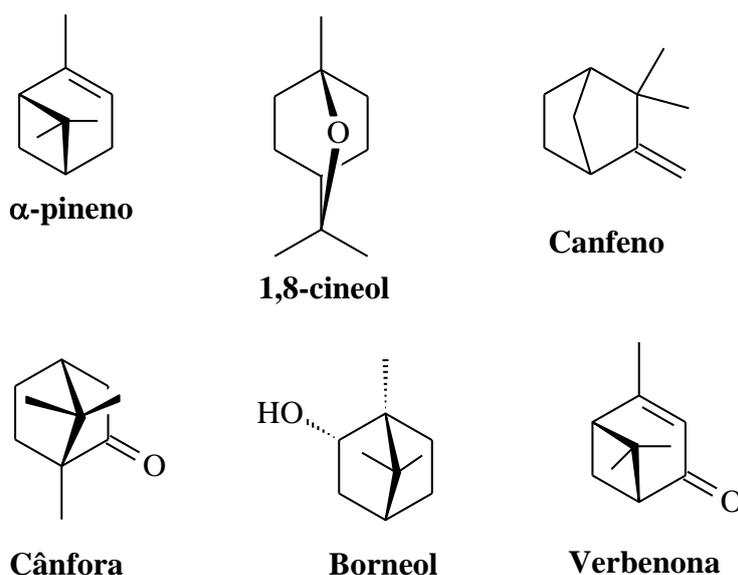


Figura 13 – Alguns monoterpenos encontrados no óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.
(In: DALMARCO, 2012, p. 28)

Em geral são cerca de 25 compostos identificados que podem ser encontrados no óleo de alecrim cultivado no Brasil. A tabela 1 ilustra esses compostos (STEFFENS, 2010).

Composto	% Área
α -pineno	25,740
Canfeno	4,050
Thuja-2,4-dieno	0,690
β -pineno	2,100
Mirceno	1,630
α -Terpineno	0,420
δ -2-careno	0,877
Orto-cimeno	1,207
1,8-cineol	21,437
γ -terpineno	1,530
Terpinoleno	1,410
Linalol	2,780
Crisantenona	1,463
Canfora	3,657
Borneol	4,040
Terpinen-4-ol	1,120
α -terpineol	2,433
Mirtenol	0,570
Verbenona	10,490
Geraniol	3,493
Geranial	0,230
Acetato de Bornil	1,050
Metil-eugenol	0,293
(E)-cariofileno	2,657
α -humoleno	0,420
Total (% área)	95,79%

Tabela 1 - Compostos encontrados no óleo essencial de Alecrim (In: STEFFENS, 2010, p. 47).

Outros compostos presentes no óleo essencial de alecrim são os constituintes fenólicos, os diterpenos do tipo abietano, representados na figura 14. Dentre eles o mais encontrado no extrato de alecrim é o ácido carnósico (HABTEMARIAM, 2016).

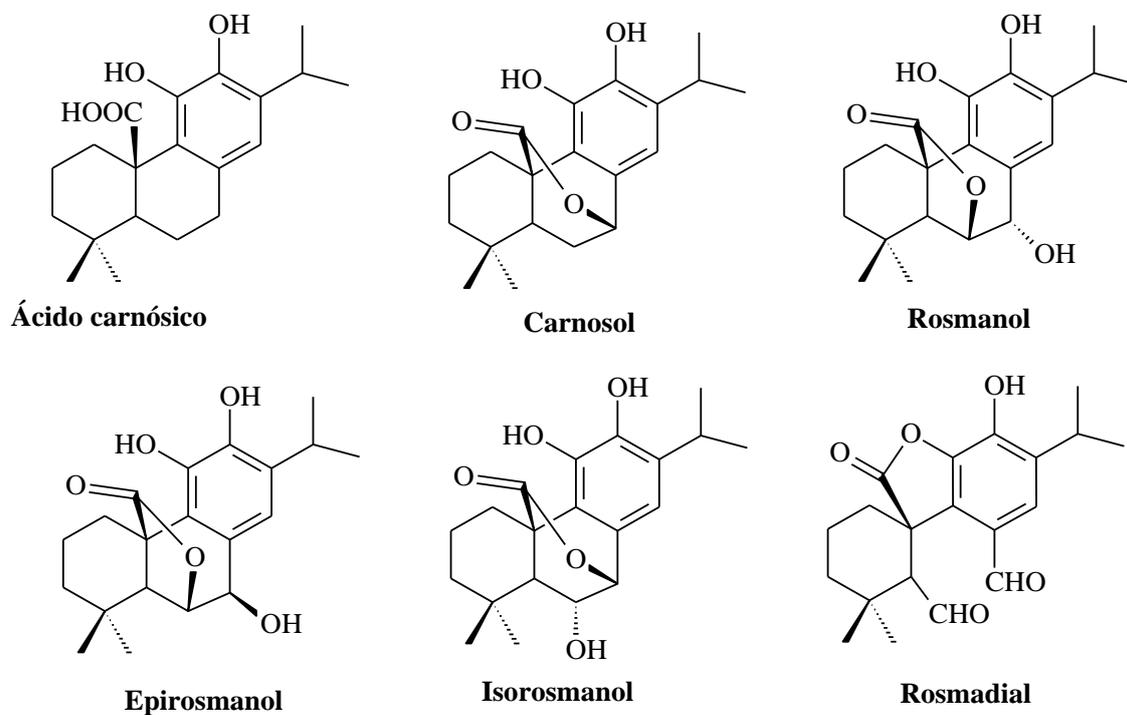


Figura 14 - Ácido carnósico e diterpenos do tipo abietano relacionados de alecrim (In: HABTEMARIAM, 2016, p. 4)

5. Óleos Essenciais no Tratamento de Alzheimer

Os efeitos colaterais ocasionados devido à ingestão de fármacos no tratamento de Alzheimer estão sendo comumente questionados e por essa razão, a busca por alternativas saudáveis está aumentando gradativamente. Atualmente, o foco dos pesquisadores está em fármacos inibidores de AChE que apresentem eficácia e menores efeitos adversos para combater os distúrbios neurodegenerativos ocasionados pela doença de Alzheimer. Dessa forma, o interesse pelos óleos essenciais vem crescendo em decorrência de sua produção natural, ação na inibição de AChE e ação antioxidante (OBULESU; RAO, 2011; SOUZA, et al. 2012)

A inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) é importante visto que uma das características neuroquímicas marcantes decorrente da doença de Alzheimer é a deficiência de acetilcolina. Por essa razão, os óleos essenciais viáveis para o tratamento precisam ter a capacidade de inibir a acetilcolinesterase (AChE) para retardar a hidrólise catabólica da acetilcolina com o intuito de compensar a escassez da mesma nos terminais sinápticos (OBULESU; RAO, 2011; SOUZA, et al. 2012).

Vários componentes de óleos essenciais foram identificados como inibidores da AChE. Dentre esses componentes estão os monoterpenos neral, geranial e linalol, bem como os sesquiterpenos óxido de cariofileno e tumerona e alguns fenilpropanóides como o eugenol. O 1,8-cineol e o α -pineno (figura 13) foram considerados os componentes mais ativos na ação inibitória da AChE do óleo *S. lavandulaefolia* Vahl. Resultados de estudos envolvendo inibição da AChE por óleos essenciais demonstram a ação inibitória desses óleos em várias plantas da família Lamiaceae, dentre elas o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), cujo óleo essencial apresentou um IC₅₀ de 69,8 μ g/mL (SOUZA et.al., 2012)

A ação antioxidante dos óleos essenciais também é uma ação biológica importante no tratamento do Alzheimer. A figura 15 ilustra alguns monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides como o eugenol, os quais

são compostos antioxidantes presentes nos óleos essenciais (OBULESU; RAO, 2011; SOUZA, et all. 2012).

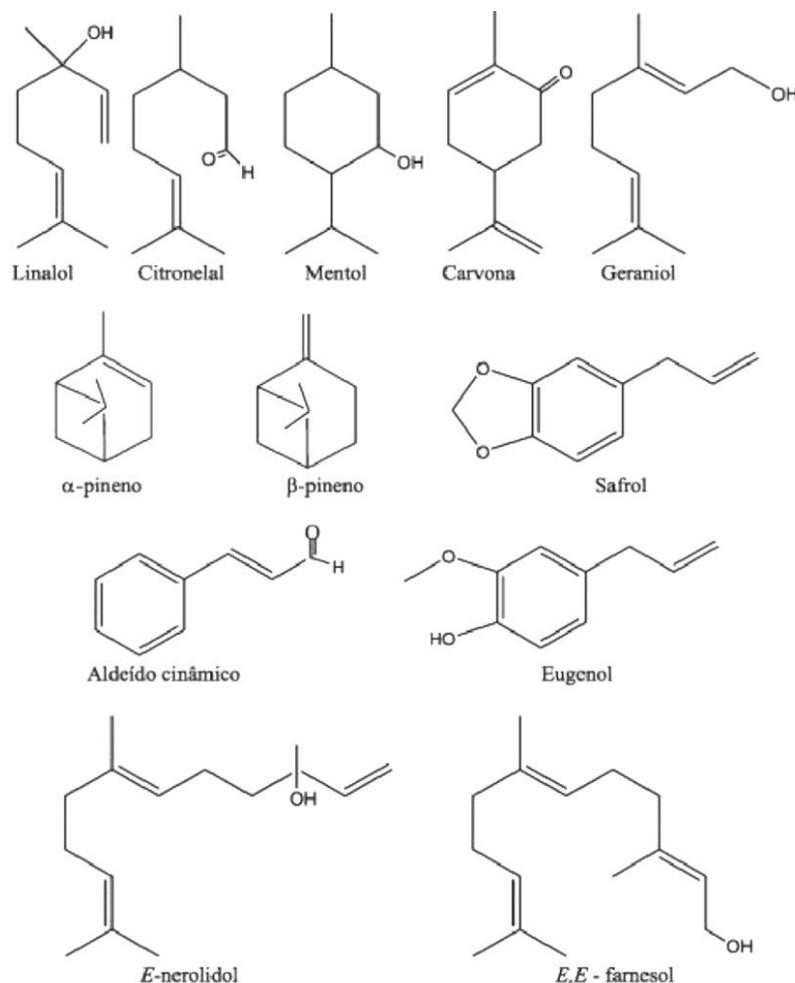


Figura 35 - Exemplos de monoterpenos, fenilpropanóides e sesquiterpenos encontrados nos óleos essenciais (In: KNAAK, 2010, página 121).

Os diterpenos do tipo abietano, assim como outros compostos e extratos do alecrim, também apresentam efeitos neuroprotetores para os danos cerebrais que incluem a peroxidação lipídica e a proteção das células da morte celular oxidativa por meio do mecanismo antioxidante. Dessa forma os efeitos adicionais desse composto constituem em uma abordagem terapêutica viável para o combate ao Alzheimer (DALMARCO, 2012; HABTEMARIAM, 2016).

Em relação ao combate de radicais livres, os óleos essenciais, devido à sua ação antioxidante, protegem os sistemas biológicos de espécies reativas de

oxigênio e nitrogênio. Além disso, estudos *in vitro* indicam que os antioxidantes presentes nos óleos essenciais também são capazes de prevenir a disfunção da proteína TAU hiperfosforilada (CARDOSO; COZZOLINO, 2009; SOUZA et. al, 2012).

O óleo essencial mais estudado para o tratamento de Alzheimer atualmente são os da família de Lamiaceae por serem ricas em antioxidantes e apresentarem efeitos potenciais nos distúrbios cognitivos, sendo os compostos inibidores majoritários o 1-8 cineol e α -pineno (figura 13) (SOUZA, et all. 2012; GEMELLI, et al. 2013).

Segundo Carvalho et al. (2020), o 1,8-cineol e a cânfora apresentam atividade antioxidante e tem efeito estimulante sobre o sistema nervoso central e possui a capacidade de melhorar a função cognitiva na demência do tipo Alzheimer. Essa ativação, pelo método de inalação, já foi testada e avaliada em diversas pesquisas, apontando resultados satisfatórios em relação a melhorias na memória e atenção tanto de idosos como nos testes realizados com camundongos. Além disso, o α -pineno possui efeito ansiolítico, sendo capaz de diminuir ansiedade e tensão.

Outros óleos essenciais também estudados com esse propósito que apresentaram eficácia são os provenientes de espécies como as plantas de *Narcissus poeticus L*, *Melaleuca*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Acorus calamus* (Açoro), *Marlierea racemosa*, *Cymbopogon schoenanthus* (capim camelo), *Huperzia Serrata*, principalmente pela ação do alcaloide huperzina A, *Citrus aurantifolia* (laranja lima) e *Crocus sativus* (açafrão) (SOUZA, et al., 2012; SILVA, 2013).

A aromaterapia é um dos métodos de utilização dos óleos essenciais mais utilizados em diversos países para auxiliar no tratamento de diversos problemas visando o bem-estar do corpo, mente e das emoções. Entretanto, no Brasil por não estar inserido na ANVISA, o método terapêutico não é oferecido nos hospitais como tratamento funcional. A aplicação dos óleos essenciais na aromaterapia é feita por via tópica ou dérmica por meio de massagens ou banhos aromaterapêuticos. Existe a teoria de que qualquer aroma, sendo ele parte da memória olfativa, pode ser utilizado na aromaterapia para o tratamento

do Alzheimer. Porém, é difícil a obtenção e controle de qualidade de aromas sem origem vegetal. Dessa forma é mais comum que se utilize os óleos essenciais naturais (LYRA, 2010; BRITO, et al. 2013).

6. AROMAS NA SALA DE AULA: UMA PROPOSTA PARA O ENSINO MÉDIO

A compreensão da ciência envolve a percepção e a construção científica. Por isso as aulas experimentais são importantes para a melhor compreensão, raciocínio e interpretação do conteúdo abordado. Isto porque, além de prender a atenção do aluno quando a mesma é relacionada com o cotidiano, essas aulas fazem com que os alunos entendam que a química está em tudo e desperta um maior interesse na matéria, tornando as aulas mais produtivas (ROCHA; VASCONCELOS, 2006). O desinteresse gerado por química muitas vezes está relacionado à falta dessa conexão entre teoria e prática. Esse problema pode ser decorrente da falta de infraestrutura escolar, visto que algumas escolas ainda não possuem laboratórios ou equipamentos especializados que são utilizados para a realização das aulas práticas (BASTOS, et al. 2018).

A pandemia ocasionada pelo COVID-19 exigiu uma solução criativa para tal falta de equipamentos e de laboratório, visto que frente a essa nova rotina de distanciamento social não é possível realizar aulas práticas na escola, devido a suspensão das aulas presenciais desde de março de 2020 (CURY 2020). Com isso alguns professores optaram por utilizar materiais alternativos de fácil acesso, ou seja, que são utilizados no dia a dia, para conseguir ministrar e apresentar experimentos articulados com o cotidiano. Dessa forma conseguem abordar temas específicos e manter a atenção dos alunos, melhorando a compreensão dos mesmo em relação ao conteúdo abordado. A utilização de aulas interdisciplinares é uma outra opção que está sendo muito utilizada pelos professores com o intuito de prender a atenção dos alunos perante as aulas remotas. Esse conceito sendo utilizado para as aulas práticas torna-se uma solução atrativa que tem gerado resultados satisfatórios, levando em conta o bom feedback dos alunos (ALVES et al., 2020).

Com base nesses dados, a proposta de aula experimental para o ensino médio é sobre os aromas em sala de aula. O experimento proposto, além de ser

relacionado a esse trabalho, utiliza materiais alternativos presentes no cotidiano e visa a interdisciplinaridade. O emprego de materiais alternativos possibilita a execução do experimento mesmo em laboratórios sem recursos, nos quais o acesso a equipamentos específicos nem sempre é possível.

6.1 INTRODUÇÃO A AULA INTERDICLIPNAR SOBRE AROMAS

O aroma é um tema que pode ser abordado por diversas matérias como por exemplo História, visando a origem dos mesmos e suas utilizações desde o primórdio; Biologia citando a obtenção dos aromas e sua disponibilidade; e Química com ênfase em Química Orgânica em que se pode abordar a estrutura molecular das fragrâncias, extração de óleos essenciais e a utilização desses produtos no cotidiano, como por exemplo nos perfumes. Com essa relação o interesse e a compreensão dos alunos se intensifica e a aula se torna mais produtiva (ROSA et al., 2016).

O olfato é um dos principais sentidos que possuímos. A partir dele podemos sentir o odor e aroma de tudo ao nosso redor. Dessa forma, é criada a nossa memória olfativa que se estimulada são enviadas para as áreas do cérebro associadas a emoção, a criatividade e a memória propriamente dita. Conhecendo a estrutura dos óleos essenciais é possível criar aromatizantes sintéticos e aplica-los em produtos de higiene, estética, alimentação e na área da saúde. Assim, a importância dos aromas está justamente em suas aplicações (FREIRE et al., 2018).

A relação que este conteúdo apresenta com o cotidiano e sua interdisciplinaridade representam um facilitador para o compreensão da disciplina de química, o que contribui para a sedimentação do conhecimento na área (BASTOS, et al. 2018).

6.1.1 Extração de Óleos Essenciais

A proposta desse experimento envolve os aromas e a extração de óleos essenciais por destilação de arraste de vapor. A extração pode ser realizada sem a utilização de um laboratório equipado, pois o destilador é construído a partir de materiais alternativos. O objetivo dessa aula é realizar a extração do óleo essencial da casca da laranja pelo método de destilação arraste de vapor (ROSA et al., 2016).

6.1.2 Materiais

- Para a construção do destilador:
 - Uma garrafa de vidro;
 - Uma garrafa de plástico;
 - Uma mangueira de plástico;
 - Cola epóxi ou fita isolante.

- Para a extração do óleo:
 - Casca de oito laranjas verdes;
 - Água;
 - Liquidificador;
 - Tela de amianto;
 - Tripé;
 - Fonte de calor;
 - Destilador construído.

6.1.3 Procedimento Experimental

Para a extração do óleo essencial da casca de laranja por destilação utilizando materiais alternativos é necessário remover e triturar a casca da laranja com água utilizando o liquidificador e despejar a mistura dentro da garrafa de vidro com a ajuda de um funil e posicionar a garrafa de vidro sobre a fonte de calor com a ajuda do tripé. A garrafa de vidro deve estar conectada a de plástico

contendo água gelada, utilizando como conector a mangueira e isolando a tampa com a fita ou a cola epóxi, conforme descrito na figura 15.



Figura 16 - Destilador feito com materiais alternativos (In: ROSA et al., 2016, p. 5)

Após algumas horas pode-se observar a passagem de vapor de água com gotas do óleo essencial passando pela mangueira e se depositando na garrafa de plástico com água gelada. Por causa dessa diferença de temperatura da água vinda da garrafa de vidro para a água da garrafa de plástico, o vapor de água se condensa e formam-se duas fases líquidas na garrafa de plástico, uma com o óleo essencial, menos denso, e outra com a água (ROSA et al., 2016).

7. MATERIAIS E METODOS

7.1 MATERIAIS

7.1.2 Equipamentos

Os equipamentos foram fornecidos pelo laboratório de química da Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA) e Centro de Pesquisa em Ciências (CEPECI). Sendo eles:

- Tubo Falcon;
- Balão de destilação;
- Condensador;
- Manta elétrica;
- Mangueira de látex;
- Termômetro;
- Espectrofotometro;
- Cubeta de quartzo;
- Pipeta volumétrica (1; 2; 5 mL);
- Pipeta graduada (2 mL);
- Tubos de vidro médio;

7.2 ALECRIM

Foram selecionadas plantas adultas da espécie de *Salvia rosmarinus* comumente conhecidos como alecrim, provenientes da cidade de Cândido Mota. Após a coleta foram selecionadas as folhas frescas para os procedimentos experimentais.

7.2.1 Extração do Óleo Essencial

Para a extração foram utilizadas 50g do material botânico em 500 mL de água destilada submetidos a hidrodestilação em destilador do tipo Clevenger (figura 17) sob a temperatura de 150°C por três horas. O padrão de extração foi repetido 7 vezes totalizando 350g de alecrim o que resultou em 1,5 mL de óleo essencial que foi armazenado em frasco âmbar esterilizado. Após a extração foi adicionado um pouco de Na_2SO_4 (sulfato de anidrido) para dessecar as gotas de água que estavam presentes no óleo. Posteriormente o recipiente foi embalado em papel alumínio e armazenado a baixas temperaturas.

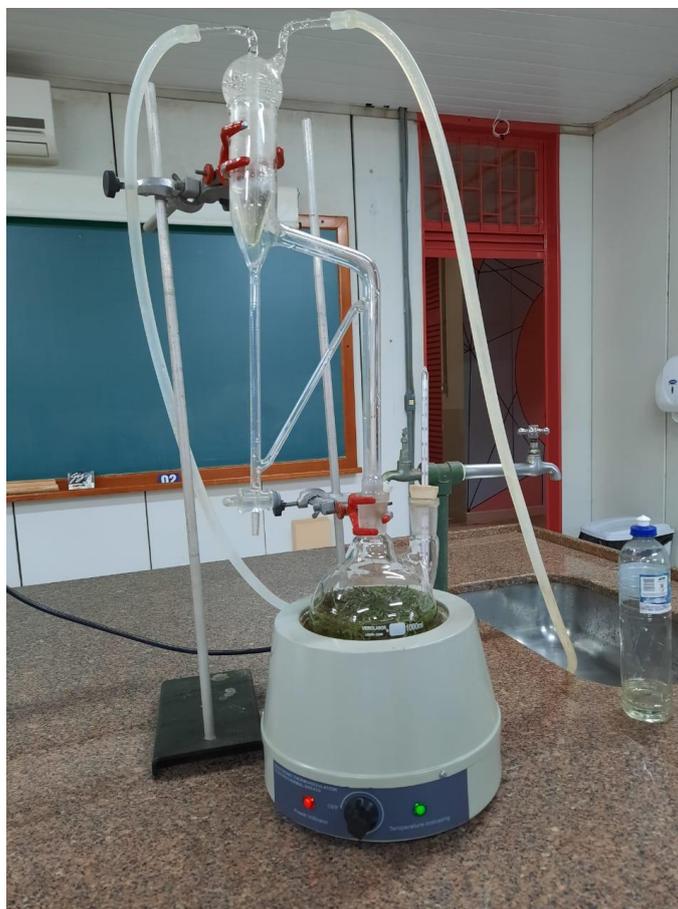


Figura 17 - Destilador de óleos essenciais do tipo Clevenger

7.2.2 Determinação da capacidade antioxidante através do método de sequestro de radicais livres (DPPH[•])

Para determinar a capacidade antioxidante foi preparada previamente a amostra do reagente 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) na concentração de 60 μM , em que 2,4 mg foi dissolvida em 100 mL de metanol. A solução foi armazenada em frasco âmbar e envelopada em papel alumínio para o uso posterior. A leitura dessa solução foi realizada em um ambiente escuro utilizando-se cubeta de quartzo em espectrofotômetro ajustado para 515 nm, em que o metanol foi utilizado como branco.

A absorvância do óleo essencial de alecrim foi feita em triplicata pelo método de radical livre, em que 0,5 mL do óleo essencial foi homogeneizado com 3,9 mL do radical estável DPPH, o que provocou a mudança de coloração do extrato de amarelo para roxo em razão da adição do reagente. Após o repouso de 30 minutos com a ausência de luz, a leitura foi feita em espectrofotômetro de UV a 515 nm utilizando o metanol como branco.

7.2.2.1 Cálculo da atividade antioxidante

A análise da atividade antioxidante do óleo de alecrim foi calculada separadamente para cada uma das três absorvâncias obtidas das amostras do óleo essencial de alecrim pelo método de porcentagem de redução de DPPH utilizando sequencialmente as equações 1 e 2 abaixo.

$$\text{Eq. 1} \quad \% \text{DPPH}_{\text{remanescente}} = \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \times 100$$

Onde:

$\text{Abs}_{\text{controle}}$ é a absorvância da solução metanólica do radical DPPH•

$\text{Abs}_{\text{amostra}}$ é a absorvância do radical na presença do extrato

$$\text{Eq. 2} \quad \% \text{Redução de DPPH} = 100 - \% \text{DPPH}_{\text{remanescente}}$$

Posterior ao cálculo foi realizada a média de porcentagem de redução de DPPH obtidas, e foi calculado o desvio padrão das amostras pela equação 3 abaixo.

$$\text{Eq. 3} \quad Dp = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Onde:

x_i : valor individual da absorbância da amostra

\bar{x} : valor da média da absorbância das amostras

n : número das amostras

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração por hidrodestilação do óleo essencial de alecrim *Rosmarinus officinalis* pelo método de Clevenger, utilizando folhas frescas do material botânico, forneceu um rendimento de 0,42%. O rendimento do óleo foi calculado pela quantidade de óleo que se obteve com a massa de vegetal usada. Obteve-se 1,47 gramas de óleo a partir de 350 gramas de folhas frescas de alecrim.

O resultado obtido foi próximo ao obtido por Rocha (2016), o qual aborda que o padrão de rendimento da extração por hidrodestilação do alecrim é de 0,59%.

Segundo Cutrim et al. (2019), o óleo essencial apresenta maior rendimento quando extraído em solventes orgânicos, porém no mesmo artigo os autores afirmam que rendimento máximo é de 1%. O autor saliente ainda que a utilização de folhas secas também resulta em um maior percentual de extração do óleo essencial.

O óleo essencial de alecrim apresentou densidade menor que a da água, cheiro forte e característico do alecrim, bem como coloração branca (quase incolor) logo no início da extração, tornando-se amarelada, cor característica do material, com o decorrer do tempo, conforme citado por Pala et al. (2010). Essa variação de coloração pode ser observada na figura 18.

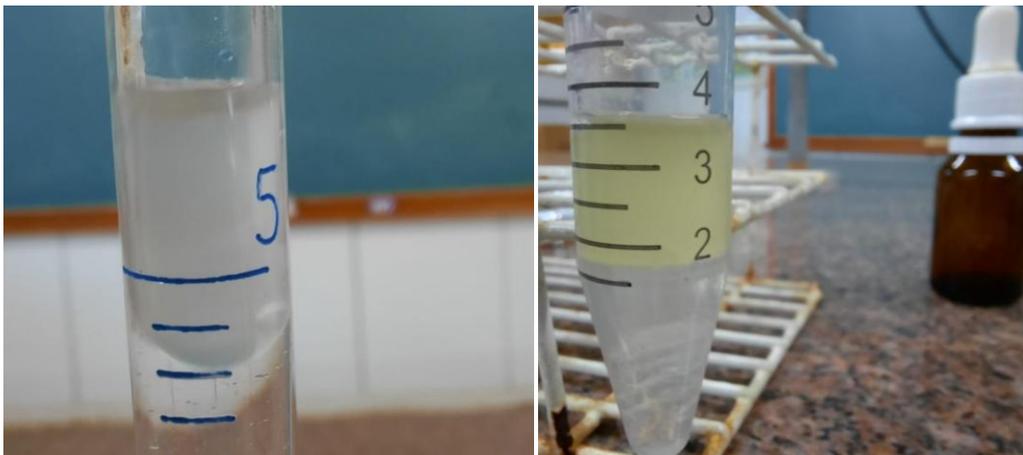


Figura 18 - Óleo essencial de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) no início e final da extração.

8.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

O Valor médio das três absorvâncias das amostras de óleo de alecrim para determinação da atividade antioxidante foi de 0,1047. A atividade antioxidante total calculada pela porcentagem de redução de DPPH foi de $87,213 \pm 0,25$ no tempo de 30 minutos. Segundo Cutrim et al. (2019) o percentual máximo de inibição de alecrim (*R. officinalis*) em solução alcoólica é de 99,8% em concentração elevada. O resultado obtido no presente trabalho mostrou-se satisfatório, inclusive se comparado a atividade antioxidante dos óleos essenciais do capim limão e da erva cidreira, utilizados no tratamento da doença de Alzheimer. Silva et al. (2017) analisaram, também pelo método de DPPH, as espécies de *Cymbopogon citratus*, conhecida como capim limão e *Melissa officinalis*, comumente conhecida como erva-cidreira. O capim limão apresentou atividade antioxidante total de 20,90% e a erva-cidreira de 78,12%.

9. CONCLUSÃO

O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) apresentou pouco rendimento no processo de hidrodestilação pelo método de Clevenger com a utilização das folhas frescas, porém muito próximo ao descrito na literatura

O resultado da capacidade antioxidante do óleo essencial de alecrim obtido por hidrodestilação foi de $87,21 \pm 0,25$, um resultado satisfatório comprovando a potencialidade referente às espécies da família de *Laminaceae*. Os resultados obtidos em relação à capacidade antioxidante do óleo essencial de alecrim indicam que o mesmo pode ser utilizado no tratamento da doença de Alzheimer, visto que o mesmo pode atuar inibindo o stress oxidativo, a principal causa para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas.

Deve-se considerar, entretanto, a composição do óleo essencial visto que os fatores ambientais e de cultivo podem influenciar na capacidade antioxidante do mesmo.

10. REFERÊNCIAS

ABREU, Rui M.V.; FERREIRA, Isabel C.F.R. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Revista Bioanálise**. Ano IV, nº.2, 2007, p. 32-39.

ALVES, Janainne Nunes; COSTA, Claudiane Moreira; FARIA, Bruno Lopes De; LEMOS, Paulo Giovane Aparecido; OLIVEIRA, Ramony Maria da Silva Reis; SILVA, Cléber Silva E. Ciências na pandemia: uma proposta pedagógica que envolve interdisciplinaridade e contextualização. **Revista Thema**, 2020, p. 184-203.

ANDRADE, Rodrigo Binkowski de; CASTRO, Alexandre Luz; FUNCHAL, Cláudia; GARCIA, Larissa Pacheco; GEMELLI, Tanise. Estresse Oxidativo como Fator Importante na Fisiopatologia da Doença de Alzheimer. **Revista Uniara – Revista Brasileira Multidisciplinar**. v.16, nº.1. 2013, p. 67-78.

BARBOSA, Kiriague Barbosa; COSTA, Neuza Maria; ALFENAS, Rita de Cássia; DE PAULA, Sérgio Oliveira; MINIM, Valéria Paula; BRESSANI, Josefina. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**. Campinas, v. 23, nº 4, 2010, p. 629-643.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**. São Paulo, v. 29, nº. 1, 2006, p. 113-123.

BASTOS, Fernando; LABARCE, Eliane Cerdas; PEDRO, Alessandro; TAKAHASHI, Bruno Tadashi. **Reflexões em ensino de ciências**. Atena, v. 4, 2018

BRITO, A., BRITO, R., RODRIGUES, S., & XAVIER FILHO, L. Aromaterapia: da gênese a atualidade. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Campinas, v. 15, nº. 4, 2013, p.789-793.

CAMELO, A. L. M.; OLIVEIRA, F. C.; SILVA, F. F. M.; SOUZA, F. T. C.; LONGHINOTTI, E. Análise Comparativa Da Composição Química Volátil De Amostras Do Alecrim In Natura Com A Disponível Comercialmente. **Holos**, ano 30, V. 5, 2014, p. 191-198.

CARDOSO, B. R.; COZZOLINO, S. M. F. Oxidative stress in Alzheimer's disease: the role of vitamins C and E. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. Programa de Pós-Graduação e, Nutrição Humana Aplicada – Universidade de São Paulo de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, 2009, v. 34, n. 3, p. 249-259.

CARVALHO, Elisângela Elena Nunes; FERRANTE, Marcos; GAVILANES, Manuel Losada; SANTOS, Maria de Fátima. Aromaterapia de Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) em testes in vivo: revisão sistemática. **Research, Society and Development**. v. 9, nº. 9, 2020, p. 1-17

CASTELLANI, Rudy. J.; ROLSTON, Raj K; SMITH, Mark A. Doença de Alzheimer. **PubMed**. Set. 2010, p. 484-546.

CASTELO-BRANCO, Vanessa Naciuk; TORRES, Alexandre Guedes. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**. v. 24, nº.1, 2011, p.173-187

CORREIA, Andreia; FILIPE, Jéssica; SANTOS, Alejandro; GRAÇA, Pedro. Nutrição e Alzheimer. **Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável**. Portugal. 2015. p. 01-78.

CURY, Carlos Roberto Jamil. Educação escolar e pandemia. **Revista Pedagogia em Ação**. Periódico PUC de Minas, v. 13, nº. 1, 2020, p. 8-16

CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; MOUCHREK Filho, V. E.; EVERTON, G. O. Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante dos Óleos Essenciais e Extratos Hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Revista Virtual de Química**. 2019, volume 11 n.1. p. 60-81

DALMARCO, Juliana Bastos. **Estudo Das Propriedades Químicas E Biológicas De Rosmarinus Officinalis L.** 2012, p 132. Tese (Doutorado) Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

D'AVILA, Renan Augusto Pereira. Resveratrol, $C_{14}H_{12}O_3$. **Química Nova Interativa**. 2020

DE FALCO, Anna; CUKIERMAN, Daphne S.; HAUSER-DAVIS, Rachel A.; REY, Nicolás A. Doença de Alzheimer: hipóteses e perspectivas de tratamento. **Química Nova**. São Paulo, v. 39, n. 1, 2016, p. 63-80.

ECYCLE, E. **Antioxidantes: o que são e em quais alimentos encontrá-los**. 2015. Disponível em: <<https://www.ecycle.com.br/2740-antioxidantes-antioxidante>>. Acesso em: 06 jun. 2020

ÉVORA, Leisa Nélide Pinto. **Actividades biológicas e citotoxicidade do óleo essencial de Rosmarinus officinalis L.** 2015. 94p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Coimbra, 2015

FERREIRA, A. L. A; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 1997, p. 61-68.

FORLENZA, Orestes Vicente. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica**. São Paulo, v. 32, n.3, 2005, p. 137-148.

FREIRE, *Ines Follmann*; KAZMIERCZAK, Elton; MONTEIRO, *Tatiane Skeika*; ROCHA, *Rafael Novatski Da*; SILVA, *Jeremias Borges Da*. Aromas e odores: ensino de funções orgânicas em sequências de ensino-aprendizagem. **ACTIO Docência em Ciências**, v.3 nº. 2, 2018, p. 214-236.

GABRIEL, António José dos Santos. **Avaliação do sistema colinérgico na doença de Alzheimer**. 2019, 187p. Dissertação – Tese de doutorado em Biociências especializado em Biologia Celular e Molecular - Universidade de Coimbra, 2019.

GEMELLI, Tanise; ANDRADE, Rodrigo Binkowski; CASTRO, Alexandre Luz; FUNCHA, Cláudia; GARCIA, Larissa Pacheco. Estresse Oxidativo como Fator Importante na Fisiopatologia da Doença de Alzheimer. **Revista Uniara**. v.16, nº.1, 2013, p. 67-78

GUIMARÃES, Allan Flávio Rocha. **Rendimento Agronômico de Quiabo e Cebola em Consórcio e Monocultivo**. 2008. 63p. Dissertação – (Magister Scientiae) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semi-Árido – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, Minas Gerais, 2008.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no Ensino de Química: Caminhos e Descaminhos Rumo à Aprendizagem significativa. **Química Nova na Escola**, v. 31, nº 3, p. 198-202, 2009.

HABTEMARIAM, Solomon. O potencial terapêutico dos diterpenos do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) para a doença de Alzheimer. **Hindawi - Medicina Alternativa e Complementar Baseada em Evidências**. 2016, p. 1-15

LEAL, Aline; SANTOS, Gisele; BARBOSA, Marcos; OLIVEIRA, Zaqueu. **Indicador ácido-base de repolho roxo**. 2015. Disponível em: <http://www.cienciamao.usp.br/tudo/exibir.php?midia=lc&cod=_indicadoracido-base>. Acesso em: 30 Out. 2018.

KNAAK, Neiva; FIUZA, Lidia. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**. v. 5, 2010, p. 120-132

LIMA, R; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**. v.3, n.3, 2007, p. 14-24

LIMA, Daniele A. Tratamento Farmacológico da Doença de Alzheimer. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, 2008, p.1-10.

LYRA, Cassandra Santantonio de. **A aromaterapia científica na visão psiconeuroendocrinoimunológica: um panorama atual da aromaterapia clínica e científica no mundo e da psiconeuroendocrinoimunologia**. 2010, 175 p. Dissertação (Mestrado em psicologia social) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2010.

MINETT, Thaís Soares Cianciarullo; BERTOLUCCI, Paulo Henrique Ferreira. Terapia Colinérgica na Doença de Alzheimer. **Revista de neurociências**. São Paulo, 2000, p. 11-14.

MOTA, Wagner F. da; FINGER, Fernando Luiz; SILVA, Derly José H. da; CORRÊA, Paulo César; FIRME, Lúcia P.; NEVES, Ludmila L. de M. Caracterização físico-química de frutos de quatro cultivares de quiabo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, nº. 3, 2005, p. 722-725.

NETO, Antonio Dantas Gomes. **Rendimento do quiabo adubado com nitrogênio e esterco bovino**. 2013. 27p. Trabalho de conclusão de curso (Agronomia) – Universidade Federal de Paraíba, Areia-PB, 2013.

OBULESU, M.; RAO, Dowlathabad Muralidhara. Efeito de extratos de plantas na doença de Alzheimer: uma visão dos caminhos terapêuticos. **PubMed - J Neurosci Rural Pract**. 2011, p. 56-61

PALA, Amanda Caroline Tomé; SALIN, Camila Tozzi; CORTEZ, Lúcia Elaine Ranieri. **Controle de qualidade de óleos essenciais de alecrim (rosmarinum officinalis) e lavanda (lavandula augustifolia) comercializados em farmácias de dispensação.** 2010. Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. 2010, p.4

PORTE, Alexandre; GODOY, Ronoel Luiz de Oliveira. Alecrim (Rosmarinus Officinalis L.): Propriedades Antimicrobiana E Química Do Óleo Essencial. **B.CEPPA.** Curitiba, v. 19, nº. 2, 2001, p. 193-210.

PRICE, Shirley. **Aromaterapia para doenças comuns.** São Paulo: Manole Ltda. 2010

PINTEREST. **Alecrim** 2006. Disponível em: <<https://br.pinterest.com/pin/504895808195968868/>>. Acesso em: 14 jun. 2021

RIBEIRO, Cléris Ferreira. **Doença de Alzheimer: A principal causa de doença nos idosos e seus impactos na vida dos familiares e cuidadores.** 2010, 60p. Trabalho de conclusão do curso de especialização em atenção básica em saúde da família – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, 2010.

RIBEIRO, Daniele Silva; MELO, Daniela Benevides; Guimarães, Alaíse Gil; VELOZO, Eudes Silva. Avaliação do óleo essencial de alecrim (Rosmarinus officinalis L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias.** V. 33, nº. 2, 2012, p. 687-696.

ROCHA, Joselayne Silva; VASCONCELOS, Tatiana Cristina. **Dificuldades de aprendizagem no ensino de química: algumas reflexões.** XVIII Encontro Nacional de Ensino de Química (XVIII ENEQ) Florianópolis, SC, 2016.

ROCHA, Norma Moraes da Silva. **Extração e análise do óleo essencial do alecrimpimenta (Lippia sidoides - organoides Kunth) com fins de uso em**

cultivo orgânico. 2016. p.39. Dissertação (Monografia) - Universidade de Rio Verde, Goiás. 2016

ROSA, Rosimara Gomes; SOARES, Fabyana Aparecida; ZAN, Renato André; MINE, Haryssa Keiko. **Os aromas na sala de aula: Proposta interdisciplinar realizada em uma escola pública da cidade de Ji-Paraná**. XVIII Encontro Nacional de Ensino de Química (XVIII ENEQ) Florianópolis, SC, 2016.

SANDOVAL, Armando Enrique Pancorbo. Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não-transmissíveis uma proposta de estilo de vida. **Medicina Net**. 2014. Disponível em: <https://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/5991/estresse_oxidativo_metabolico_e_doencas_cronicas_nao_transmissiveis_uma_proposta_de_estilo_de_vida.htm>.

SAYEG, Norton. **A primeira paciente August D**. AlzheimerMed 2017. Disponível em: <<http://www.alzheimermed.com.br/biografia-alois-alzheimer/a-primeira-paciente-august-d>>. Acesso em: 28 set. 2020.

SCHERER, R; WAGNER, R.; DUARTE, M.C.T.; GODOY, H.T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Rev. bras. plantas med**. Botucatu, v.11, n.4, 2009, p.442-449.

SERENIKIL, Adriana; VITAL, Maria Aparecida Barbato Frazão. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de Psiquiatria**. Rio Grande do Sul. 1 Supl, 2008. p. 1-17.

SILVA, Nayla Nunes dos Santos. **Atividade anticolinesterásica dos óleos essenciais e componentes majoritários de Piper spp e aniba canelilla e docagem molecular do 1-nitro-2-feniletano**. 2013, 70p. Programa de Pós-Graduação em ciências farmacêuticas (dissertação). 2013.

SILVA, Nathalia Lucca; ARAÚJO, Ítalo Péricles Caíque; BATISTA, Marília Renata Ferreira; SANTOS, Thaís Bruna Aquino; FERNANDO, Walem Luiz; AMARAL, Fabrício Rodrigues. Determinação da atividade antioxidante e do teor de flavonoides totais equivalentes em quercetina em extrato aquoso de folhas de *Cymbopogon citratus* (d.c.) stapf e *Melissa officinalis* lam obtidos por decocção. **Conexão Ci.** Minas gerais, 2017. v.12, n.1., p. 46 – 53.

SILVEIRA, Jeniffer Cristina; BUSATO, Nathália Viégas; COSTA, Andréa Oliveira Souza; JUNIOR, Esly Ferreira da Costa. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera** - Centro Científico Conhecer. Goiânia, 2012, v.8, nº.15, p. 2038-2052.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; MELLO, João Carlos Palazzo; MENTZ, Lilian Auler; PETROVICK, Pedro Ros. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis, Ed. da UFSC, 2000.

SOUZA, Stefânia P. de; VALVERDE, Simone S.; SILVA, Raphael L.N.R. da; LIMA, Keila S.C.; LIMA, Antônio L.S. Óleos essenciais como inibidores da acetilcolinesterase. **Revista Fitos**. v.7, nº.4, 2012, p. 259-265

STEFFENS, Andréia Hoeltz. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**, 2010. 68p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre. 2010

TAMAI, Sérgio. Tratamento dos transtornos do comportamento de pacientes com demência. **Revista brasileira de Psiquiatria**. São Paulo, v. 24, nº 1, 2002, p. 15-21.

TORRES, Andreia. **Aromaterapia no tratamento do Alzheimer**. Blog - Educação em Saúde. 2017. Disponível em: <http://andreiatorres.com/blog/2017/6/16/aromaterapia-no-tratamento-do-alzheimer>.