



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE**



**BIOPROSPEÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE, EM *Caenorhabditis elegans***

**ANA MARIA HENRIQUE MONIZ**

**Boa Vista-RR  
JULHO/2024**

**ANA MARIA HENRIQUE MONIZ**

**BIOPROSPEÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE, EM *Caenorhabditis elegans***

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Roraima - UFRR, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr Antonio Alves de Melo Filho  
Coorientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior  
Coorientadora: Profa. Dra Riva de Paula Oliveira

**Boa Vista – RR**  
**JULHO/2024**

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

M744b Moniz, Ana Maria Henrique.

Bioprospeção do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*) : avaliação do potencial antioxidante e capacidade de inibição da acetilcolinesterase, em *Caenorhabditis elegans* / Ana Maria Henrique Moniz. – Boa Vista, 2024.

176 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho.

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior.

Coorientadora: Profª. Dra. Riva de Paula Oliveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE.

1 – Biotecnologia. 2 – Folhas. 3 – Antienvhecimento. 4 – Estresse oxidativo. 5 – Alzheimer. I – Título. II – Melo Filho, Antonio Alves de (orientador). III – Xavier Júnior, Francisco Humberto (coorientador). IV – Oliveira, Riva de Paula (coorientadora).

CDU – 547.913

Ficha Catalográfica elaborada pela Bibliotecária/Documentalista:

Mariede Pimentel e Couto Diogo - CRB-11-354 - AM


**ANA MARIA HENRIQUE MONIZ**

**BIOPROSPEÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE, EM *Caenorhabditis elegans***

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Roraima -UFRR, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.


Aprovada em: 07/07/2024

**Banca examinadora**

Documento assinado digitalmente  
 **ANTONIO ALVES DE MELO FILHO**  
Data: 07/06/2024 20:46:20-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Orientador: Prof. Dr Antonio Alves de Melo Filho  
Universidade Federal de Roraima - UFRR

Documento assinado digitalmente  
 **DANIELE IDALINO JANEIRO XIMENES**  
Data: 10/06/2024 17:20:26-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Dra. Daniele Idalino Janeiro  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

Documento assinado digitalmente  
 **EDVAN ALVES CHAGAS**  
Data: 10/06/2024 09:57:29-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr. Edvan Alves Chagas  
EMBRAPA

Documento assinado digitalmente  
 **SUSANA MARGARIDA GOMES MOREIRA**  
Data: 10/06/2024 18:24:24-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dra. Susana Margarida Gomes Moreira  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Firmado por MONTEROFERNANDEZ ISMAEL - \*\*\*7239\*\* el día


---

Dr. Ismael Montero Fernandez  
Universidad de Extremadura - ESPANHA

AUTORIZAÇÃO PARA EXPOSIÇÃO DE TRABALHOS DE POS-GRADUAÇÃO NO SITE  
DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFRR

Eu, Ana Maria Henrique Moniz, autorizo a publicação do meu trabalho de pós-graduação, nível doutorado intitulado **BIOPROSPEÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE, EM *Caenorhabditis elegans*** no site da Biblioteca Central desta IFES, para fins de consulta e cópia.

Boa Vista-RR, 15.10.2024

Documento assinado digitalmente  
 ANA MARIA HENRIQUE MONIZ  
Data: 15/10/2024 12:39:50-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

ANA MARIA HENRIQUE MONIZ

Dedico este trabalho aos meus pais Marina  
Henrique Moniz e, *in* memoriam, Crescêncio  
Ferreira Moniz, bem como à minha filha Marina  
Beatriz Moniz Pinto.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, meu maior pilar, fonte de força e inspiração.

A grande pesquisadora e amiga, Dra. Riva de Paula Oliveira, por abrir as portas de seu laboratório sem sequer me conhecer, acreditando em mim e proporcionando a oportunidade de realizar este trabalho, sem medir esforços.

Aos queridos amigos Ana Cristina e Dr. Antonio Alves, que sempre acreditaram no meu potencial e me incentivaram.

Expresso meu profundo reconhecimento aos meus estimados orientadores, Dr. Antonio Alves de Melo Filho, Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior e Dra. Riva de Paula Oliveira, pelos valiosos ensinamentos e pelo tempo dedicado para que eu pudesse alcançar o tão almejado título de doutora em Biotecnologia.

Aos meus pais, *in memoriam* Crescêncio Ferreira Moniz e Marina Henrique pelo incentivo, amor e compreensão durante toda minha trajetória de vida.

Ao grande amor da minha vida, Marina Beatriz Moniz Pinto, se você não fosse a filha maravilhosa que é, não teria conseguido realizar esse sonho. Obrigada, por sempre ter estado ao meu lado, mesmo eu estando longe. Sem sua força e incentivo nada disso seria possível.

As grandes amigas que fiz durante esses anos dedicados a obtenção deste tão sonhado título, como não lembrar com muito carinho das Dra. Adriana Uchoa, Daniella Salha e sua Manu (sorriso mais lindo da tia), Daniele Janebro, Cristiane Palmeira, obrigada, meninas, pelas risadas, conselhos e principalmente pelo carinho e incentivos.

Ao amigo Dr. Wesley Paiva, por toda ajuda dada para a realização deste trabalho. Com você meu amigo, a bancada foi prazerosa, mesmo em meio a tantos tubos de ensaio, cores e curvas, rs. Amei cada puxão de orelha, você é muito especial!

A minha querida Giovana Martins, fundamental nesse processo de aprendizagem, obrigada pelo treinamento em *C. elegans*, quero que saiba que você é uma pesquisadora incrível.

Aos amigos do laboratório Bioelegans, Liliane, Aian, Maria Luiza e Maria Tereza como foi bom estar com vocês, vocês tiveram papel importante no desenvolvimento desta pesquisa e foram fundamentais para minha sanidade, rs. Muito obrigada, “meninas e menino”!

Ao Francisco Maia (Fran), quero dedicar meu carinho mais fraternal, obrigada pelo carinho de TODOS os dias, seu cafezinho, nos momentos mais difíceis de cansaço me manteve sempre aquecida e tinha SEMPRE sabor de lar, obrigada!

Aos amigos do grupo Oleoquímicos, como foi bom e leve, estar com vocês!

Aos amigos Rajá e Neyla, pelas horas de conversa e trabalho árduo, como foi importante a ajuda de vocês. Parceria dia 31.12.2020 - 22 h e ainda estávamos no laboratório, muito obrigada!

Reconhecimento ao amigo e grande pesquisador Caio Rodrigo de Assis, *in memoriam*, que nos deixou tão precocemente. Não esquecerei do seu carinho, palavras de incentivo, obrigada pelos ensinamentos, seus ensinamentos estarão sempre comigo, meu eterno amigo.

Gratidão por dividir momentos de aprendizagem, companheirismo e aflição com o amigo Ismael Montero e Regildo Max.

As instituições estimáveis, Universidade Federal de Roraima, Universidade Federal do Pernambuco, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal do Rio grande do Norte por me proporcionarem a oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

Que a felicidade não dependa do tempo,  
nem da paisagem, nem da sorte, nem do  
dinheiro. Que ela possa vir com toda  
simplicidade, de dentro para fora, de  
cada um para todos (**Carlos Drummond  
de Andrade**)

Moniz, Ana Maria Henrique. **Bioprospeção do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): avaliação do potencial antioxidante e capacidade de inibição da acetilcolinesterase**, em *Caenorhabditis elegans*, 2024. 176 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Roraima, Boa vista, 2024.

## RESUMO

Desde o início da humanidade, as plantas medicinais são utilizadas na medicina tradicional para tratar uma grande variedade de doenças e esse conhecimento vem sendo acumulado até os dias atuais. O Brasil é considerado o país que possui a maior biodiversidade do Planeta, cujas espécies são usadas como alimentos, fibras, madeiras, condimentos, aromas, princípios ativos e medicamentos, sendo seus extratos fonte de matéria prima para o desenvolvimento de fármacos a partir de seus metabolitos secundários. Entre as plantas que têm ocorrência na região da Amazônia Setentrional, destaca-se a *Lippia origanoides* Kunth (OELO), conhecida popularmente como alecrim-pimenta, estrepa-cavalo e, em Roraima, como salva do campo, sendo facilmente encontrada nas regiões de savanas e lavrados. O potencial farmacológico de seu óleo essencial (OE) é conhecido no tratamento de diversas patologias relacionadas ao sistema respiratório, mas as atividades bactericida, antifúngica, antiparasitária, larvicida, antioxidante e inibidor da enzima acetilcolinesterase no *Aedes aegypti*, *in vitro* e *in vivo*, também estão descritas. Cada OE é formado por uma mistura complexa de fitoconstituintes naturais em concentrações muito diferentes, podendo ser associados a quimiotipos da mesma espécie, extraídos principalmente de plantas aromáticas. Normalmente, são esses compostos majoritários que determinam o quimiotipo e suas propriedades farmacológicas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo da composição química, e avaliar se o OE extraído das folhas frescas da espécie *Lippia origanoides* Kunth (EOLO) apresenta atividade antioxidante e capacidade de inibir a Acetilcolinesterase no organismo modelo *Caenorhabditis elegans*. Para isso, foi realizada a identificação e quantificação dos compostos no OELO, por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de massas (CG-EM) e Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CG-FID). Os resultados mostraram que os constituintes majoritários no EOLO são o carvacrol-22.64%, timol-16.77%, para-cimeno-14.85%, (E)-cariofileno-9.86% e Linalol-3.41%. A atividade antioxidante química e a toxicidade da amostra foi avaliada em fibroblastos 3T3, pelo ensaio de redução do 3 - (4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo (MTT). A toxicidade do EOLO, o efeito no estresse oxidativo e na paralisia no foi avaliada, *in vivo*, usando o modelo animal *C. elegans*. O EOLO não mostrou toxicidade e apresentou atividades antioxidantes e antienvhecimento em *C. elegans*. Além disso, o EOLO mostrou efeito protetor contra a agregação anormal de proteínas, e inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChE). De acordo com os resultados apresentados, podemos sugerir que o EOLO pode se tornar um potente agente farmacológico contra a demência, promovendo ação antioxidante e, conseqüentemente, melhorando a vida e a saúde de *C. elegans*.

**Palavras-chave:** Biotecnologia; Folhas; Antienvhecimento; Estresse oxidativo; Alzheimer; Efeito protetor.

Moniz, Ana Maria Henrique. **Bioprospecting of the essential oil of *Lippia origanoides* Kunth (syn *Lippia sidoides*): evaluation of the antioxidant potential and acetylcholinesterase inhibition capacity, in *Caenorhabditis elegans***, 2024. 176 f. Thesis (PhD in Biotechnology) – Federal University of Roraima, Boa Vista, RR-BRAZIL, 2024.

### ABSTRACT

Since the beginning of humanity, medicinal plants have been used in traditional medicine to treat a wide variety of diseases and this knowledge has been accumulated to this day. Brazil is considered the country with the greatest biodiversity on the planet, whose species are used as foods, fibers, wood, condiments, aromas, active ingredients and medicines, with their extracts being a source of raw material for the development of drugs based on their secondary metabolites. Among the plants that occur in the Northern Amazon region, *Lippia origanoides* Kunth (OELO) stands out, popularly known as rosemary-pepper, strepa-cavalo and, in Roraima, as field sage, being easily found in savannah regions. and plowed. The pharmacological potential of its essential oil (EO) is known in the treatment of various pathologies related to the respiratory system, but the bactericidal, antifungal, antiparasitic, larvicidal, antioxidant and inhibitory activities of the acetylcholinesterase enzyme in *Aedes aegypti*, in vitro and in vivo, are also known. are described. Each EO is formed by a complex mixture of natural phytoconstituents in very different concentrations, which can be associated with chemotypes of the same species, mainly extracted from aromatic plants. Typically, it is these major compounds that determine the chemotype and its pharmacological properties. Therefore, the objective of this work was to carry out a study of the chemical composition, and evaluate whether the EO extracted from the fresh leaves of the species *Lippia origanoides* Kunth (EOLO) presents antioxidant activity and the ability to inhibit Acetylcholinesterase in the model organism *Caenorhabditis elegans*. To this end, the compounds were identified and quantified in OELO, using Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) and High Resolution Gas Chromatography (GC-FID). The results showed that the majority constituents in EOLO are carvacrol-22.64%, thymol-16.77%, p-cymene-14.85%, (E)-caryophyllene-9.86% and Linalool-3.41%. The chemical antioxidant activity and toxicity of the sample was evaluated in 3T3 fibroblasts, using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction assay. The toxicity of EOLO, the effect on oxidative stress and paralysis was not evaluated, in vivo, using the *C. elegans* animal model. OELO showed no toxicity and presented antioxidant and anti-aging activities in *C. elegans*. Furthermore, EOLO showed a protective effect against abnormal protein aggregation. According to the results presented, we can suggest that EOLO can become a potent pharmacological agent against dementia, promoting antioxidant action and, consequently, improving the life and health of *C. elegans*.

**Keywords:** Biotechnology; Leaves; Anti aging; Oxidative Stress; Alzheimer's; Protective effect.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 FAMÍLIA VERBENACEAE.....	12
1.2 <i>Lippia</i> .....	14
1.3 <i>Lippia origanoides</i> Kunth .....	16
1.4 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO) E NITROGÊNIO (ERN).....	16
1.5 METABOLISMO SECUNDÁRIO DAS PLANTAS.....	17
1.6 QUIMIOTIPOS DE <i>Lippia</i> .....	21
1.7 DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS .....	21
1.8 ACETILCOLINESTERASE.....	22
1.9 <i>C. elegans</i> COMO MODELO PARA ESTUDOS COM ÓLEOS ESSENCIAIS .	23
1.9.1 Um pouco da história do <i>C. elegans</i> .....	23
1.9.2 Descrição do ciclo de vida do <i>C. elegans</i> .....	23
1.9.3 <i>C. elegans</i> como modelo animal para estudos <i>in vivo</i> .....	27
1.9.4 Tipos de acetilcolinesterase em <i>C. elegans</i> .....	29
1.9.5 <i>Caenorhabditis elegans</i> para ensaios com óleos essenciais .....	30
1.10 OBJETIVO GERAL .....	33
1.11 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
<b>CAPÍTULO 1 – QUIMIOTIPOS DE <i>Lippia origanoides</i> Kunth NA AMAZONIA E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA: UMA REVISÃO. (Publicado na revista Cuadernos de Educación Y Desarrollo, DOI: 10.55905/cuadv15n12-030, Qualis Capes A4)</b>	34
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>2 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO FONTE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....</b>	<b>38</b>
2.1 QUIMIOTIPOS DE <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	40
2.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS QUIMIOTIPOS DO OELO .....	43
<b>2.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DOS QUIMIOTIPOS DO OELO .....</b>	<b>53</b>
<b>2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....</b>	<b>55</b>
<b>2.5 O OELO TEM POTENCIAL DE INIBIÇÃO NA ATIVIDADE ACETILCOLINESTERASE.....</b>	<b>58</b>
<b>2.6 IMPORTÂNCIA CLÍNICA DO ESTUDO DE <i>Lippia origanoides</i> Kunth .....</b>	<b>59</b>
<b>CAPÍTULO 2 – <i>Lippia origanoides</i> ESSENTIAL OIL INCREASES LONGEVITY AND AMELIORATES <i>B</i>-AMYLOID PEPTIDE-INDUCED TOXICITY IN <i>Caenorhabditis elegans</i>. ((Publicado na revista Natural Product research, DOI: 10.1080/14786419.2023.2287183, Qualis Capes A3).....</b>	<b>85</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>87</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>88</b>
<b>1. METHODOLOGY AND METHODS.....</b>	<b>89</b>
<b>1.1 <i>Strains, chemicals and reagents</i> .....</b>	<b>89</b>

1.2	<i>Plant material and essential oil extraction</i>	89
1.3	<i>GC-FID e GC-MS analysis</i>	89
1.4	<i>Quantification of total phenolic compounds</i>	90
1.5	<b>Antioxidant activity assays</b>	90
1.5.1	<b>Total antioxidant capacity (TAC) assay</b>	90
1.5.2	<i>DPPH Radical scavenging assay</i>	91
1.5.3	<i>Reducing power assay</i>	91
1.6	<b>Bacterial Growth Assay</b>	91
1.7	<b>Cytotoxicity assay</b>	92
1.8	<b><i>C. elegans</i> maintenance and treatment</b>	92
1.9	<b>Toxicity assays in <i>C. elegans</i></b>	93
1.10	<b>Quantification of Intracellular Reactive Oxygen Species (ROS)</b>	93
1.11	<b>Oxidative stress resistance assay</b>	94
1.12	<b>Longevity assay</b>	94
1.13	<b><math>\beta</math>-amyloid-induced paralysis assay</b>	94
2	<b>Statistical Analysis</b>	95
3	<b>RESULTS AND DISCUSSION</b>	95
3.1	<b>Chemical analysis of <i>Lippia origanoides</i> essential oil (LOEO)</b>	95
3.2	<i>Antioxidant and antibacterial activities of LOEO</i>	96
3.3	<b>Evaluation of cytotoxic effect of LOEO in 3T3 cells</b>	98
3.4	<i>Evaluation of toxicological effects of LOEO in <i>C. elegans</i></i>	99
3.5	<i>LOEO treatment reduces ROS production and increases stress resistance independently to its antibacterial effect</i>	101
3.6	<i>LOEO treatment increases longevity and delays <math>\beta</math>-amyloid-induced paralysis in <i>C. elegans</i></i>	103
4	<b>CONCLUSIONS</b>	106
	<b>REFERENCES</b>	107
	Capítulo 3 - O ÓLEO ESSENCIAL DA <i>Lippia origanoides</i> INIBE A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE NO <i>Caenorhabditis elegans</i> . (Não publicado)O óleo essencial da <i>Lippia origanoides</i> inibe a enzima acetilcolinesterase no <i>Caenorhabditis elegans</i>	111
	1. INTRODUÇÃO	114
	2. METODOLOGIA	116
	2.1 Ensaio de inibição <i>E. electricus</i> (comercial)	116
	2.2 Manutenção e tratamento de <i>Caenorhabditis elegans</i>	116
	2.3 Inibição da Enzima Acetilcolinesterase em <i>C. elegans</i>	117
	2.4 Ensaio de paralisia induzida por aldicarbe em <i>C. elegans</i>	117
	2.5 O EOLO inibe a enzima a AChE em <i>C. elegans</i> N2 e não paralisa os mutantes deficiente em AChE	118
	2.6 Análise Estatística	118
	3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	118

3.1 O EOLO inibe a enzima AChE de <i>E. Electricus</i> , comercial, e no modelo <i>C. elegans</i>	119
1.1 Potencial de inibição do EOLO na enzima AChE ao longo do tempo no <i>C. elegans</i>	121
1.2 O EOLO exerce efeito protetor em <i>C. elegans</i> comparada a paralisia induzida por aldicarbe .....	122
3.2 EOLO paralisa o <i>C. elegans</i> , N2, e não paralisa os mutantes deficientes-AChE.....	124
4 CONCLUSÃO.....	126
REFERENCES .....	127
CONCLUSÃO.....	149
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	152

## INTRODUÇÃO

Desde o início da humanidade, as florestas e sua rica biodiversidade em plantas medicinais têm sido utilizadas para tratar uma grande variedade de doenças. No entanto, muitas das espécies desfrutadas pela população ainda são pouco conhecidas ou não foram identificadas, dificultando seu aproveitamento pela indústria farmacêutica (LIMA et al., 2021).

As plantas, animais e microrganismos fornecem alimentos, medicamentos e boa parte da matéria-prima industrial consumida pelo ser humano (CHAACHOUAY et al., 2021). Há registros do uso de plantas como medicamento em todas as épocas, em praticamente todas as civilizações antigas (KARIM et al., 2023; KURALKAR; KURALKAR, 2021).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define que plantas medicinais e fitoterápicos são constituídos por um conjunto de diversas substâncias, que agem de forma sinérgica para obtenção da ação terapêutica, com conhecimento tradicional advindo de uso pela população ou comunidade (ANVISA, 2022). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO), 60% da população mundial faz uso de algum tipo de planta medicinal, mas estimatima-se que esse percentual possa atingir 80% (WHO, 2015).

Dentro dessa biodiversidade de metabolitos secundários presentes nas plantas medicinais, especialmente nos óleos essenciais (OE), destacam-se aquelas substâncias biologicamente ativas apresentando um amplo potencial para originar novos fármacos, (LADEIRA et al., 2023; BENNY; THOMAS, 2019; WANI et al., 2021, AYAZ et al., 2017; NEWMAN; CRAGG, 2007).

A Enzima Acetilcolinesterase (AChE) exerce um papel fundamental na regulação da transmissão colinérgica. em humanos tem grande relevância e aplicações importantes em tratamentos de doenças neurodegenerativas, especialmente a doença de Alzheimer (DA) (CHEN et al., 2023; DE CAMPOS et al., 2023; MAMBRO; SOUZA; SILVA, 2022).

A Doença Alzheimer (DA) foi descoberta no ano 1907 pelo neurologista Alois Alzheimer. É uma doença neurodegenerativa crônica, de etiologia indeterminada, irreversível, ocasionando diferentes distúrbios cognitivos devido à atividade colinérgica reduzida no cérebro. Além das características neuropatológicas, são associadas a DA o estresse oxidativo e processos inflamatórios (LEE et al., 2012). Afeta, principalmente, a população acima dos 60 anos de idade. No entanto, não é uma doença específica dos idosos,

cerca de 5% dos casos está relacionada a mutações genéticas familiares e atinge indivíduos na faixa etária de 30 a 50 anos. Com o crescimento da qualidade de vida, cresce a expectativa de vida entre a população mais idosa, e espera-se que os casos tripliquem até 2050 (AHMED et al., 2021; LOGESH; SATHASIVAMPILLAI, 2023).

Neste estudo, usamos o nematódeo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como modelo *in vivo* para analisar a atividade biológica do óleo essencial de *Lippia sidoides* syn. *L. origanoides* (LOEO) (ALMEIDA et al., 2018a), por ser um modelo amplamente utilizado em pesquisas de laboratório (GÓMEZ-ORTE et al., 2018). O *C. elegans* é uma ferramenta poderosa para o estudo dos mecanismos das doenças neurodegenerativas, devido à sua facilidade de manipulação genética, ciclo de vida curto, estrutura simples e grande homologia com mamíferos, fornecendo um sistema de todo o animal passível de inúmeras técnicas moleculares e bioquímicas (CALDWELL; WILLICOTT; CALDWELL, 2020; CORSI, 2015; LINK, 2006; VAN PELT; TRUTTMANN, 2020). Além disso, *C. elegans* pode ser prontamente induzido por edição de genes para expressar  $A\beta$  humano em suas células musculares e neurônios, por isso é considerado um modelo poderoso para a triagem de drogas relacionadas à AD e esclarecimento de seus mecanismos (ALEXANDER; MARFIL; LI, 2014; CHEN et al., 2020b; MARTINEZ-FINLEY et al., 2020).

Assim, nesse trabalho iremos avaliar os efeitos do óleo essencial de *Lippia origanoides* (EOLO), *in vitro* e *in vivo*, no modelo *C. elegans*, analisar a toxicidade, resistência ao estresse, taxa de sobrevivência em condição de estresse, expectativa de vida, com o objetivo de investigar se o EOLO melhora as espécies reativas de oxigênio no modelo *C. elegans*.

## 1.1 FAMÍLIA VERBENACEAE

A flora brasileira possui 50032 espécies nativas, cultivadas e naturalizadas (Flora do Brasil, 2015; BFG, 2021) em mais de nove ecossistemas diferentes (CARVALHO et al., 2018). Dentre as inúmeras espécies que ocorrem na região Amazônica, destacam-se as espécies da família verbenaceae.

A família Verbenaceae J.St.-Hil envolve uma grande variedade de plantas com flores, caracterizadas como espécies Arbusto, Árvore, Erva, Trepadeira, Subarbusto. Essa família possui, aproximadamente, 32 gêneros e cerca de 800 espécies (CARDOSO et al., 2021; CARDOSO; SALIMENA, 2019), distribuídas na Ásia, África, Europa, Oceania e com maior ocorrência nas Américas do Sul, do Norte e América Central em países como Brasil, Venezuela, Equador, Colômbia, México e Estados Unidos, mas especificamente em

regiões tropicais e subtropicais (CARDOSO; SALIMENA, 2019; O'LEARY; CARDOSO; SCHAEFER, 2020).

No Brasil, a família verbenaceae se destaca pela maior diversidade de táxons com ocorrência de 14 gêneros e 288 espécies, sendo 191 espécies endêmicas (Flora do Brasil, 2015). Na grande maioria são plantas reconhecidas por sua beleza paisagística além das propriedades medicinais, utilizadas mundialmente por sua importância terapêutica, devido a seus fitoconstituintes bioativos (CARDOSO et al., 2018; LU et al., 2021).

As plantas pertencentes a essa família são reconhecidas na medicina popular, e suas espécies são utilizadas como digestivo, carminativo, antitérmico, antitussígeno, antisséptico e cicatrizante (MOHAMMADHOSSEINI et al., 2022a; PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018; TOUMA et al., 2020a; TRINDADE et al., 2021a), juntamente com a utilização de seus óleos essenciais (EOs). Desde a antiguidade os EOs são aplicados na aromaterapia, por possuírem muitas propriedades medicinais (ARAGÃO et al., 2021; GNATTA et al., 2016; GOMES et al., 2019; PEREIRA et al., 2021).

Nesta família, destaco os gêneros a *Lantana camara* (salva selvagem ou vermelha), por sua beleza exótica de grande apelo florístico (NEGI et al., 2019; ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2011) e a *Lippia alba* (erva-cidreira) por ser uma das plantas mais cultivadas e utilizadas na medicina popular brasileira (figura 1A, 1B e 1C), respectivamente. É atribuído a essas espécies atividades como digestiva, carminativa, antitérmica, antitussígena, antisséptica, cicatrizante, expectorante, anti-histamínica, e têm aplicação em tratamentos de problemas cardíacos, bronquite, espasmos, e também na regulação do ciclo menstrual (BARRETO et al., 2010; LEITE et al., 2022; MOHAMMADHOSSEINI et al., 2022a; PURI, 2018).

Figura 1. A) *Lantana camara*; B) *Lantana camara* C) *Lippia alba*.



Fonte: Autora.

## 1.2 *Lippia*

O gênero *Lippia* é o segundo maior da família Verbenaceae, geralmente são plantas aromáticas, que inclui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e árvores de pequeno porte (OUKERROU et al., 2017). O Brasil está no centro dessa biodiversidade do gênero com 98 espécies apresentando alto grau de endemismo (ALMEIDA et al., 2018a). São plantas de grande importância, por possuírem diversas substâncias bioativas, provenientes de seu metabolismo secundário, reconhecida por apresentarem atividades antimicrobiana, analgésica, antifúngica, além de compostos que atuam no sistema imunológico (SALES et al., 2022; SAMBA et al., 2020; SPYRIDOPOULOU et al., 2021; TRINDADE et al., 2021a; VILELA et al., 2020)

A salva do campo (*Lippia origanoides* Kunth) é uma planta medicinal muito utilizada na culinária como inibidor de apetite, aromatizante de pratos regionais, sendo que na região amazônica é muito utilizada no tratamento de doenças gastrointestinais, respiratórias, cólica infantil, diarreia, flatulência, inflamação uterina, e febre (OLIVEIRA et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014). No caso particular de Roraima, é usada para tratar tosse e como depurativo do sangue, após pneumonia (MILLIKEN, 2021).

Os OEs são substâncias orgânicas e voláteis, sintetizadas naturalmente nas folhas, flores, caules e raízes como parte do metabolismo secundário para defesa da planta. Os OEs são conhecidos da medicina tradicional há milhares de anos, sendo utilizados na cura de diferentes enfermidades (AYAZ et al., 2017; BENNY; THOMAS, 2019). Estudos indicam que os metabólitos secundários das plantas possuem diversas atividades, entre elas antimicrobiana, antifúngico, antiviral, antioxidante, potencial neuroprotetor, antienvelhecimento (CHU et al., 2014; HUANG et al., 2019; POSTU et al., 2020) e atividade na inibição da acetilcolinesterase, *in vitro* (ELDUFANI; BLAISE, 2019; MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al., 2019; PATEL et al., 2018; POSTU et al., 2020; SRIVASTAVA, Nidhi et al., 2015; WANI et al., 2021), conforme Tabela 1.

Tabela 1- Potencial de óleos essenciais de plantas em originar novos fármacos

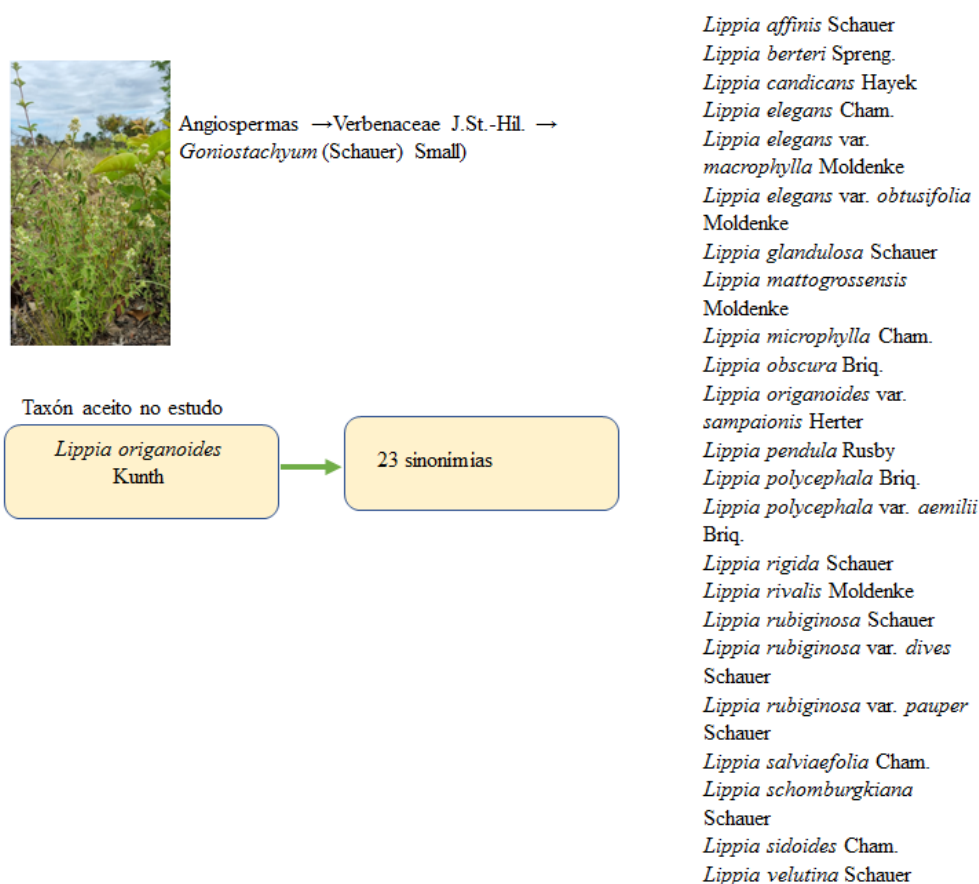
Nome popular	Nome científico	Atividade	Referência
Citronella	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Larvicida	BRICARELLO et al., 2021
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>		DA SILVA et al., 2023
Horsewood	<i>Clausena dentata</i> (Willd) M. Roam. (Rutaceae)		RAJKUMAR; JEBANESAN, 2010
Estrepa cavalo	<i>Lippia origanoides</i> Kunth	Antibacteriana	RIBEIRO, Fabiana Paiva et al., 2021
Erva-cidreira	<i>Lippia alba</i>	Antiviral	SILVA et al., 2022
Murta	<i>Myrtus communis</i> var. <i>italica</i> L	Antioxidante	AIDI WANNES et al., 2010
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.		BRANDT et al., 2023
Lavanda verdadeira	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.		JEDDI et al., 2023
Orégano	<i>Lippia palmeri</i> Watts		REYES-BECERRIL et al., 2021
Manjerição Cãnfora	<i>Ocimum kilimandscharicum</i> Gürke	Analgésica e anti-inflamatória	DOS SANTOS et al., 2021
Cumarú	<i>Amburana cearensis</i>	Anticonceptiva	DE VERAS et al., 2023
Genipó	<i>Genipa americana</i> L.	Fungicida	GUILHERME et al., 2023
Lavanda Brasileira	<i>Lavandula dentata</i>		WAGNER et al., 2021
Esterco-do-diabo	<i>Ferula assa-foetida</i>	Anticancerígeno	SIRIZI et al., 2023
Ginseng	<i>Panax ginseng</i> C.A. Mey	Neuroprotetor	HUANG et al., 2019
Manjerona	<i>Origanum majorana</i>		POSTU et al., 2020
Pimenta ou pimenta rosa	<i>Schinus areira</i>	Inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChE)	MATTAR et al., 2022
Araçá ou araçari	<i>Psidium striatum</i>		MONIZ ANA MARIA HENRIQUE

Fonte: Moniz, et al., 2023

### 1.3 *Lippia organoides* Kunth

*Lippia sidoides* (syn *Lippia glandulosa* Schauer), é uma espécie da família Verbenaceae, possui 23 sinónímias, como esquematizado na Figura 2, entre elas a syn *Lippia organoides* Kunth (SALIMENA et al., 2020; O'LEARY et al., 2012), um dos termos utilizados no caderno de fitoterápicos do Brasil (ANVISA, 2021).

Figura 2 - Classificação taxonômica de espécies do gênero *Lippia* na seção *Goniostachyum*.



Adaptado de Reflora (2020).

### 1.4 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO) E NITROGÊNIO (ERN)

Espécies Reativas são moléculas altamente instáveis e reativas, liberadas pelo metabolismo do corpo, formadas por um átomo ou associação de átomos, e que possuem um elétron desemparelhado em sua órbita mais externa. Essa característica resulta em alta instabilidade energética e cinética, fazendo com que precisem doar ou retirar um elétron de outra molécula para se manterem estáveis. Assim, são capazes de reagir quimicamente com

biomoléculas celulares, como ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, causando modificações oxidativas, levando a alterações em suas estruturas e causando danos às suas atividades celulares (BOUYAHYA et al., 2017; REDZA-DUTORDOIR; AVERILL-BATES, 2016).

O estresse oxidativo (ROs) é provocado pela produção excessiva de EROs, ou uma redução nas defesas antioxidantes do organismo, e ocorre devido a um desequilíbrio entre os fatores pró- e anti-oxidantes (NANDI et al., 2019; PISOSCHI; POP, 2015). A superprodução de EROs pode causar danos significativos à estrutura e função celular, e tem sido relacionado a doenças degenerativas, como a doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson, diabetes, catarata, câncer e doenças cardiovasculares, atribuídas as condições de estresse oxidativo e ao processo de envelhecimento natural (BHATT; PULI; PATIL, 2021; DEY et al., 2017; LUU et al., 2015; SMITH; CAPPAL; BARNHAM, 2007). Envelhecer é um processo natural que ocorre em todos os seres vivos. Em humanos, a mortalidade natural está relacionada ao envelhecimento e as doenças relacionadas à idade (KUNUGI; MOHAMMED ALI, 2019).

Os produtos naturais são fonte de metabólitos secundários altamente bioativos com seus valores terapêuticos significativos, incluindo inibidores enzimáticos, que são uma alternativa na fase de descoberta e elaboração de novos fármacos (AKRAM; NAWAZ, 2017; SIMAMORA et al., 2020). Estudos científicos demonstram que produtos de origem natural, são seguros e eficazes em aliviar ou melhorar danos oxidativos, de forma a adiar o início da DA (UDDIN et al., 2019).

### 1.5 METABOLISMO SECUNDÁRIO DAS PLANTAS

Os metabólitos secundários, são compostos envolvidos no mecanismo de defesa das plantas, atuando na resistência a fatores ambientais aumentando sua capacidade de sobrevivência (Figura 3).

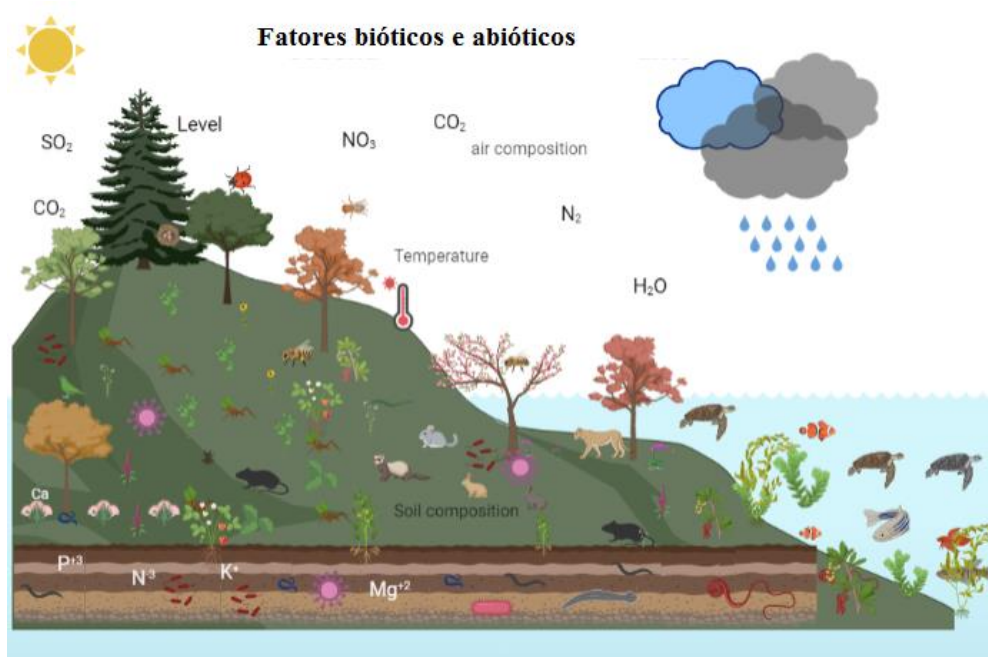


Figura 3. Fatores que influenciam o metabolismo secundário das plantas.

Fonte: Autora, 2023 (<https://app.biorender.com>).

A produção desses metabólitos varia com a região, ciclo circadiano, sazonalidade e os estresses externos bióticos e abióticos aos quais as plantas sofrem (Pereira et al., 2018, Ferraz, et al. 2018, de Sousa et al., 2022). Geralmente, são óleos voláteis obtidos de diferentes partes de plantas aromáticas, na maioria das vezes com odor agradável (Zamora, et al. 2018, Wani, et al. 2021, Melo, et al.2018).

Estudos indicam que os óleos essenciais (EOs), possuem diversas atividades medicinais (Mittal et al., 2019; Plant et al., 2019; Ramsey et al., 2020; Bezerra et al., 2020; Koyama & Heinbockel, 2020; Haro-González, et al., 2021; Motti et al., 2022)., entre elas antibacteriana (Silva, et al. 2022), antimicrobiana (Ribeiro, et al. 2021) antifúngicos, antivirais (Wani, et al. 2021), antioxidantes (Reyes-Becerril, et al. 2020), potenciais neuroprotetores (Chu et al. 2014, Ayaz, et al. 2017; Huang, et al. 2019, Postu, et al. 2020) e inibidores da acetilcolinesterase (Jyotshna, et al. 2015; Patel, et al. 2018; Eldufani & Blaise, 2019; Moniz, et al, 2019; Postu, et al, 2019).

### 1.5.1 Óleos essenciais como fonte de metabolitos secundários

Plantas aromáticas contendo óleos essenciais, apresentam propriedades aromatizantes naturais que são agradáveis ao sensorial humano, sendo utilizadas desde o início da história da humanidade, com objetivo de melhorar ou intensificar as propriedades organolépticas em alimentos, bebidas, cosméticos e perfumarias. (Dosoky & Setzer, 2018; Azis et al., 2018;).

Óleo voláteis ou essenciais (VO), é uma mistura de compostos orgânicos, voláteis,

sintetizados naturalmente em diferentes órgãos (folhas, flores, caules e raízes) de plantas aromáticas, produzidos pelo metabolismo secundário vegetal, extraídos na maioria das vezes por hidrodestilação ou processo mecânico adequado (Cutrim et al., 2019, Cáceres et al., 2020; Felix et al., 2021; de Assis et al., 2021).

O interesse por óleos essenciais está nas diferentes áreas do conhecimento com as mais variadas aplicações nas indústrias química como bioinseticida (Oliveira et al., 20218; Rodríguez-González et al., 2020; Santos et al., 2020; de Albuquerque Lima, et al., 2021), antifúngicos (Arruda et al., 2019; Ortega-Cuadros et al., 2020), na cosmética (Sagbo & Mbeng et al., 2019; Gimenes et al., 2021), alimentícia (Leyva-Jiménez et al., 2019; Bautista-Hernández et al., 2021; Lascurain-Rangel et al., 2022; Moroni et al., 2022) e farmacêutica, por apresentar atividades anti-hipotensora, anti-inflamatória, anti-analgésica, antipirética, anti-malária, antimicrobianas (de Almeida et al., 2018; Masunda et al., 2020; Lucca et al., 2022), antioxidantes (Joshi et al., 2018; de Oliveira et al., 2019; Moller et al., 2020) e inibidor da acetilcolinesterase (Silva et al., 2019; Saidi et al., 2022; Kobenan et al., 2022).

### 1.5.2 Terpenos ou terpenóides

Os terpenos, são alcenos naturais com ligação dupla entre dois carbonos (C=C), ao se ligar com um oxigênio, o terpeno é denominado de terpenóide (Oldfield e Lin, 2012; Felipe e Bicas, 2016). Assim, terpenos e terpenóides (isoprenóides), Figura 4, constituem a maior classe de substâncias de origem vegetal, com grande variedade estrutural e funcional, devido aos aspectos tridimensionais da molécula. Suas características químicas e aplicações variam de acordo com a isomeria da molécula (Dickschat, 2011; Oldfield and Lin, 2013, Rudolf et al., 2020).

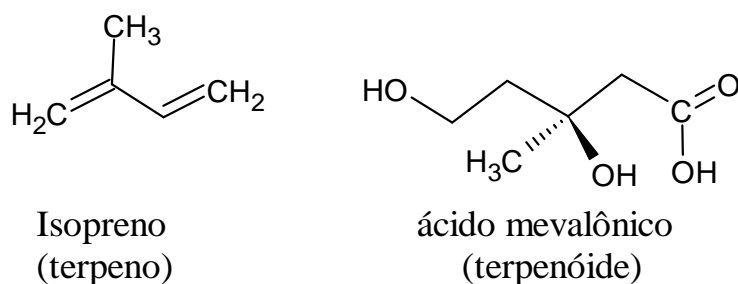


Figura 4 – Isoprenóides ou alcenos naturais.

Fonte: Autora, 2023 (ACD/3D Viewer-freeware: ChemSketch Window)  
[www.acdlabs.com](http://www.acdlabs.com)

Uma classe de terpenos e terpenóides são os isoprenóides (TI), que são produzidos por plantas, fungos, raramente por bactérias, mas, estão presentes em todas as formas de vida. A

quimiodiversidade dessa classe de compostos, soma mais de 80.000 substâncias conhecidas e caracterizadas. EOs ricos em terpenos/terpenóides são comercialmente valiosos e importantes (Blank et al., 2020; Couillaud et al., 2022; Burkhardt et al., 2022), devido as inúmeras aplicações na agricultura, cosmética, perfumaria, alimentose medicina.

A classificação dos terpenos é realizada pelo número de átomos de carbonos presentes na molécula, a unidade básica é formada por cinco átomos de carbonos, chamada isopreno (C5). A biossíntese de formação dos terpenos, ocorre pela justaposição sucessiva de suas moléculas precursoras, o isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) de forma cabeça-cauda ou cauda-cabeça, são produzidos no citosol a partir do ácido mevalônico, (MVA) ou nos plastídios a partir do piruvato e 3-fosfoglicerato, (MEP).

As enzimas envolvidas fazem parte do bloco terpeno sintetases, que produzem os diferentes terpenos vegetais, por ciclizações e diversos rearranjos (Rico et al., 2019; Bergman et al., 2019, Zhou e Pichersky et al., 2020; Harms et al., 2020; Couillaud et al., 2022). A separação entre MVA e MEP é quase inexistente, uma vez IPP e DMAPP sintetizados no citosol podem ser desviados para o metabolismo nos cloroplastos, e vice-versa. Dependendo da quantidade de unidades isoprênicas, os compostos terpênicos podem ser classificados como hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesquiterpenos (C25), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (BISWAS et al., 2009; Dickschat, 2011; Harms et al., 2020; Zhou and Pichersky, 2020; Yin e Dickschat, 2023).

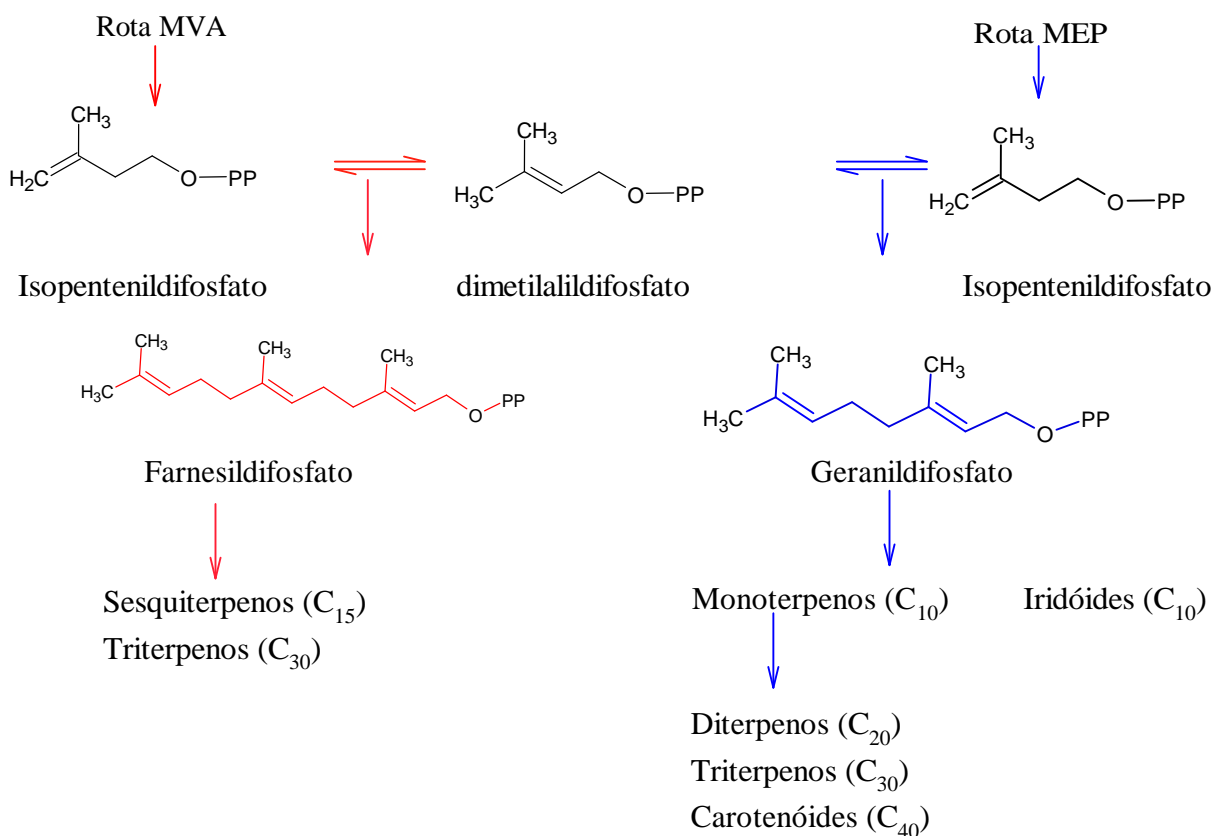


Figura 5 - Rota biossintética dos terpenos

Fonte: Moniz, et al., 2024, (ACD/3D Viewer-freeware: ChemSketch Window) www.acdlabs.com. Adaptado BISWAS et al. (2009) e DICKSCHAT (2011).

Para adaptar-se às condições ambientais, as plantas modificam sua composição química sem afetar sua aparência externa (fenótipo), essas diferenças ocorrem no metabolismo secundário, dando origem a uma grande variedade genética entre espécies, os quimiotipos, com propriedades medicinais diferentes (Tavares et al., 2004; Tomazoni et al., 2016; Ariza Nieto et al., 2018; Pauletti e Silvestre, 2018; Cutrim et al., 2019; Silva et al., 2021; Maccioni et al., 2021).

### 1.6 QUIMIOTIPOS DE *Lippia*

Quimiotipo é o termo utilizado para definir as diferenças existentes dentro de uma mesma espécie de plantas e os compostos majoritários, produzidos de forma predominante, distinguindo-se por esta característica dos demais indivíduos da mesma espécie. As plantas podem ser morfológicamente idênticas e ao mesmo tempo apresentar composição química distinta em função de alterações genéticas ou epigenéticas além das ambientais (JANNUZZI et al., 2011; LINDE et al., 2016).

Dentro do gênero *Lippia*, existe a ocorrência de quimiotipos (QT) para várias espécies, um exemplo, é a *Lippia alba* (*L.alba*), que apresenta o QT.I - citral, linalol e  $\beta$ -cariofileno, QT.II – tagetenone (percentual alto de limoneno e com quantidade variável de carvona ou cetonas monoterpênicas), QT.III – Carvona, QT.IV – mirceno/citral, QT.V - terpineno QT.VI - 1,8-cineole quimiotipo e QT.VII – estragol (de Albuquerque lima et al., 2021; LINDE et al., 2016). A atividade biológica dos óleos essenciais, na maioria das vezes estão relacionados a um quimiotipo específico da espécie, por exemplo, QT.I repelente (Caballero-Gallardo et al., 2023), QT. III regula a mobilização lipídica e a adipogênese nos adipócitos (Bonilla-Carvajal et al., 2022), QT. VI inseticida (de albuquerque lima et al., 2021), antifúngico (dos Santos et al., 2016). Uma outra espécie desse gênero, é a *Lippia origanoides*, é uma planta aromática conhecida por produzir uma diversidade de óleos essenciais, que são classificadas em quimiotipos (MONIZ et al., 2023).

### 1.7 DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

A expressão doença neurodegenerativa (DN) são neuropatias relacionadas com alterações na conformação nativa das proteínas, engloba um grupo heterogêneo de doenças complexas que atacam o Sistema Nervoso Central (SNC). Particularidades comuns a todas as

doenças neurodegenerativas (DNs) são a perda neuronal e degeneração progressiva de diferentes áreas do sistema nervoso, o que resulta em uma disfunção do SNC (AGNELLO; CIACCIO, 2022; CHI; CHANG; SANG, 2018).

As DNs representam um problema de saúde grave em todo o mundo, com taxa de incidência crescente (AGNELLO; CIACCIO, 2022; REITH, 2018). A compreensão da patogênese das DNs até o momento continua complexa, tem sido observado uma interação intrincada entre fatores ambientais, genéticos e epigenéticos. Além do mais, nas últimas décadas, nenhum tratamento totalmente eficiente foi desenvolvido para adiar, impedir ou prevenir quaisquer DNs (CHENG; LIN; LANE, 2021; DUGGER; DICKSON, 2017). Alguns exemplos de DNs são a Doença de Parkinson (DP), Doença de Huntington (DH), Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) e doença de Alzheimer (DA) (XIA; WANG; ZHENG, 2022).

Ainda que bastante heterogêneas, as DNs possuem algumas peculiaridades em comum, como por exemplo, a associação com o envelhecimento. Acredita-se que o fator de risco mais consistente para DA seja o avançar da idade (PRZEDBORSKI, VILA e JACKSON-LEWIS, 2003). A DA é uma desordem neurodegenerativa indicada como a forma mais comum de demência entre os idosos. Essa enfermidade é incurável e debilitante, levando à perda progressiva de sensação, cognição, neurônios motores e paralisia gradual (BRITO et al., 2021; GUEDES DA PAZ et al., 2021; SCOLA; WERNECK; FRANCO, 1996).

## 1.8 ACETILCOLINESTERASE

A DA é um transtorno neurodegenerativo progressivo, comum na população maior de 60 anos, que afeta o desenvolvimento da capacidade mental e bloqueia a função neurocognitiva, evidenciada por neurodegeneração. A neurodegeneração é tipificada pela perda neural, presença de emaranhados neurofibrilares e placas A $\beta$  (SRIVASTAVA et al., 2015). Ainda que a neuropatologia da DA tenha sido bem definida, a explicação do mecanismo que estão no desenvolvimento da doença permanecem discutíveis (NEBEL et al., 2018). Com isso, algumas teorias foram sugeridas, incluindo suscetibilidade genética, a hipótese da cascata amilóide ( $\beta$ -amilóide), o envelhecimento acelerado, apoptose, disfunção da autofagia, neuroinflamação, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e a hipótese colinérgica (AGGARWAL; MIELKE, 2023).

A hipótese colinérgica é amplamente aceita e a mesma relaciona que o fator principal da DA é a carência do neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas regiões neuronais e neuromusculares. A escassez da ACh no cérebro deve-se à diminuição da atividade enzimática da AChE no neurotransmissor ACh. Quatro em cada cinco medicamentos disponíveis comercialmente para o tratamento da DA baseiam-se na hipótese colinérgica

(SRIVASTAVA; AHMAD; KHARE, 2021). No entanto, apesar da busca incessante por drogas capazes de erradicar a DA, até o presente momento, não existe um tratamento eficaz contra essa patologia.

Modelos experimentais têm sido muito importantes para o aperfeiçoamento, comprovação de técnicas e procedimentos já existentes, além da elaboração de protocolos de pesquisa e a submissão a comitês de ética (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005; ROSEN; YARMUSH, 2023; SOUZA; GOTTFRIED, 2013; TROILO et al., 2019). O *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) é um dos supermodelos da biologia moderna. É o primeiro animal multicelular a ter seu genoma sequenciado, todo seu desenvolvimento celular já foi mapeado e suas redes de conexão neural determinadas. O *C. elegans* evoluiu como modelo relevante para o estudo da DA, como modelo farmacológico ideal para rastrear a eficácia de candidatos a medicamentos e no estudo do mecanismo de ação subjacente do medicamento (GRAY; CUTTER, 2014; PAUL et al., 2020).

## 1.9 *C. elegans* COMO MODELO PARA ESTUDOS COM ÓLEOS ESSENCIAIS

### 1.9.1 Um pouco da história do *C. elegans*

Em 1897, final do século XIX, o zoólogo francês Émile Maupas identificou, pela primeira vez, o nematódeo *Rhabditis elegans* (*Rhabditis* “haste”; *elegans* “delgado”), no solo de Argel, fato este mencionado em sua publicação em 1900 (FÉLIX; BRAENDLE, 2010). Maupas em suas descrições ressaltou as funções de alguns nematoides, tais como *Rhabditis coronata*, *Diplogaster robustus* e *Rhabditis elegans*, como modelos biológicos de estudo, com atenção especial ao *Rhabditis elegans*. Em 1950, estudos taxonômicos e filogenéticos resultaram na divisão das espécies do gênero *Rhabditis* em vários novos gêneros como o gênero *Caenorhabditis*, no qual foi enquadrado o nematoide *Rhabditis elegans*, inicialmente descrito por Maupas, que passou a ser chamado de *Caenorhabditis elegans* (*Caeno* “recente”; *rhabditis* “haste”; *elegans* “delgado”) (FÉLIX; BRAENDLE, 2010; “History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms”, 2017; NIGON; DOUGHERTY, 1949; TISSENBAUM, 2015)

### 1.9.2 Descrição do ciclo de vida do *C. elegans*

O *C. elegans* é um nematoide de vida livre que apresenta comprimento de 1 mm na fase adulta. O desenvolvimento desse organismo se inicia com o ovo seguido por quatro estágios larvais (L1 a L4) e fase adulta. O ciclo de vida é curto, se desenvolve em 3 dias, na temperatura de 25 °C, e em meio de cultura com a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*),

enquanto que na temperatura de 20 °C seu desenvolvimento acontece em 3<sup>1/2</sup>, com o mesmo meio de cultura. Na figura 3 é apresentado o ciclo de vida do *C. elegans*, a 22 °C (KEIL et al., 2017). Importante destacar que, acima de 25°C, o *C. elegans* se torna infértil, o que torna inviável essa temperatura para o crescimento contínuo dos animais.

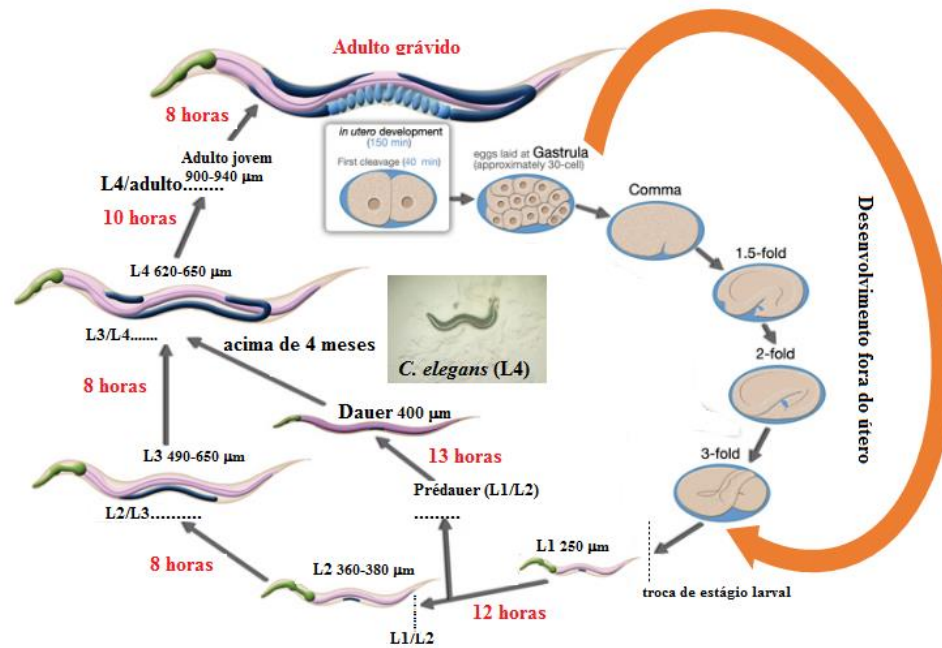


Figura 3 - Ciclo de vida do *Caenorhabditis elegans*, a 22 °C, em *E. coli*. Representação de seus 4 estágios larvais (L1 – L4), estágio adulto e estágio dauer (que corresponde a uma pausa no crescimento, devido à sua exposição a condições ambientais adversas, ex.: ausência de alimento e baixas temperaturas). No estágio dauer, os vermes podem permanecer estacionários nos estágios larvais L1-L2 por mais de 4 meses. Adaptado: Worm Atlas.

A forma larval Dauer (“dauer” em alemão significa “duradouro”) é uma forma resistente, onde o metabolismo do verme diminui e fica quiescente, sem se alimentar, por mais de 4 meses. Porém, após encontrar condições adequadas, o animal Dauer se desenvolve direto para a fase L4 e continua seu ciclo de vida (“History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms”, 2017).

Na eclosão, o hermafrodita e o macho são quase idênticos morfológicamente; na fase adulta, com algumas diferenças sexuais um tanto óbvias, Figura 4. Algumas diferenças sexuais surgem de células blásticas onde os padrões de divisão no início são semelhantes, mas posteriormente divergem tanto no hermafrodita quanto no macho. No macho, produzem estruturas morfológicamente diferentes que atuam antes e durante a cópula. Ademais, o desenvolvimento do macho inclui uma profusão de linhagens derivadas de células que não se dividem no hermafrodita. Enquanto que no hermafrodita, essas células produzem estruturas utilizadas na postura dos ovos e no acasalamento. Eventos de desenvolvimento pós-embriônico semelhantes ocorrem em outras espécies de nematoides (“History of research on

*C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms”, 2017; SULSTON; HORVITZ, 1977).

A ampla maioria dos indivíduos são hermafroditas autofecundantes, e uma pequena porcentagem (~0,2%) é formada por machos Figura 4A. Ambos os sexos, são diploides para os cinco cromossomos autossômicos. O sexo é determinado pela proporção de cromossomos X, os machos apresentam apenas um cromossomo X0, ao passo que os indivíduos XX são somaticamente fêmeas, enquanto a linha germinativa é considerada hermafrodita (Figura 4B), por ser autofecundante. Os machos possuem uma gônada unilobulada, um canal deferente, e uma cauda especializada para o acasalamento. Os hermafroditas são fêmeas cujas gônadas produzem espermatozoides temporariamente antes de produzirem oócitos, podem produzir até 300 descendentes próprios que são fertilizados pelo esperma armazenado. Os ovos são liberados fertilizados pelo indivíduo hermafrodita, no entanto, caso haja cópula, os espermatozoides do macho serão armazenados, também, na espermateca e terão preferência na fecundação, podendo originar até 1.000 descendentes, indicando que o esperma produzido por hermafroditas é um fator limitante na autofecundação (CORSI, et al. 2015). Após fertilização, o embrião (Figura 4C) se desenvolve dentro do ovo e eclode em aproximadamente 12 horas, dando origem à primeira forma larvária (L1).

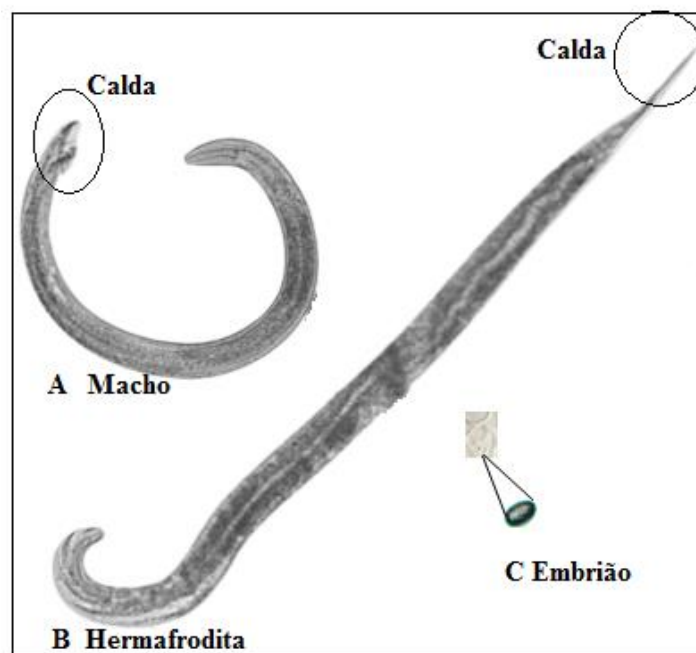


Figura 4 Diferenças sexuais, visualizadas no *C. elegans* A) macho L4 (Calda em raio) B) hermafrodita L4 C) Embrião fertilizado. Fonte: fotos Moniz (2024).

### 1.9.3 *C. elegans* como modelo animal para estudos *in vivo*

Na década de 60, o cientista Sidney Brenner realizou importantes experimentos com bactérias, que muitos contribuíram para o surgimento e implantação no campo da Biologia Molecular. Nessa época, Brenner, já estava à procura de um modelo que pudesse crescer e se desenvolver em laboratório, que fosse de baixo custo para manter e manusear. Brenner acreditava que o futuro da investigação biológica residia em organismos modelo e ele escolheu o nematoide *C. elegans*. O nematoide não parasitário de vida livre, *C. elegans*, foi utilizado pela primeira vez, em 1965, por Sydney Brenner, onde foi descrito como organismo modelo, apropriado para estudos genéticos, no qual se podia determinar a estrutura completa do sistema nervoso (“History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms”, 2017; SULSTON; HORVITZ, 1977). Desde então, esse nematódeo tem se firmado como modelo experimental, multicelular simples de extrema importância para estudos de mecanismos moleculares e celulares em diferentes áreas do conhecimento (KOMURA et al., 2022; LEUNG et al., 2008).

O *C. elegans*, apresenta um número fixo de células no organismo adulto, com 959 células no corpo do adulto hermafrodita. Possui muitos dos tecidos e órgãos de outros animais, como músculos, gônadas, epiderme, trato gastrointestinal e sistema nervoso tudo muito simplificado, Figura 5. Um exemplo é o sistema nervoso do hermafrodita que possui 302 neurônios e seu corpo possui 95 músculos da parede corporal. O macho adulto possui os mesmos tecidos e órgão que os hermafroditas, no entanto apresentam 970 células dos quais 383 são neurônios, a maioria dos neurônios extras é atribuída a função da cauda do macho, com sua especialidade em copular (JORGENSEN; MANGO, 2002; SULSTON; HORVITZ, 1977).

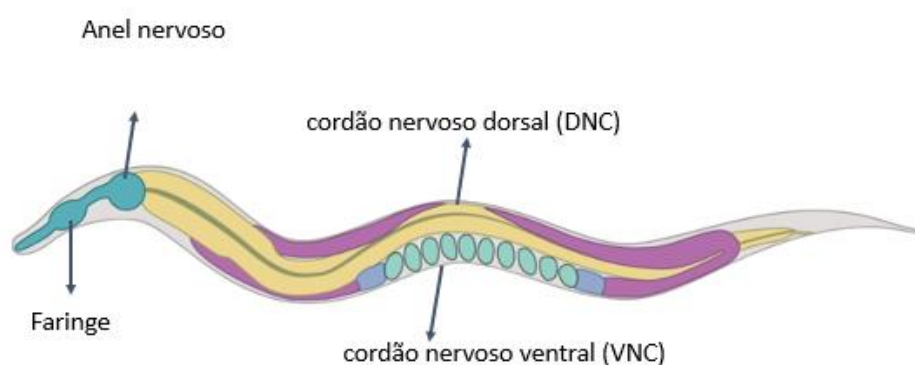


Figura 5 – Sistema nervoso do *Caenorhabditis elegans*. Adaptado do wormbook.org

Diversos modelos experimentais, *in vivo*, têm sido utilizados para rastrear a toxicidade e atividade farmacológica de óleos essenciais. No entanto, o *C. elegans* possui inúmeras vantagens (Figura 6), que o torna não apenas relevante, mas excepcionalmente interessante como organismo vivo para modelar uma série de doenças, incluindo DNs. Devido a cerca de dois terços de suas proteínas serem homólogas e ~38% ortólogas ao genoma humano, sendo que 59% desses genes estão relacionadas a DNs, incluindo a DA (APOSTOLAKOU et al., 2021; JOHNSON; BEHBEHANI; BUSS, 2022; KE et al., 2021; KHAN; JAIN; OLOKETUYI, 2018; MARKAKI; TAVERNARAKIS, 2020; RUSZKIEWICZ et al., 2018; VAHDATI NIA et al., 2017; ZHANG et al., 2013)

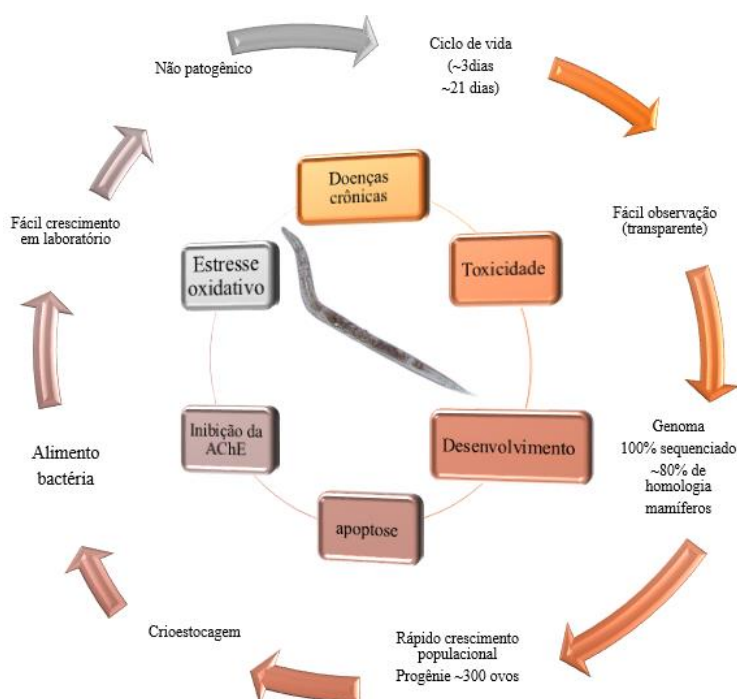


Figura 6. Vantagens de utilizar *C. elegans* como um organismo modelo para estudo, incluindo estudos relacionados ao envelhecimento e a doenças associadas a idade. O fácil cultivo em placas de ágar semeadas com bactérias; fácil manutenção por crioestocagem; crescimento populacional acelerado; facilmente observado ao microscópio, por ser transparente e por seu tamanho corporal; genoma 100% sequenciado; sistema neuronal de fácil identificação.

#### 1.9.4 Tipos de acetilcolinesterase em *C. elegans*

O neurotransmissor acetilcolina (ACh) encontra-se amplamente distribuído no músculo esquelético dos vertebrados. Sendo a ACh o principal neurotransmissor excitatório nas junções neuromusculares do *C. elegans*, utilizado como sinalização colinérgica nos músculos da parede corporal para realizar sua locomoção sinoidal (DAVIS; TANIS, 2022). O sistema nervoso do *C. elegans* possui 118 células, das quais 52 usam a ACh, o que o torna o neurotransmissor mais utilizado. Todas as enzimas de mamíferos que sintetizam ACh (colina acetiltransferase) e hidrolisam ACh (AChE, acetilcolinesterase), bem como transportadores e receptores inerentes ao sistema colinérgico, possuem todos homólogos em *C. elegans*. (SCHETINGER et al., 2019; WANG et al., 2024). A transmissão colinérgica está envolvida, direta ou indiretamente, no desenvolvimento do *C. elegans*, incluindo acasalamento dos machos, postura de ovos, alimentação e locomoção.

O gene *unc-17* no *C. elegans* codifica o transportador de ACh necessário para a carregar nas vesículas sinápticas, sendo esse um dos fatores que a torna tão essencial para toda a neurotransmissão colinérgica, nesse animal. Assim sendo, mutações no gene *unc-17* produzem déficit nas funções neuromusculares do *C. elegans*, conferindo um fenótipo descoordenados, enquanto os animais tipo selvagens traçam ondas suaves e sinuosas à medida que se movem; os mutantes *unc-7* fazem curvas ou torções irregulares ao longo de seus corpos, principalmente quando avançam, na superfície do ágar. Além do mais, mutantes nulos do gene *unc-17*, são letais, o que demonstra sua importância como transportador vesicular de ACh. No entanto, outros mutantes hipomórficos (função reduzida) viáveis foram isolados, sendo a maioria resistentes a inibidores da AChE, como o aldicarbe BRENNER, 1974 (ALFONSO et al., 1993; MATHEWS et al., 2021; OH; KIM, 2017; OPPERMAN; CHANG, [s.d.]; SERRANO-SAIZ et al., 2020; STARICH; HERMAN; SHAW, 1993).

O tratamento do *C. elegans* com aldicarbe causa acúmulo de ACh nas junções neuromusculares do verme, levando à paralisia aguda. Mutações que diminuem a liberação de ACh conferem resistência à paralisia e letalidade induzidas pelo aldicarbe (SIEBURTH et al., 2005).

O *C. elegans* possui três classes farmacológicas de AChE, são elas a classe A, B e C e são codificadas por quatro genes *ace* que controlam a expressão de classes distintas da AChE, enzimas responsável pela hidrólise do neurotransmissor ACh. Assim, a AChE-A é codificada pelo gene *ace-1* a AChE-B pelo gene *ace-2* e a AChE-C, codificada pelo gene *ace-3*, existe um quarto gene, *ace-4*, que acreditasse codificar uma proteína não funcional.

O gene *ace-1* são encontrados em todas as células da parede corporal e dos músculos vulvares enquanto que o gene *ace-2* é expresso quase que totalmente nos neurônios e são responsáveis pela maior parte da hidrólise da acetilcolina no *C. elegans*, ao passo que o gene *ace-3* está instalado em diversas células musculares da faringe e nos dois neurônios associados ao canal (células CAN) e o *ace-4* não é funcional. Os genes *ace-1* e *ace-2* codificam 95% de todas as atividades da AChE do verme, fazem parte da classe A e B, respectivamente. Os Mutantes *ace-1* ou *ace-2*, individualmente apresentam apenas fenótipos sutis, embora o mutante duplo *ace-1:ace-2* são fortemente descoordenados. (COMBES et al., 2003; CULETTO et al., 1999; HAN et al., 2016; JOHNSON; HERMAN; STERN, [s.d.], p. 1988)

### **1.9.5 *Caenorhabditis elegans* para ensaios com óleos essenciais**

Nas últimas décadas há um esforço crescente para a descoberta de novos fármacos, que melhorem os sintomas relacionados ao envelhecimento ou até mesmo uma forma de reduzir os riscos de adquirir uma dessas patologias (Arruda et al., 2020). Dentre as alternativas para se encontrar um novo fármaco, está a utilização de plantas medicinais e de seus óleos essenciais (OEs), trazidas pelos povos originários e acompanha o processo evolutivo da humanidade (ARRUDA et al., 2020; COAN; MATIAS, 2014; COUTINHO; TRAVASSOS; DO AMARAL, 2002; HUSSAIN et al., 2022; MALEŠ et al., 2019). Há muito tempo os OEs são utilizados na medicina popular para o tratamento de várias DNs relacionadas ao envelhecimento, devido seu potencial neuroprotetor contra EROs , estresse oxidativo e antienvhecimento (AYAZ et al., 2017).

As atividades biológicas dos OEs estão relacionadas aos seus constituintes e os componentes fenólicos. Os monoterpenóides, fenólico, carvacrol e timol, derivado natural do cimeno e isômero do carvacrol, são encontrados em óleos essenciais de diversas plantas aromáticas tais como, tomilho (*Thymus vulgaris*), erva-pimenta (*Lepidium flavum*), bergamota selvagem (*Citrus aurantium bergamia*) (HOU et al., 2020; SALEHI et al., 2018; SHARIFI-RAD et al., 2018), salva do campo ou alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) (CHACÓN-VARGAS et al., 2022), e outras espécies (PENHA et al., 2021).

Trabalhos têm sido realizados considerando os efeitos sinérgicos ou antagônicos dos compostos majoritários ou quimiotípicos de EOs de plantas aromáticas, para avaliar a toxicidade, desenvolvimento, reprodução (LANZERSTORFER et al., 2021), sobrevivência

(WU et al., 2019) utilizando o modelo animal *C. elegans* além de outras atividades, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Trabalhos com óleos essenciais utilizando o modelo *C. elegans*

Planta/ Composto	Concentração do óleo	Cepa	Atividade	Controle positivo ou negativo	Autor
<i>Rosa Rugosa</i> <i>Thunb</i>	0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL	N2, BZ555 e OW13	Doença de Parkson	n- butilidenef talida	MUHA MMAD et al., 2023
<i>Panax</i> <i>ginseng</i> CA <i>Meyer</i>	0, 12,5, 25 e 50 µg/mL	N2; BC12921 e FX776	Antienvelhecimen to	verme	WANG, Lixin et al., 2022
<i>Cinnamomu</i> <i>m cassia e</i> <i>Syzygium</i> <i>Aromaticum</i>	50, 100 e 150 µg/mL	<i>SS104 glp-4</i> <i>(bn2ts)</i>	Inibição da formação de biofilme	Gentamicina	LANG et al., 2021
<i>Hedychium</i> <i>coronarium</i>	0.80 mg/mL e 0.08 mg/mL	N2 e UVR15	Anti-helmíntica	Ivermectina	LIMA et al., 2021
<i>Ilex</i> <i>paraguariensis</i> <i>is</i>	2 e 4 mg/mL	N2 e CL2006	Toxicidade induzida pela β- amilóide	Cafeína	MACHA DO et al., 2021
<i>Eugenia</i> <i>brejoensis</i> L.	8 a 516 µg/mL	AU37	Antimicrobiana	Verme e <i>E. coli</i>	BEZER RA FILHO et al., 2020
<i>Cryptocarya</i> <i>alba e Laurel</i> <i>ia</i> <i>sempervirens</i>	50–0,39 mg/mL	N2	bactericida	verme	TOUMA et al., 2020

<i>Mansoa alliacea</i>	0,01; 0,1; 1; 10; 100; 1000 µg/mL	N2	Leishmanicida e nematocida	Sal de antimônio (III)	de MELO et al., 2019
Carvacrol e timol	0, 1, 10, 100, 1000, 10000, 100000nM	N2	Anti-helminético	Verme	MARJA NOVIĆ et al., 2018
<i>Kushui rose</i>	0,1; 0,2 0,4; 0,8 1,6 mg/mL	MT2124, TJ356, CF1553, AM263, TJ375, CL2166	Antitumoral	N-acetil-L-cisteína e paraquat	LIU et al., 2018
<i>Rosa Rugosa Thunb</i>	20 µg/mL	N2, CL2006, TJ356, LG333, CL2166, CL4176, CL2355, CL2122	Doença de Parkson	N2 controle negativo para depósito de Aβ.	ZHU et al., 2017

---

Fonte: Autora.

Todos esses trabalhos reforçam a importância de *C. elegans*, como modelo vivo útil, interessante e de baixo custo, para avaliar as propriedades toxicológicas de substâncias bioativas, sejam elas de fonte microbiana, animal ou vegetal (FUENTES et al., 2022; KIM; KIM; LEE, 2016).

### 1.10 OBJETIVO GERAL

✓ Estudo da composição química do óleo essencial extraído das folhas frescas da espécie *Lippia origanoides* Kunth, e avaliação da sua atividade antioxidante e potencial inibidor da acetilcolinesterase em *Caenorhabditis elegans*.

### 1.11 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Preparação e caracterização química do óleo essencial das folhas de *Lippia origanoides* Kunth (OELO)
- ✓ Avaliação da(s) atividade(s) antioxidante do OELO, in vitro
- ✓ Avaliação da citotoxicidade do OELO, in vitro
- ✓ Avaliação da toxicidade do OELO, in vivo, em modelo animal *C. elegans*.
- ✓ Analisar o tratamento com o OELO no Estresse Oxidativo no modelo animal *C. elegans*.
- ✓ Analisar a paralisia no modelo animal *C. elegans*, com o tratamento do OELO.

**CAPÍTULO 1 – QUIMIOTIPOS DE *Lippia origanoides* Kunth NA AMAZONIA E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA: UMA REVISÃO. (Publicado na revista Cuadernos de Educación Y Desarrollo, DOI: 10.55905/cuadv15n12-030, Qualis Capes A4)**

**QUIMIOTIPOS DE *Lippia origanoides* Kunth NA AMAZONIA E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA: UMA REVISÃO.**

**CHEMOTYPES OF *Lippia origanoides* Kunth IN THE AMAZON AND THEIR PHARMACOLOGICAL IMPORTANCE: A REVIEW.**

**ANA MARIA HENRIQUE MONIZ**

Mestre em Química de produtos Naturais pela Universidade Federal do Amazonas-UFAM e Doutoranda pelo BIONORTE-Rede Norte de Biotecnologia, Universidade Federal de Roraima-UFRR

Instituição: Universidade Federal de Roraima - UFRR

Campus Paricarana - Av. Cap Enê Garcêz, 2413 – Aeroporto

CEP: 69310-000, Boa Vista, RR, Brasil

E-mail: [anamonizdoc@gmail.com](mailto:anamonizdoc@gmail.com)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2711-9485>

**FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JUNIOR**

Doutor em Biotecnologia pelo RENORBIO- Rede Nordeste de Biotecnologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Departamento de Ciências Farmacêuticas/ Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BioTecFarm)

Endereço: Campus Universitário I, Castelo Branco III. Cidade Universitária.

CEP: 58051-900 João Pessoa – PB, Brasil.

E-mail: [fhxj@academico.ufpb.br](mailto:fhxj@academico.ufpb.br)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8238-3380>

**WESLLEY DE SOUZA PAIVA**

Doutor em Biotecnologia pelo RENORBIO- Rede Nordeste de Biotecnologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Endereço: Lagoa Nova,

CEP: 59078-900, Natal, RN, Brasil

E-mail: [wdsouza@gmail.com](mailto:wdsouza@gmail.com)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2022-5659>

**ISMAEL MONTERO FERNÁNDEZ**

Doutor em Biotecnologia pelo BIONORTE-Rede Norte de Biotecnologia pela Universidade Federal de Roraima-UFRR

Department of Chemical Engineering and Physical Chemistry. Area of Chemical Engineering.

Faculty of Sciences, University of Extremadura,

Av. de Elvas, s/n, Badajoz, 06006, Spain.

E-mail: [ismonterof@unex.es](mailto:ismonterof@unex.es)

**REGILDO MAX GOMES MARTINS**

Doutor em Biotecnologia pelo BIONORTE-Rede Norte de Biotecnologia pela Universidade Federal de Roraima-UFRR

Instituição: Universidade Federal de Roraima - UFRR

Campus Paricarana - Av. Cap Enê Garcêz, 2413 – Aeroporto

CEP.: 69310-000, Boa Vista, RR, Brasil

E-mail: [regildo\\_max@hotmail.com](mailto:regildo_max@hotmail.com)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2770-226X>

**DANIELE IDALINO JANEIRO**

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Departamento de Ciências Farmacêuticas/ Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BioTecFarm)

Endereço: Campus Universitário I, Castelo Branco III. Cidade Universitária. CEP: 58051-900 João Pessoa – PB, Brasil.

E-mail: [dijaneiro@yahoo.com.br](mailto:dijaneiro@yahoo.com.br)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-3550-8002>

**RIVA DE PAULA OLIVEIRA**

Doutora em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais

Departamento de Biologia Celular e Genética

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN

Endereço: Campus Universitário Lagoa Nova

CEP 59078-970, Natal, RN, Brasil

Phone (+5584) 3211-9209 ramal 211

e-mail: [riva.oliveira@ufrn.br](mailto:riva.oliveira@ufrn.br)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6092-6142>

**ANTONIO ALVES DE MELO FILHO**

Doutor em Química pela Universidade Estadual de Campinas

Professor titular da Universidade Federal de Roraima-UFRR

Campus Paricarana - Av. Cap Enê Garcêz, 2413 – Aeroporto

CEP: 69310-000, Boa Vista, RR, Brasil.

E-mail: [antonio.alves@ufrn.br](mailto:antonio.alves@ufrn.br)

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1050-1397>

## RESUMO

*Lippia origanoides* Kunth (*L. origanoides*), popularmente conhecida na região amazônica como alecrim-pimenta, salva-de-marajó e salva-do-campo, é uma planta medicinal bastante utilizada por suas propriedades farmacológicas para tratamento de diversas doenças, principalmente as relacionadas ao sistema digestivo, respiratório e antimicrobianos, além de ser utilizada como especiaria na culinária tradicional. Estudos têm demonstrado que o óleo essencial de *L. origanoides* (OELO) possui potencial antioxidante, *in vitro*, correlacionando essa atividade aos quimiotipos que, de certa forma, individualiza seus óleos essenciais com quimiotipos (QT) Q.TA caracterizado por p-cimeno,  $\alpha$ - e  $\beta$ -felandreno, limoneno e 1,8-cineol, QT.B carvacrol, QT.C timol, QT.D 1,8-cineol e QT.E E-metil cinamato e E-nerolidol. No sistema único de saúde do Brasil (SUS) a *L. origanoides* é utilizada por suas propriedades antimicrobianas. Neste sentido, o objetivo desta revisão foi realizar um levantamento bibliográfico dos últimos cinco anos do óleo essencial de *L. origanoides* e seus quimiotipos para aplicação em diferentes atividades farmacológicas. Os trabalhos selecionados reforçam as propriedades antimicrobianas, antiparasitária, anti-inflamatória, além de efeito sedativo para peixes e evidências de inibição da acetilcolinesterase, *in vitro*, no mosquito *Aedes aegypti*, atividades essas intimamente relacionadas à composição química do OELO. Com essa revisão foi possível reafirmar a importância da identificação e quantificação, uma vez que sua atividade está associada ao quimiotipo composição do OELO.

**Palavras-chave:** *óleo essencial, salva do campo, alecrim-pimenta, antimicrobiano, antioxidante, inibidor da acetilcolinesterase*

## 1 INTRODUÇÃO

A flora brasileira catalogou cerca de cinquenta mil espécies, classificadas como nativas, cultivadas e naturalizadas. Essas espécies são encontradas em mais de nove ecossistemas diferentes, dos quais se destaca o ecossistema amazônico (CARVALHO et al., 2018; O'LEARY et al., 2012).

A família Verbenaceae J.St.-Hil envolve uma grande variedade de plantas com flores, caracterizadas como espécies arbustivas, arbóreas, herbáceas, trepadeiras e subarbustivas (CARDOSO et al., 2018; CARDOSO; SALIMENA, 2019; JOSHI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2014). São plantas de grande valor econômico, pela beleza exótica de suas flores (NEGI *et al.*, 2019) e pelos fitoconstituintes bioativos (LU *et al.*, 2021) presente em extratos e óleos essenciais (ARAGÃO et al., 2021; PEREIRA, Pedro S. et al., 2021), utilizados como digestivo, carminativo, antipirético, antitussígeno, antisséptico e cicatrizante (MOHAMMADHOSSEINI et al., 2022; TRINDADE et al., 2021; TOUMA et al., 2020).

O gênero *Lippia* é o segundo maior da família Verbenaceae (OUKERROU et al., 2017). São plantas de grande importância, possuem diversas atividades farmacológicas como: antimicrobiana, analgésica, antifúngica, além de compostos que atuam no sistema imunológico (SALES et al., 2022; SPYRIDOPOULOU et al., 2021; TRINDADE et al., 2021; VILELA et al., 2020).

A espécie *Lippia origanoides* Kunth (*L. origanoides*) faz parte de uma lista de 71 plantas de uso medicinal e fitoterápico de interesse do Sistema Único de Saúde do Brasil (SUS) (ANVISA, 2023), devido à ação analgésica, antitérmica, antimicrobiana, antiespasmódica e anti-inflamatórias (ALMEIDA et al., 2018; BRAZIL, 2006), grande parte dessas atividades farmacológicas estão relacionadas aos compostos majoritários e aos seus quimiotipos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento bibliográfico em base de dados acerca da diversidade de atividades biológicas relacionadas aos quimiotipos do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth (OELO), extraído por hidrodestilação das partes aéreas, com devida identificação (CGMS) e quantificação (CGFID) dos compostos.

## 2 ÓLEOS ESSENCIAIS COMO FONTE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

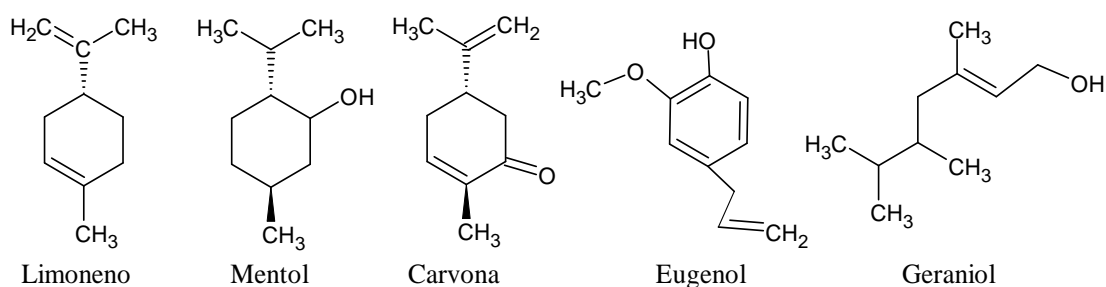
Os metabólitos secundários, como os fenólicos, terpênicos, entre outros, são compostos envolvidos no mecanismo de defesa das plantas, atuando na resistência a fatores ambientais, de forma a aumentar sua capacidade de sobrevivência (LIANG; MCKINNON; RANKIN, 2020). A produção desses metabólitos varia de acordo com a região, o ciclo circadiano, a sazonalidade e os estresses bióticos e abióticos (FERRAZ et al., 2018; JANAÍNA S. PIRES et al., 2017; MONTEIRO et al., 2007; PEREIRA et al., 2018; UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINA GERAIS et al., 2022). Geralmente são óleos voláteis obtidos de diferentes partes de plantas aromáticas, normalmente com odor agradável (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018; WANI et al., 2021).

Os óleos essenciais (OEs) possuem diversas atividades medicinais (BONANOMI; DE FALCO, 2022; HARO-GONZÁLEZ et al., 2021; BEZERRA FILHO et al., 2020; KOYAMA; HEINBOCKEL, 2020; MOTTI; PLANT et al., 2019), incluindo antibacteriano (Da SILVA, et al., 2022), antimicrobiano (RIBEIRO et al., 2021), antifúngico, antiviral (WANI et al., 2021), antioxidante (REYES-BECERRIL et al., 2021), potencial neuroprotetor (POSTU et al., 2020; HUANG et al., 2019) e inibidor da acetilcolinesterase (ELDUFANI; BLAISE, 2019; MONIZ et al., 2019; PATEL et al., 2018; SRIVASTAVA et al., 2015).

O interesse pelos OEs reside em diferentes áreas do conhecimento com as mais variadas aplicações na indústria química como bioinseticida (DE ALBUQUERQUE LIMA et al., 2021; LIMA et al., 2021; OLIVEIRA, SANTOS et al., 2020), antifúngicos (ORTEGA-CUADROS et al., 2020; ROSANI et al., 2019), em cosméticos (GIMENES et al., 2021; SAGBO; MBENG, 2019), alimentos (MORONI; AIS; O'LEARY, 2022; LASCURAIN-RANGEL et al., 2022; BAUTISTA-HERNÁNDEZ et al., 2021) e farmacêutica, devido às suas propriedades anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, atividades analgésica e antipirética, antimalárica, antimicrobiana (LUCCA et al., 2022), antioxidante (MOLLER et al., 2020; JOSHI et al., 2018) e inibidor da acetilcolinesterase (KOBENAN et al., 2022; LI et al., 2020; MONIZ et al., 2019; SAIDI et al., 2020).

Os terpenos são alcenos naturais com ligação dupla entre dois carbonos (C=C), quando estão ligados a um oxigênio, são chamados de terpenóides (BONCAN et al., 2020), juntos constituem a maior classe de substâncias derivadas de plantas, com grande variedade estrutural e funcional, devido aos aspectos tridimensionais da molécula. OEs ricos em terpenos e terpenóides são comercialmente valiosos e importantes (BURKHARDT et al., 2022; COUILLAUD; DUQUESNE; IACAZIO, 2022), devido às inúmeras aplicações nas indústrias de beleza (BIAŁOŃ et al., 2019), alimentícia (HARO-GONZÁLEZ et al., 2021) e

farmacêutica (DE ALMEIDA et al., 2018; DINIZ DO NASCIMENTO et al., 2020). Na Figura 1, encontram-se algumas dessas substâncias bioativas (ANANDAKUMAR; KAMARAJ; VANITHA, 2021; EDDIN et al., 2021; GUILLÍN et al., 2021; MARTINEZ-FINLEY et al., 2020; PERGOLIZZI et al., 2018; SOUSA et al., 2021).



**Figura 1** - Terpenos e terpenóides bioativos utilizados nas indústrias.

Fonte: Moniz, et al., 2023 (ACD/3D Viewer-freeware: ChemSketch Window-[www.acdlabs.com](http://www.acdlabs.com)).

Ao se adaptarem às condições ambientais, as plantas modificam sua composição química sem afetar seu fenótipo, dando origem a uma grande variedade genética entre as espécies, identificados como quimiotipos, com propriedades medicinais diferentes (ARIZA NIETO; ORTIZ; TELLEZ, 2018; MACCIONI et al., 2021; PAULETTI; SILVESTRE, [s.d.]; TOMAZONI et al., 2016).

## 2.1 QUIMIOTIPOS DE *Lippia origanoides* Kunth

A *Lippia sidoides* (syn *Lippia glandulosa* Schauer) é uma espécie da família verbenaceae, possui 23 sinónimas, incluindo *Lippia origanoides* Kunth (CARDOSO; SALIMENA, 2019; O'LEARY; CARDOSO; SCHAEFER, 2020). Conhecida popularmente como alecrim-pimenta, estrepa cavalo e salva-do-campo, em Roraima, é uma planta medicinal com utilizações variadas, que vão desde a aromatização, cozinha tradicional e como inibidor de apetite. Na região amazônica, é utilizada principalmente no tratamento de doenças gastrointestinais, respiratórias, cólicas infantis, diarreia, flatulência, inflamação uterina e febre (DE ALMEIDA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2014), e no tratamento da tosse (MILLIKEN, 2021). São espécies de abustos ou subarbustos, monóicos (Figura 2 A), inflorescências, espigas axilares, tetragonais, axila, brácteas imbricadas, dispostas em 4 fileiras, lanceoladas, foliáceas (Figura 2 B), folhas opostas, lâmina oval, oval-elíptica ou oblonga, cartácea, aromáticas (Figura 2 C), ramos inermes, eretos, cilíndricos, hirsutos (Figura 2 D), espécime

catalogado no herbário da Universidade Federal de Roraima (RIBEIRO et al., 2021; CARDOSO et al., 2018).



**Figura 2.** Aspectos gerais da espécie *Lippia origanoides* Kunth.

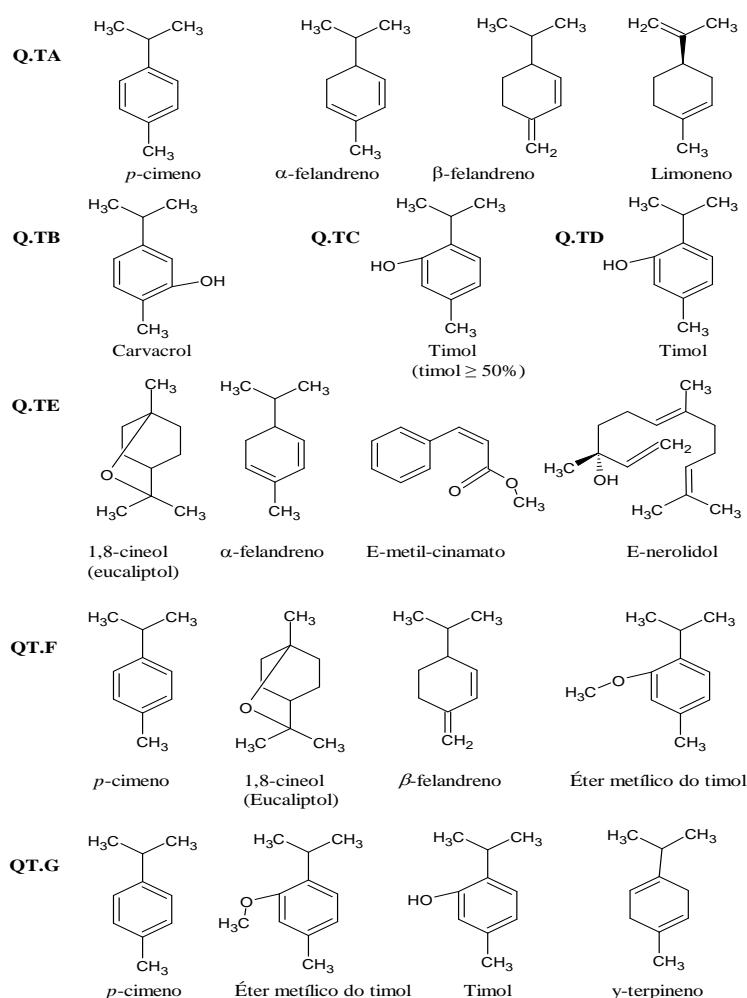
A) Erva B) inflorescência C) óleo essencial D) exsicata.

Fonte: Moniz et al. (2023).

A diferença na atividade biológica dos OEs de plantas morfologicamente idênticas, normalmente, está relacionada aos diferentes quimiotipo da espécie. Quimiotipos, são compostos produzidos de forma predominante, por uma mesma espécie de planta morfologicamente idêntica, mas que ao mesmo tempo apresenta sua composição química (compostos majoritários) divergente em consequência de modificações genéticas ou epigenéticas (BIAŁOŃ et al., 2019; CABALLERO-GALLARDO et al., 2022; JANNUZZI et al., 2010), com função de defesa das plantas (SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018; WANI et al., 2021).

A *L. origanoides* é reconhecida em quimiotipos, devido à grande variação na constituição fitoquímica de seus OEs, intrarregional e/ou inter-regional. Atualmente, existem sete QT (Figura 3), relatados para OELO. Os principais compostos quimiotipos são: Q.TA caracterizado por *p*-cimeno,  $\alpha$  e  $\beta$ -felandreno, limoneno e 1,8-cineol; QT.B carvacrol; QT.C rico em timol (timol > 50%); QT.D timol; QT.E 1,8-cineol e  $\alpha$ -felandreno; QT.F *p*-cimeno,

1,8-cineol (Eucaliptol),  $\beta$ -felandreno, éter metílico do timol; QT.G por *p*-cimeno, éter metílico do timol, timol,  $\gamma$ -terpineno, (CHACÓN-VARGAS et al., 2022; O'LEARY et al., 2012; VEGA-VELA; DELGADO-ÁVILA; CHACÓN-SÁNCHEZ, 2013). É importante enfatizar que o rendimento do OELO e a concentração de seus quimiotipos não estão relacionados ao sistema de manejo da planta e sim aos fatores genéticos (LLAMAS-TORRES et al., 2022; MORENO et al., 2022). Estudos recentes demonstram que os compostos bioativos dos OEs, geralmente monoterpênicos, estão associados aos quimiotipos, bem como aos efeitos sinérgicos existentes entre as moléculas (DE SOUZA et al., 2021; LEAL-SÁENZ et al., 2019; SOUZA et al., 2019).



**Figura 3** - Quimiotipos reconhecidos para o OELO.

Fonte: Moniz, et al., 2023 (ACD/3D Viewer-freeware: ChemSketch Window-[www.acdlabs.com](http://www.acdlabs.com)).

## 2.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS QUIMIOTIPOS DO OELO

Nas últimas décadas, a busca por novos medicamentos para o tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos tem aumentado, pois muitas cepas de vírus, fungos e bactérias desenvolveram resistência aos antibióticos (CANHOS et al., 2015; DOS SANTOS et al., 2019).

Os OEs possuem diversas propriedades terapêuticas e medicinais e fornecem diversos compostos bioativos com potencial para serem utilizados no tratamento de diversas doenças de origem alimentar (BRNAWI et al., 2019), nutracêuticos, intermediários para drogas sintéticas (BRNAWI et al., 2019; PHUYAL et al., 2020; REIS et al., 2020), e farmacêutica com potencial relevante para a descoberta de novos agentes antimicrobianos de origem natural (BRNAWI et al., 2019; BROCHOT et al., 2017; PHUYAL et al., 2020; REIS et al., 2020). A atividade antimicrobiana, antifúngica, antiparasitária, anestésica, sedativa, antibiofilme anti-inflamatória e inibidores da AChE, são associadas aos constituintes majoritários dos OEs de plantas aromáticas como timol/carvacrol e/ou ao sinergismo entre as demais substâncias dos EOs, tabela 1.

**Tabela 1** - Quimiotipos do óleo essencial de *Lippia organoides* associados à suas atividades farmacológicas

QT/Compostos majoritários	Modelo	Resultados principais	Atividades	Autores
<b>QT.B-</b> Carvacrol-35%, <i>p</i> -cimeno-14.4%, timol-8.0%, <b>QT.D-</b> Timol-49.4%, <i>p</i> -cimeno-19.1%, $\gamma$ -terpineno-9.2%	<i>Aedes aegypti</i>	EOLO QT.B e QT.D mostraram o maior atividade com taxa de mortalidade superior a 75% na concentração de trabalho. Atividade inseticida com LC <sub>50</sub> inferior a 100 $\mu$ g/mL em 24 h. O EOLO reduz a taxa de consumo de oxigênio em 53,5% e a redução da atividade succinato oxidase em <i>A. aegypti</i> foi de 59,8%. Viabilidade celular em células VERO 45,59 $\pm$ 6,8. Atividade larvicida (QT.D 73% $\pm$ 2,2, QT.B 95% $\pm$ 2,1a 100 ppm), inibição da acetilcolinesterase (22,9%).	Inibidor da AChE	(DUQUE et al., 2023)

<b>QT.B-</b> Carvacrol- 44.50% <i>p</i> -cimeno- 14.06% Timol-7.99%	<i>Pterophyllum escalare</i>	Indução anestésica - não houve mortalidade após 72 h de exposição com EOLO. Foram anestesiados nas concentrações para os peixes juvenis-I 25 mg/L e II 50 mg/L de EOLO.	Sedativo Anestésico	(DE OLIVEIRA et al., 2022)
<b>QT.B-</b> Acetofenona- 32.75% carvacrol- 30.37% $\alpha$ - Himachaleno- 10.38%	<i>Trichogramma pretiosum</i> Riley e ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	Toxicidade residual LC <sub>50</sub> = 17,2% e 36,2%. Ovos pulverizados (0,01%), reduziu as taxas de parasitismo em 56,0%, emergência de adultos em 92,9%. Concentração seletiva de 0,01% para fêmeas. Seletividade em adultos 88,0% emergência	Inseticida Inibidor da AChE,	(SOMBRA et al., 2022)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 41.5%, <i>p</i> -cimeno- 18.4% $\gamma$ -terpinene- 17.0%	<i>Reações químicas</i>	IC <sub>50</sub> no ABTS 110 $\mu$ g/mL; DPPH >1000 $\mu$ g/mL, hidroxila 484 $\mu$ g/mL, $\beta$ -caroteno 215 $\mu$ g/mL e TBARS 527 $\mu$ g/mL.	Antioxidante	(TEIXEIRA et al., 2023)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 53.89% E-cariofileno- 5.86% Linalol-5.84% Biciclogermac reno-4.16% <i>p</i> -cimeno- 4.03%	Camundongo	O EOLO reduziu de maneira dose-dependente nas contrações (1–729 $\mu$ g/mL). Em 3 $\mu$ g/mL o logEC <sub>50</sub> = 0,41 $\pm$ 0,05. Na indução pela ocitocina (10-2 UI/mL) o EOLO relaxou o útero a 81 $\mu$ g/mL, com valor de logEC <sub>50</sub> = 1,98 $\pm$ 0,07. Nas contrações induzidas por carbacol (1 $\mu$ M), o EOLO relaxou o útero a 9 $\mu$ g/mL, com o valor de logEC <sub>50</sub> = 1,42 $\pm$ 0,07 e nas contrações induzida por KCl (60 mM), na concentração de 27 $\mu$ g/mL, com valor logEC <sub>50</sub> de 1,53 $\pm$ 0,05, exibindo efeito dose-dependente.	Anti-inflamatório	(MACÊDO et al., 2022)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 44.5% <i>p</i> -cimeno- 14.06% terpineno- 12.43%	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	MIC 560 $\mu$ g/mL MBC 613 $\mu$ g/mL	Antibacteriano	(FURLANI et al., 2021)

<b>QT.B-</b> Carvacrol- 58.6%, p- cimeno- 6.27%, β- Cariofileno- 4.13%	<i>Acanthosceli            des obtectus            Say</i>	Foram avaliadas quatro doses de EOLO (12, 24, 60 e 120 µL) por 15 dias. A mortalidade dos insetos foi de 85,00 ± 4,07% na dose 120 µL. As doses 60, 24 e 12 µL foram capazes de matar 70,07, 70,16 e 68,79% dos adultos avaliados	Inseticida	(RODRÍGUEZ GONZÁLEZ et al., 2020)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 53,89% E-cariofileno- 5,86% Linalol-5,84%	<i>Streptococcus            mutans            (biofilme)</i>	MIC 40 µg/ml, MBC ausente. A Redução no crescimento bacteriano foi > 97% enquanto o controle reduziu em 70%.	Antibacteriano Antibiofilme	(OLIVEIRA, et al., 2020)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 40.73% ρ-cimeno- 13.63% Timol-8.19% γ-terpinene- 5.43% β-linalol- 4.19%.	<i>Aeromonas            hydrophila,            Citrobacter            freundii,            Raoultella            ornithinolytic            a Rhamdia            quelen</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> MIC 0,2, MBC 0,2, mg/mL. <i>Citrobacter freundii</i> MIC 0,8 mg/mL MBC 0,8 mg/mL. <i>Raoultella ornithinolytica</i> MIC-0,8 mg/mL MBC 0,8, mg/mL. Não infectado + OE 2,5 mg/mL mortalidade 0/12 longevidade 30 ± 0,0, Não infectado + OE (5,0 mg/mL) mortalidade 0/12 longevidade 30 ± 0,0	Antibacteriano	(BANDEIRA JUNIOR et al., 2019)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 47.2% Timol-12.8% p-cimeno- 9.7%	<i>Colossoma            macropomum</i>	Sedação variando de 20,17 a 34,80 ± 3,01 e anestesia profunda 21,00 ± 0,55 a 27,67 ± 3,41. 25 µL/L (Sedação 95,80±9,14 s, Anestesia profunda 829,14±43,86 s Recuperação 368,16±46,47 s). 200 µL/L (Sedação 66,20±3,38 s, Anestesia profunda (85,20±3,30 s) e Recuperação (1416,34±55,98 s)	Anestésica	(SILVA <i>et al.</i> , 2019)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 48,31% p- cimeno- 9,11% Timol 8,78% E-cariofileno- 6,74% 2,5dimetoxiac etofenona- 6,63% Linalol-4,10% γ-terpineno-	<i>Aedes aegypti            Tetranychus            urticae            Cerataphis            lataniae</i>	O IC <sub>50</sub> de inibição da AChE = 16,93 µg/mL. DPPH: IC <sub>50</sub> = 8,4 ± 0,1 µg/mL, ABTS: 691,8 ± 44,3 µM TEs/g (equivalentes Trolox) e FRAP: 933,1 ± 8,1 µM Eq Fe(II)/g]. Avaliado para <i>T. urticae</i> (LD50 =25,1 ± 1,1 µg/mL por 24 h) e para <i>C. lataniae</i> (LD50 =6,6 ± 0,5 µg/mL por 24 h, e LD50=2,7 ± 0,6 µg/mL por 48 h). O potencial larvicida LD50=187,3 ± 0,9 µg/mL após 24 horas."	Acaricida, inseticida Antioxidante Inibidor da AChE	(MAR et al., 2018)

3,84%

<b>QT.B-</b> Carvacrol- 53,89% E-cariofileno- 5,86% Linalol-5,84% <i>p</i> -cimene- 4,03% Timol-4,00%	<i>Traqueia de camundungo</i>	Traqueia de cobaia pré-contrainda com KCl 60 mM CE <sub>50</sub> = 30,02 µg/mL], histamina 1 µM CE <sub>50</sub> =9,28 µg/mL ou carbacol 1µ M CE <sub>50</sub> =51,80 µg/mL. Na presença do óleo essencial a CE <sub>50</sub> de glibenclamida 4,25 (2,71–6,66) µg/mL e CsCl CE <sub>50</sub> 7,89 µg/mL.	Atividade Espasmolítico	(MENEZES et al., 2018)
<b>QT.B-</b> Carvacrol- 47,20% Timol-12,80% <i>p</i> -cimeno- 9,70%	<i>Rhamdia quelen</i>	A concentração do óleo essencial (25-300 µL/L) para determinar o tempo de indução à sedação, anestesia e recuperação.	Sedativo Anestésico	(BECKER et al., 2018)
<b>QT.C-Timol-</b> 83.53% <i>p</i> -cimeno- 5.92% Cariofileno- 4.31%	<i>E. aerogenes</i> <i>K. pneumoniae,</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	Atividade antibacteriana - MIC 10 µL/mL e MBC < 10 µL/mL, diâmetro das zonas de inibição para <i>S. aureus</i> 26,6 mm a 160 µL/mL	Antibacteriano	(SILVA et al., 2022)
<b>QT.C-Timol-</b> 72.2% <i>p</i> -cimeno- 8.1% E-cariofileno- 4.9%	<i>Colossoma macropomum</i>	Nas concentrações de 20 a 50 mg/L, os peixes atingiram todos os estágios da anestesia e o tempo médio variou de 270,9 a 211,6 s. Nas concentrações de 30 a 50 mg/L, o tempo médio de recuperação variou de 476,0 a 711,5 s (7,9 a 11,9 min).	Sedativo Anestésico	(BRANDÃO et al., 2021)
<b>QT.C-Timol-</b> 32.7% Carvacrol- 18.8% trans-caryophyllene- 6.4%	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	EOLO MIC <sub>50</sub> - 0,45 mg/mL, porcentagem de inibição da formação de biofilme foi superior em 70% a MIC <sub>50</sub> . O EOLO reduziu o efeito hemolítico do <i>S. aureus</i> em 54%, em <i>E. coli</i> diminui a capacidade de mobilidade nadando em 55%	Antibacteriano Antibiofilme	(MARTÍNEZ et al., 2021)

<b>QT.C</b> -Timol-78.20%, p-cimeno-5.76%, E-cariofileno-3.53%	<i>Reações químicas</i>	DPPH = 27,34 µg/mL e CS-CAEO 34,48 µg/mL, ABTS = 365,9 ± 12,1 mg de trolox/g e CS-CAEO 396,2 ± 10,7mg de trolox/g, FRAP = 68865,11 ± 321,40 µM de sulfato ferroso/ g e CS-CAEO 255,49 ± 17,69 µM de sulfato ferroso/g.	Antioxidante	(DAMASCENO et al., 2019)
<b>QT.C</b> -Timol-76,6%, p-cimeno-6,3% e E-beta-cariofileno-5,0%	<i>Aeromonas spp. isolates from Colossoma macropomum</i>	MIC-625 µg/mL, MBC 1.250 µg/mL. <i>Aeromonas spp.</i> amostras 248, 254, 561, 569 e 570 apresentaram os valores mais baixos de MIC e MBC (625 µg/mL)	Antibacteriano	(MONTEIRO et al., 2021)
<b>QT.C</b> -Timol-88.2% p-cimeno-6.4%	<i>Células-tronco isoladas de tecido adiposo humano</i>	Proliferação em células tratadas com EOLO foram 1,0 µg/mL (24,8%), 5,0 µg/mL (14,7%) e 25,0 µg/mL (16,3%). Em P2, células controle e células tratadas com 1 µg/mL (72 h) - 18x10 <sup>4</sup> células/mL. No P3, a concentração das células tratadas com óleo essencial foi aproximadamente 43% maior que a das células controle após cultivo e digestão enzimática.	Células proliferativas	(BRITO et al., 2018)
<b>QT.D</b> -LOC-timol-32.7% carvacrol-18.8% trans-cariofileno-6.4% <b>QT.D</b> -LOT. Timol-22.1% Carvacrol-10.7% trans -cariofileno-7.9%	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus (MRSA) methicillin resistant, Vero Cell Line</i>	LOT ( <i>E. coli</i> O157:H7) - MIC <sub>50</sub> 0,9 mg/mL MBC 1,5 mg/mL. MRSA - MIC <sub>50</sub> 1,6 mg/mL, MBC 3 mg/mL. LOC ( <i>E. coli</i> O157:H7) MIC <sub>50</sub> 0,4 mg/mL MBC 0,7 mg/mL. MRSA - MIC <sub>50</sub> 0,6 mg/mL, MBC 1,5. Inibição da formação de biofilme LOT ( <i>E. coli</i> O157:H7) - MIC <sub>50</sub> 0,45 mg/mL, 70,3% de inibição, MRSA-MIC <sub>50</sub> 1,2 mg/mL, 82,61% de inibição. LOC ( <i>E. coli</i> O157:H7) - MIC <sub>50</sub> 0,19 mg/mL, 73,9% de inibição MRSA - MIC <sub>50</sub> 0,07 mg/mL, 81,09% de inibição. Alta citotoxicidade (1,5–3 mg/mL). Na concentrações (0,37–0,75 mg/mL) a viabilidade (50–80%).	Antibacteriano Autobiofilme	(GÓMEZ-SEQUEDA et al., 2020)

<p><b>QT.D</b>-Timol 43.02% Carvacrol 18.44% <math>\gamma</math>-Terpineno 19,99% <i>p</i>-cimeno 14.67%</p>	<p><i>Aspergillus flavus</i> (AF-LHP-NS7) <i>micotoxina - aflatoxina B1</i> (AFB1)</p>	<p>EOLO - MIC 0,3 <math>\mu</math>L/mL e 0,25 <math>\mu</math>L/mL MAIC 0,25 <math>\mu</math>L/mL contra AFLHP-NS7, nanopartículas de quitosana MIC 0,05 <math>\mu</math>L/mL e MAIC e 0,045 <math>\mu</math>L/mL. LOEO e CS-LOEO-Np causaram liberação rápida de íons <math>Ca^{+2}</math>, <math>Mg^{+2}</math> e <math>K^{+}</math>. LOEO inibiu 40,83, 53,19 e 58,80% da redução do metilglioxal e CS-LOEO-Np causou 43,85, 62,46 e 74,91% da redução do metilglioxal. LOEO DPPH - 6,20 <math>\mu</math>L/mL. CS-LOEO-Np-DPPH-4,17 <math>\mu</math>L/mL. A segurança de LOEO O LD<sub>50</sub> de LOEO foi de 9.200 mg/kg e CS-LOEO-Np (LD<sub>50</sub> = 8.832 mg/kg</p>	<p>Antifúngico Antioxidante</p>	<p>(TIWARI et al., 2022)</p>
<p><b>QT.A</b>-trans-<math>\beta</math>-cariofileno- 15,1% Timol-14% 1,8-cineol 13% <i>p</i>-cimeno- 12,6%. <b>QT.B</b>- carvacrol- 35%, <i>p</i>-cimeno- 4,4% <b>QT.C</b>- timol 82,9 e 75,3% <b>QT.D</b>-timol 49,4%</p>	<p><i>Aedes aegypti - virus - DENV (DENV CPE) - DENV-1 e DENV-2</i></p>	<p>O EOLO QT.A reduziu o CPE de ambos os sorotipos de DENV de maneira dose-dependente. QT.A apresentou forte atividade antiviral DENV-1 (IC<sub>50</sub>-77 <math>\pm</math> 1,1 SI-6,6) DENV-2 (IC<sub>50</sub> 75 <math>\pm</math> 1,0 SI: 6,8) e QT.B, QT.C e QTD fraca atividade antiviral. Viabilidade celular <math>\leq</math>50%. Foi bem demonstrado que a química do EOLO determina sua bioatividade.</p>	<p>Larvicida</p>	<p>(SILVA-TRUJILLO et al., 2022)</p>
<p><b>QT.D</b> - Timol- 47.2%, <i>p</i>-cimeno- 16,0%, E-cariofileno- 11.3%</p>	<p><i>V. parahaemolyticus Artemia salina</i></p>	<p>Atividade antibacteriana - CIM 313 <math>\mu</math>g/mL MBC 625 <math>\mu</math>g/mL, toxicidade aguda em <i>Artemia salina</i> 215,73 <math>\pm</math> 22,13, atividade antioxidante DPPH (100 <math>\mu</math>M). IC<sub>50</sub> = 0,22 <math>\pm</math> 0,02.</p>	<p>Antioxidante Antibacteriano</p>	<p>(SANTOS FILHO et al., 2023)</p>
<p><b>QT.D</b>-Timol- 49,4%, <i>p</i>- cimeno-19,1%, <math>\gamma</math>-terpineno- 9,2%. <b>QT.B</b>- Carvacrol-</p>	<p><i>Candida albicans</i></p>	<p>Os quimiotipos do EOLO com menor citotoxicidade entre os EOs analisados corresponderam ao quimiotipo QT.B, QT.C e QT.D. O EOLO quimiotipo QT.D e QT.B foram os mais ativos contra 80% das leveduras</p>	<p>Antifúngico</p>	<p>(ZAPATA-ZAPATA et al., 2022)</p>

<p>34,9%, timol-23,3%, <math>\gamma</math>-terpineno  <b>QT.C</b>-Timol-75,3%, <i>trans</i>-<math>\beta</math>-cariofileno-5,4%,  carvacrol-4,9%.  <b>QT.C</b>-Timol-71,7%, <i>p</i>-cimeno-10,5%,  carvacrol-4,4%</p>	<p>testadas, enquanto os quimiotipos QT.C e QT.D inibiram 70% e 75% das leveduras avaliadas, respectivamente. QT.C e QT.D foram os mais ativos contra diferentes <i>Candida spp.</i></p>	Antibacteriano e antibiofilme	(CÁCERES et al., 2020)
<p><b>QT.D-LTC-I</b>  Timol-22,1%  Carvacrol-10,7%,  <i>trans</i>-<math>\beta</math>-cariofileno-7,9%.  <b>QT.D-LTC-II</b>  Timol-32,7%  Carvacrol-18,8%  <i>trans</i>-<math>\beta</math>-cariofileno-6,4%</p>	<p><i>Escherichia coli O157:H7</i>  <i>Escherichia coli O33</i>  <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228.  <i>Vero cell</i></p>		
<p><b>QT.E</b>-Metil-E-cinamato-40.0%  Hediciariol-8%  -eudesmol-7.6%  -eudesmol-7.3%</p>	<p><i>Plasmodium falciparum</i>,  <i>Trypanosoma cruzi</i>,  <i>Trypanosoma brucei</i>  <i>Leishmania amazonensis</i></p>	Antibacteriano	(PERERA et al., 2022)

<b>QT.E</b> -1,8-cineol-35,04%, carvacrol-11,32%, p-cimeno-8,53%, $\alpha$ -pineno-7,17%, $\gamma$ -terpineno-7,16%	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Ação bacteriostática do <i>S. aureus</i> em 2,5–10 $\mu$ L/mL e ação bactericida em 20 $\mu$ L/mL. <i>E. coli</i> , ação bactericida 5–20 $\mu$ L/mL MBC 5 $\mu$ L/mL	Antibacteriano	(RIBEIRO et al., 2021)
<b>QT.F</b> -Cariofileno-30,2% <i>p</i> -Cymene-28,7%	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	MIC 299,5 $\pm$ 117,2 $\mu$ g/mL	Antibacteriano	(MOTA; DANTAS; FROTA, 2018)
<b>QT.G</b> - <i>p</i> -cimeno-27%, $\gamma$ -terpineno-11%, carvacrol-11,8%	<i>Fibroblastos gengivais humanos</i>	A viabilidade das células expostas a 630 $\mu$ g/mL foi de 63,01%, em 640 $\mu$ g/mL foi de 40,88% e em 650 $\mu$ g/mL foi de 36,15%, efeito dose-dependente.	Citotoxicidade	(GUIMARÃES et al., 2021)
<b>QT.G</b> - <i>p</i> -Cimeno-37,8%, carvacrol-14,0%, $\gamma$ -terpineno-11,6%, linalol-6,1%	<i>Neoechinorhynchus buttnerae</i>	Na concentração 0,6–1,4 mg/mL, CE <sub>50</sub> (IC 95% 2h) 1,20 (1,17–1,23) mg/mL, CE <sub>50</sub> (IC 95% 6 h), 0,86 (0,85–0,87) mg/mL, 0,76 mg/mL.	Antiparasitário	(BRAGA DE OLIVEIRA et al., 2021)

CPE-Efeito citopático, SI: Índice de seletividade.

Fonte: Moniz, et al., 2023

Nas últimas décadas, trabalhos científicos destacam a ação dos diferentes quimiotipos do OELO e sua atividade antibacteriana contra uma ampla variedade de bactérias, inclusive espécies resistentes a antibióticos.

No trabalho de Mota et al. (2018) verificaram que o OELO quimiotipo QT.A, representado pelos compostos majoritários cariofileno 30,2%, *p*-cimeno 28,7%,  $\gamma$ -terpineno 9,8%, possui grande potencial antimicobacteriano frente à cepa de *M. tuberculosis*, o que o torna uma alternativa promissora para o tratamento da tuberculose (MOTA; DANTAS; FROTA, 2018).

No trabalho Perera et al., (2022) avaliaram atividades antimicrobianas, antiparasitárias, antiproliferativa e citotóxicas, *in vitro*, do OELO QT.E com os compostos majoritários metil-E-cinamato-40,0%, hedicariol-8%,  $\alpha$ -eudesmol-7,6% e  $\beta$ -eudesmol-7,3%. Esta composição apresentou baixa atividade antimicrobiana (variando de MIC 8,1 a 37,8

µg/mL). Com efeitos relevantes contra os protozoários parasitas *Plasmodium falciparum* (14,4 µg/mL), *Trypanosoma cruzi* (29,6 µg/mL), *Trypanosoma brucei* (8,1 µg/mL) e *Leishmania amazonensis* (37,8 µg/mL). Também foi descrito o efeito antiproliferativo nas células malignas: A431 (MIC 31,5 µg/mL), MCF-7/HT (MIC 24,4 µg/mL), MCF-7 (MIC 15,8 µg/mL), 22Rv1 (MIC 9,1 µg/mL); e efeito citotóxico nas células PMM (MIC 75,5 µg/mL), MCF-10A (MIC 29,9 µg/mL) e MRC-5 (MIC 29,6 µg/mL). Esses resultados acrescentaram mais um potencial para a utilização do OELO na área de doenças parasitárias e infecciosas e malignas.

Bandeira Junior et al. (2019) conduziram um estudo para avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* (MIC variando de 0,2 - 0,8 mg/mL) e *in vivo* de OELO contra infecção por *Aeromonas hydrophila* induzida experimentalmente em bagres (*Rhamdia quelen*). Os principais compostos encontrados foram do quimiotipo carvacrol-40,73%,  $\rho$ -cimeno-13,63%, timol-8,19%, gama-terpineno-5,43% e linalol-4,19%. Encontraram sucesso terapêutico de 58,33%, 30 dias pós-infecção e sugerem que o OELO possa ser uma alternativa viável no tratamento da infecção por *Aeromonas hydrophila* em peixes.

No estudo de Monteiro et al (2021) verificaram o potencial do OELO com potencial antibacteriano contra *Aeromonas hydrophila* e todos os gêneros de *Aeromonas spp.* isoladas de *Colossoma macropomum* (tambaquis). O potencial antimicrobiano do OELO foi justificado com MIC e CBM variando de 625 a 1.250 µg/mL em tambaquis. Neste trabalho, destacaram a importância de avaliar o efeito sinérgico entre as substâncias presentes nos OEs e os antibióticos sintéticos, na tentativa de contribuir para a redução das concentrações antimicrobianas dos antibióticos sintéticos.

Na pesquisa de Oliveira (2018) o OELO continha Carvacrol-53,89%, E-cariofileno-5,86%, linalol-5,84%. Neste trabalho, os autores confirmam a atividade antimicrobiana em cepas de *Streptococcus mutans* (MIC 40 µg/mL), bactéria relacionada à cárie dentária, com ação bactericida. Os dados obtidos por microscopia confocal mostraram que o OELO penetrou no volume do biofilme para eliminar placas bacterianas com resultados melhores que a ação da clorexidina a 0,2%. Concluíram que o OELO, além de bactericida, é promissor e no tratamento e eficaz na redução de biofilmes.

Martinez-Finley et al. (2020) exibiram a atividade antibacteriana significativa para o quimiotipo timol-carvacrol, com um valor MIC de 0,45 mg/mL. O OELO inibiu a formação de biofilme em 71% em *S. aureus* e 76% em *E. coli*, em concentrações subinibitórias (MIC<sub>50</sub>), reduziu em 54% o efeito hemolítico em *S. aureus*, e reduziu em 55% a mobilidade em *E. coli*.

Os resultados mostraram que o OELO interage com o núcleo hidrofóbico das bicamadas lipídicas e altera as propriedades físico-químicas das membranas, demonstrando que o OELO apresenta potencial para auxiliar no tratamento de infecções por *S. aureus* e *E. coli*.

No trabalho de Furlani et al. (2021) os principais compostos identificados no OELO foram carvacrol 44,5%, *p*-cimeno 14,06% e terpineno 12,43%. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de quatro OEs contra 15 patógenos isolados e identificados como *Staphylococcus spp.* e *Staphylococcus aureus*, cepas que causam mastite. O OELO apresentou atividade antimicrobiana contra 100% dos isolados e obteve os melhores resultados quando comparado aos demais OEs analisados, com melhor atividade antimicrobiana com médias de CIM 560 µg/mL e CBM 613 µg/mL.

Na pesquisa de Ribeiro e et al. (2021), os principais compostos identificados foram 1,8-cineol 35,04%, carvacrol 11,32%, *p*-cimeno 8,53%, α-pineno 7,17% e γ-terpineno 7,16%. O OELO apresentou ação bactericida para *E. coli*, nas concentrações de 5-20 µL/mL, e em relação ao *S. aureus*, o efeito bactericida foi observado em 20 µL/mL e a ação bacteriostática em torno de 2,5–10 µLmL<sup>-1</sup>. Demonstraram que o OELO possui potencial biológico promissor contra *S. aureus* e *E. coli*. O que eleva o OELO a provável matéria prima para o desenvolvimento de novos antimicrobianos.

Cáceres et al. (2020) analisaram 17 OEs, sendo 2 amostras do OELO. Os compostos majoritários da amostra 1 denominada de LTC-I-Timol-22,1%, carvacrol-10,7%, trans-β-cariofileno-7,9% (QT.D-I). E a amostra 2 LTC-II-timol-32,7%, carvacrol-18,8% e trans-β-cariofileno-6,4% (QT.D-II). Utilizaram as cepas *E. coli* e *Staphylococcus epidermidis*, *Chromobacterium violaceum* e células Vero. O OELO quimiotipo QT.D apresentaram os melhores resultados para a atividade antimicrobiana para QT.D-I MIC de 0,37 mg/mL e QT.D-II MIC 0,75 mg/mL, além de inibirem fortemente a formação do biofilme, produção de violaceína (QS) de maneira dose-dependente e indicaram toxicidade em células Vero. Destacaram o potencial do quimiotipo OELO QT.D-II como candidato para novos estudos, por inibir a formação do biofilme contra todas as cepas das bactérias analisadas, tornando-o um forte candidato para o desenvolvimento de antibióticos contra bactéria resistentes.

Gómes-Sequeda et al. (2020) avaliaram 15 OEs contra cepas patogênicas de *E. coli* e *S. aureus* resistente à metilina (MRSA). Os melhores resultados de atividade antibacteriana foram relacionados aos compostos majoritários do OELO-timol 32,7%, carvacrol 18,8%, trans-cariofileno 6,4% ((QT.D) e OELO-timol 22,1%, carvacrol 10,7%, trans-cariofileno 7,9% (QT.D.2), contra as cepas de *E. coli* com MIC<sub>50</sub> = 0,9 (para QT.D.1) e 0,3 mg/mL (para

(QT.D.2) e MRSA (MIC<sub>50</sub>= 1,2 e 0,6 mg/mL, respectivamente), além de apresentar maior atividade antibiofilme, com percentual de inibição superior a 70,3%. O OELO QT.D representam uma alternativa viável para o tratamento de infecções microbianas.

O estudo de Silva et al. (2022) indicou o timol como principal metabólito do OELO com predominância de 83,53% (QT.C), seguido do *p*-cimeno 5,92%, cariofileno 4,31% e  $\gamma$ -terpineno 3,27%. O OELO exibiu atividade antibacteriana (MIC 10  $\mu$ L/mL) contra todos os patógenos bacterianos do estudo realizado. Os autores sugerem que o OELO QT.C pode ser utilizado como um agente antibacteriano promissor nas indústrias.

No estudo de Santos et al. (2023), os compostos majoritários do OELO foram o timol 47,2%, o *p*-cimeno 16,0% e o E-cariofileno 11,3% (QT.D). O OELO apresentou atividade antibacteriana contra *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) com valores de MIC 313  $\mu$ g/mL, MBC-313  $\mu$ g/mL de magnitude semelhante ao controle de ampicilina contra *V. parahaemolyticus* e um efeito antibacteriano aumentado com MIC - 313  $\mu$ g/mL e MBC-625  $\mu$ g/mL contra *V. parahaemolyticus* isolado da hemolinfa de camarões cultivados, quando comparado com ampicilina, apresentaram toxicidade aguda em *Artemia salina* 215,73 $\pm$ 22,13.

### 2.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DOS QUIMIOTIPOS DO OELO

Agrotóxicos ou pesticidas são compostos utilizados em todo o mundo em ambientes urbanos e rurais, com objetivo de exterminar insetos e ervas daninhas. No entanto, esses produtos podem ser tóxicos para o meio ambiente e todos os seres vivos pertencentes a essa microbiota, incluindo os humanos. A elaboração de novos pesticidas deve estar pautada na alta seletividade das substâncias, sendo ativa contra vetores e, fundamentalmente, serem biosseguros para os seres humanos (MOURÃO et al., 2023).

Estudos têm demonstrado o potencial agrônômico dos OEs como biocidas, confiáveis para uso em qualquer tipo de terreno e todos os tipos de cultivo, além disso, podem ser aplicados como conservantes em alimentos crus e/ou processados, bem como serem utilizados na saúde (DONATO et al., 2020). A atividade antimicrobiana está intimamente relacionada aos constituintes majoritários dos OEs (ALMOHAMMED; ALKHAIBARI; ALANAZI, 2022; KARIMI YAZDI et al., 2020; KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ; SZOPA; EKIERT, 2020).

Os diferentes quimiotipos de OELO são indicados como método alternativo viável para controle de microrganismos vegetais, devido aos efeitos inibitórios contra fungos

fitopatogênicos. Os principais quimiotipos relacionados às atividades inibidora da AChE, fungicidas e antiparasitárias são QT.B, QT.C e QT.G.

No estudo de (MAR et al., 2018) os compostos majoritários do OELO foram carvacrol (48,31%), *p*-cimeno (9,11%), timol (8,78%) e E-cariofileno (6,74%), QT.B. o OELO apresentou eficácia como agente natural de controle dos ácaros *Tetranychus urticae* Koch, pulgões *Cerataphis lataniae* Boisd e larvas de *Aedes aegypti* Linn, pragas comumente encontradas em países tropicais e subtropicais. Apresentaram potencial larvicida  $LD_{50} = 187,3 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ , após 24 horas de tratamento.

Silva-Trujillo et al. (2022) analisaram 14 amostras de OEs, sendo três amostras do OELO QT.A, QT.B e QT.C, sendo que o OELO QT.A reduziu fortemente o efeito citopático de ambos os sorotipos DENV-1, com  $IC_{50} 77 \pm 1,1$ , SI-6,6 e para DENV-2, o  $IC_{50} -75 \pm 1,0$ , SI-6,8, de maneira dose-dependente. A forte atividade antiviral do OELO QT.A relacionaram ao felandreno e à presença majoritária de hidrocarbonetos sesquiterpenos e monoterpenos oxigenados.

Duque et al. (2023) estudaram 20 OEs contra larvas de *Aedes aegypti*, sendo duas amostras de OELO. O OELO QT.D com as taxas  $LC_{50} = 61,9 \mu\text{g/mL}$  e QT.B  $LC_{50} = 59,8 \mu\text{g/mL}$ . A taxa de mortalidade para OELO QT.D foi de  $73\% \pm 2,2$  e OELO QT.B  $95\% \pm 2,1$ . O OELO reduziu em 53,5% a taxa de consumo de oxigênio e quando o NADH foi utilizado como substrato oxidável diminuiu em 59,8% a atividade da succinato oxidase. O OELO QT.D reduziu a atividade da AChE em 22,9% e o QT.B reduziu em 12,6%. O OELO não apresentou efeito citotóxico, além de ter os melhores resultados para atividade larvicida quando comparado ao controle comercial temefós.

No trabalho de Rodríguez-González et al. (2020) os compostos majoritários do OELO foram o carvacrol-58.6%, o *p*-cimeno-6.27% e o  $\beta$ -cariofileno-4.13% (QT.B). O OELO foi analisado frente a *A. obtectus*. A taxa de mortalidade dos insetos adultos foi de  $85.00 \pm 4.07\%$ , os dados reforçaram o potencial inseticida do OELO QT.B e o elencam como fonte estratégica de controle de pragas com baixo risco ambiental.

No trabalho de Braga de Oliveira et al. (2021), os compostos majoritários identificados no OELO foram *p*-cimeno-37,8%, carvacrol-14,0%,  $\gamma$ -terpineno-1,6%, linalol-6,1% (QT.G). As concentrações de trabalho variaram de 0.6–1,4  $\mu\text{g/mL}$ . Os Valores de concentrações efetivas ( $EC_{50}$ ) de OELO contra *neoechinorhynchus buttnerae* foram calculados utilizando diferentes tempos de exposição  $EC_{50}$  (2h) 1.20 (1.17–1.23),  $EC_{50}$  (6h) 0.86 (0.85–0.87)  $EC_{50}$  (24 h) 0.76 (0.73–0.78). Neste estudo, os autores observaram que na concentração de 1,0

mg/mL o OELO atingiu 100% de mortalidade contra os parasitas *Neoechinorhynchus buttnerae*, após 24 h de exposição.

No trabalho de Zapata-Zapata et al. (2022), os compostos majoritários das amostras foram QT.D- Timol-49,4%, *p*-cimeno-19,1%,  $\gamma$ -terpineno-9,2%, QT.B-carvacrol-34,9%, timol-23,3%,  $\gamma$ -terpineno QT.C-Timol-75,3%, *trans*- $\beta$ -cariofileno-5,4%, carvacrol- 4,9%, QT.C-Timol-71,7%, *p*-cimeno-10,5%, carvacrol-4,4%. O OELO Carvacrol + timol (QT.B) e o carvacrol + *p*-cimeno (QT.C) foram ativos contra 80% das leveduras analisadas. O OELO QT.C inibiu 75% das cepas avaliadas e 70% das leveduras avaliadas. O menor efeito citotóxico e o índice de seletividade (SI) foram observados para o quimiotipo OELO QT.C com  $CC_{50} = 903,6 \mu\text{g/mL}$  e SI 3.5–56, o quimiotipo OELO-QT.B com  $CC_{50} 788,0 \mu\text{g/mL}$  e SI 3.0–49.2, o quimiotipo OELO-QT.C (timol 75,3%) com  $CC_{50} 877,9 \mu\text{g/mL}$  e SI 3.4–54.8) e o quimiotipo OELO- QT.C (timol 71,7%) com  $CC_{50} 665,9 \mu\text{g/mL}$  e SI 2.6–41. O SI fora dependente da cepa, os maiores valores de SI estão relacionados as cepas resistentes ou cepas que apresentavam MICs elevados em relação aos antifúngicos, mas eram sensíveis ao OELO ou terpenos comerciais. Os quimiotipos do OELO influenciam na sua atividade antifúngica.

Sombra et al. (2022) identificaram os compostos majoritários do OELO como acetofenona-32,75%, carvacrol-30,37%,  $\alpha$ -Himachaleno-10,38% (QT.B). Verificaram que o parasitismo dos ovos diminuiu com a pulverização com o OELO QT.B e, nas concentrações mais elevadas, reduziu as taxas de parasitismo e emergência de adultos em *Trichogramma pretiosum* Riley (*T. pretiosum*). O OELO apresentou seletividade para *T. pretiosum*, com menor toxicidade em adultos e menor redução do parasitismo. A seletividade do OELO possibilita a liberação de *T. pretiosum*, integrando o controle biológico como inseticidas botânicos, desde que os ovos já estejam parasitados por *T. pretiosum*. A atividade apresentada pelo OELO está relacionada aos mecanismos de ação dos quimiotipos, principalmente ao timol e carvacrol.

No trabalho de Tiwari et al. (2022), os compostos majoritários identificados para o OELO foram timol-43,02%,  $\gamma$ -Terpineno-19,99%, carvacrol-18,44% e *p*-cimeno-14,67% (QT.D). A maior eficiência de nanoencapsulação (NE) foi de 77,28% e a eficiência de carregamento (LE) 2,65%. Tanto o OELO QT.D quanto a CS-OELO-Np exibiram atividade antifúngica significativa e apresentaram 100% de eficiência antifúngica contra diferentes fungos de origem alimentar.

## 2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A composição dos OEs pode sofrer variações na concentração dos componentes bioativos e na sua atividade antioxidante (TELES et al., 2020), sem interferir diretamente no efeito fitoterápico dos OEs (BARROS et al., 2022). Os OEs são ricos em antioxidantes fenólicos, atuam como eliminadores de radicais livres, e atuam tanto na fase inicial como durante o desenvolvimento do estresse oxidativo.

Estresse oxidativo é o desequilíbrio entre espécies reativas e efeitos antioxidante que em conjunto, levam ao envelhecimento e a diversas doenças, incluindo doenças neurodegenerativas (AEBISHER et al., 2021; TRUJILLO-MAYOL et al., 2021; ZHANG et al., 2023).

Os antioxidantes são moléculas que neutralizam os efeitos adversos do estresse oxidativo, podem ser sintéticos ou naturais (MICIĆ et al., 2021). Estudos têm demonstrado o aumento na popularidade dos antioxidantes naturais, não apenas porque alguns antioxidantes sintéticos causam efeitos colaterais indesejados nos seres vivos (Xu et al., 2021. Carmen et al., 2019), mas principalmente porque são associados a doenças relacionadas ao estresse oxidativo (DE FATIMA ALVES NONATO et al., 2022).

Os OEs de *L. origanoides*, da região amazônica, são ricos em compostos fenólicos de baixa toxicidade, com alto potencial antioxidante, podendo surgir como alimento funcional ou seguir para produção fitoterápicos e/ou medicamentos, devido à sua grande importância medicinal para os seres vivos (FERREIRA et al., 2022; FONSECA et al., 2020).

Atualmente, trabalhos têm demonstrado que as atividades biológicas e potencial antioxidante do OELO estão relacionados aos quimiotipos e aos efeitos sinérgicos entre os fitoquímicos bioativos, presentes no OELO.

Dos Santos Filho et al. (2023), no trabalho Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Lippia alba* and *Lippia origanoides*, compararam a diferença no potencial da atividade antioxidante do DPPH (mg/mL) de *Lippia alba* quimiotipo- Geranial 23.0%, Limonemo 17.0%, Neral 15.5% ( $IC_{50} = 60.16 \pm 0.28$ ), com resultado significativamente maior para *Lippia origanoides* QT.D com  $IC_{50} = 0.22 \pm 0.02$  mg/mL, comparados ao controle Trolox  $0.00275 \pm 0.14$  mg/mL, essa diferença no potencial antioxidante pode ser explicado pela diferença encontrada na composição química entre as duas espécies.

No trabalho de Tiwari et al. (2022), a diferença encontrada para o potencial antioxidante de nanopartículas do OELO QT.D foi  $IC_{50} = 4,17 \mu\text{L/mL}$  em relação ao OELO

isolado QT.D com  $IC_{50} = 6,20 \mu\text{L/mL}$ , pode estar relacionada a melhor solubilidade dos componentes bioativos no nanogel. No entanto, tanto o OELO como as nanopartículas apresentaram resultados otimistas que os tornam rota para a elaboração de produtos naturais com propriedades antifúngicas e anti-AFB1.

Teixeira et al. (2022) compararam as atividades antioxidantes de *Cantinoa carpinifolia*  $\alpha$ -tujona-32,15% e  $\beta$ -tujona-22,22% e *Lippia origanoides* QT.B-carvacrol-41,51%, *p*-cimeno-18,36%,  $\gamma$ -terpineno-17,03% por diferentes métodos. O potencial antioxidante do OELO QT.B obteve melhores resultados que o *C. carpinifolia* e foi mais eficaz que o controle, manitol, no método de eliminação de radicais hidroxila. Os resultados reforçam que o potencial antioxidante do OELO pode reduzir ou eliminar radicais livres, participar em reações de oxidação lipídica, além da quelação de metais. O OELO caminha para aplicação nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica no tratamento de processos inflamatórios.

Damasceno et al. (2020) estudaram o OELO QT.C com o majoritário timol 78,20%, *p*-cimeno 5,76%, E-cariofileno 3,53%. O Tamanho médio da partícula (CS-CAEO)  $417.26 \pm 55,96 \text{ nm}$  e potencial Zeta  $+54,57\text{mV}$  do OELO encapsulado. O OELO QT.C e o CS-CAEO apresentaram potencial antioxidante, o OELO com DPPH = 28.98 mg do nanogel/mg de DPPH e Neutralização =  $79.73 \pm 1.64\%$  e o CS- $\rho$ CAEO DPPH = 53.48 mg do nanogel/mg DPPH e Neutralização =  $31.49 \pm 0.82\%$ . A atividade antioxidante devido à neutralização do radical ABTS por nanogéis para o CS- $\rho$ CAEO  $444.8 \pm 3.6 \text{ mg de trolox/g nanogel}$  e OELO  $367.6 \pm 2.8 \text{ mg de trolox/g nanogel}$ ). O potencial antioxidante do nanogel CS- $\rho$ CAEO foi melhor que o OELO puro, fato atribuído ao encapsulamento eficaz que contribuiu para aumentar as atividades antioxidantes, uma vez que resguarda os compostos voláteis do OELO.

Mar et al. (2018) em *Lippia origanoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*, apresentou potencial atividade antioxidante do OELO QT.B por diferentes métodos, onde os compostos majoritários foram carvacrol-48,31%, *p*-cimeno-9,11%, timol 8,78%. A atividade antioxidante com DPPH:  $IC_{50} = 8.4 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$ , ABTS:  $691.8 \pm 44.3 \mu\text{M TE/g}$  (Equivalentes de Trolox) e FRAP:  $933.1 \pm 8.1 \mu\text{M Eq Fe (II)/g}$ , atribuíram essas atividades, a presença dos fitoconstituintes carvacrol e timol, monoterpenos fenólicos, com atividade inseticida comprovada. O OELO é uma alternativa natural para o controle das pragas e pode fazer parte de uma nova geração de compostos biologicamente ativos devido à sua alta eficiência e caráter ecologicamente correto.

De acordo com os estudos de Damasceno et al. (2020), Tiwari et al. (2022) e Dos Santos filho et al. (2023), o hidrocarboneto aromático oxigenado timol, como composto majoritário (QT.C), é responsável pelo potencial antioxidante do OELO, ao passo que (Mar et al. (2018) e (Teixeira et al. (2022) relacionam esse poderio antioxidante a substância predominante carvacrol (QT.B) e suas características fenólicas. Contudo, todos corroboram que o timol e o carvacrol são capazes de interagir com monoterpenos aromáticos e não aromáticos (*p*-cimeno, E-cariofileno, linalol e gama-terpineno) de maneira sinérgica ou antagônica, aumentando a capacidade antioxidante dos demais fitoconstituintes presentes no OELO.

## **2.5 O OELO TEM POTENCIAL DE INIBIÇÃO NA ATIVIDADE ACETILCOLINESTERASE**

A enzima acetilcolinesterase (AChE) desempenha importante papel na regulação da transmissão colinérgica, sua supressão é responsável por aumentar a duração da acetilcolina nas sinapses colinérgicas, melhorando a qualidade de vida dos pacientes com doença de Alzheimer (DA) (EBLING FLORES; ZAMIN, 2017; SOUTO DA SILVA et al., 2022). Isso a torna alvo de estudos na busca de novos medicamentos inibidores da AChE para o tratamento da DA (LOPES et al., 2022; PITCHAI et al., 2020; SANTOS FILHO et al., 2023; TAHA et al., 2021; VIJAYAKUMAR et al., 2018). Os OEs obtidos de plantas aromáticas atuam como moduladores do sistema neurológico e o conjunto de substâncias bioativas presentes nesses OEs atuam de forma sinérgica ou antagônica, entre si, tornando-os mais eficazes na neutralização da neurodegeneração, ao invés de uma única substância atuando no sítio da molécula (DA SILVA BARBOSA et al., 2020). OEs do gênero *Lippia*, que apresentem como mecanismo de ação a inibição da AchE, são anticolinesterásicos, podendo ser utilizados para estudos relacionados a diversas patologias neurológicas e serem integrados ao controle biológico como bioinseticida. (CEARA STATE UNIVERSITY et al., 2022; FELIX et al., 2021; JOSÉ-RITA et al., 2022; KOBENAN et al., 2022; S. DE OLIVEIRA et al., 2019)

O OELO inibiu a AChE nos modelos *Aedes aegypti*, *Trichogramma pretiosum* Riley, *Spodoptera frugiperda*, *Colossoma macropomum*, *Aedes aegypti* *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* e *Cerataphis lataniae*, conforme Tabela 1 e discussão abaixo.

No estudo de Duque et al. (2023) verificaram a atividade larvicida dos quimiotipo do OELO QT.B e QT.C frente ao mosquito *Aedes aegypti* (*A. aegypti*), os resultados mostraram

redução na atividade da AChE em 22,9% além de ter um efeito citotóxico diminuindo em até  $45,59 \pm 6,8 \mu\text{g/mL}$ .

No trabalho de Brandão et al. (2022), os compostos majoritários do OELO foram QT.C-timol-72.2%, *p*-cimeno-8.1%, e E-cariofileno-4.9%. O transporte de *C. macropomum* com OELO (20 mg/L) mostrou uma redução significativa nos níveis de cortisol em comparação com peixes transportados sem OE. O OELO na concentração de 20 mg/L, não afetou a atividade da AChE no cérebro de *Colossoma macropomum*, no entanto, na AChE muscular apresentou redução significativa de 28,2%, além de promover aumento nos níveis da enzima glutatona S-transferase no cérebro. Na análise de inibição da AChE com o OELO foi verificado que não ocorreu efeitos neurotóxicos na concentração de 20 mg/L, podendo ser recomendada para uso no transporte de tambaquis juvenis.

Mar et al. (2018) em *Lippia origanoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*, QT.B-Carvacrol-48,31% *p*-cimeno-9,11% timol-8,78%, verificaram que apesar do OELO possuir boa atividade inibitória da AchE, com  $IC_{50} = 16,93 \mu\text{g/mL}$ , verificaram que a atividade larvicida do OELO, não ocorre pela inibição da AChE e sim pelo mecanismo de ingestão ou contato (exoesqueleto/cutícula). Verificaram que o carvacrol não possui atividade tóxica no modelo utilizado.

## 2.6 IMPORTÂNCIA CLÍNICA DO ESTUDO DE *Lippia origanoides* Kunth

O OE de *L. origanoides* Kunth é um produto natural de grande relevância, estudos têm demonstrado sua eficiência para elaboração de fitoterápicos, fármacos e medicamentos por possuir compostos com ação antioxidante, importante no atraso do envelhecimento e tratamentos de doenças ocasionadas por estresse oxidativo. Importante investigar seu efeito farmacológico em doenças neurovegetativas como Parkinson, esclerose múltipla, doença de Huntington, epilepsia e Alzheimer, uma vez que essas doenças estão relacionadas ao desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. Nesta revisão de literatura reforçamos a importância farmacológica do óleo essencial de *Lippia origanoides* e seus quimiotipos, como fitoterápicos utilizados pela população com orientação do SUS, como coadjuvante no tratamento de doenças causadas por microrganismos. O OELO tem demonstrado ser promissor para elaboração de produtos terapêuticos, tanto para uso animal como humano.

## CONCLUSÃO

Em conclusão quando observamos os dados apresentados e discutidos da tabela 1, verificamos que as atividades analisadas para o OELO estão, na maioria das vezes, relacionadas aos compostos majoritários e aos diferentes quimiotipos do OE de *Lippia origanoides*, por exemplo: o QT.A relacionado a atividade larvicida; QT.B inseticida, antimicrobiano, antibiofilme, acaricida, larvicida, espasmolítico, antioxidante, anti-inflamatório e inibidor da AchE; QT.C antibacteriano, antibiofilme, larvicida, sedativo, anestésico e antioxidante; o QT.D antibacteriano, antibiofilme antifúngico, larvicida e antioxidante; para o QT.E e QT.F atividade antibacteriana; e QT.G antiparasitário. Para isso faz-se necessário identificar, quantificar a composição química além, de depositar a exsiccata do espécime para comprovar a origem e obtenção dos OEs, principalmente do OELO, por apresentar diferentes quimiotipos, com diferença no percentual dos compostos majoritários. Observamos que há uma lacuna em experimentos *in vivo* que corroborem a análise dos efeitos terapêuticos com o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. Sendo assim, mais estudos são necessários para comprovar essas atividades em modelos vivos, bem como melhorar o sistema para resguardar as propriedades do OE, já que seus componentes são voláteis. Dessa forma, estudos estão em desenvolvimento, buscando a transposição dos efeitos ora obtidos *in vitro* para aplicação *in vivo*, utilizando modelos que possuam homologia com os humanos.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Gostaríamos também de agradecer à Faculdade Catedral, localizada em Boa Vista, RR e à Secretaria de Educação do estado de Roraima, pela liberação para a realização deste trabalho.

Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 1974 May;77(1):71-94. doi: 10.1093/genetics/77.1.71. PMID: 4366476; PMCID: PMC1213120.

## REFERENCIAS

- AEBISHER, D. et al. Essential Oils of Seven Lamiaceae Plants and Their Antioxidant Capacity. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3793, 22 jun. 2021.
- AGGARWAL, N. T.; MIELKE, M. M. Sex Differences in Alzheimer's Disease. **Neurologic Clinics**, v. 41, n. 2, p. 343–358, maio 2023.
- AGNELLO, L.; CIACCIO, M. Neurodegenerative Diseases: From Molecular Basis to Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 12854, 25 out. 2022.
- AHMED, S. et al. Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111609, jul. 2021.
- AIDI WANNES, W. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 1362–1370, maio 2010.
- AKRAM, M.; NAWAZ, A. Effects of medicinal plants on Alzheimer's disease and memory deficits. **Neural Regeneration Research**, v. 12, n. 4, p. 660, 2017.
- ALEXANDER, A. G.; MARFIL, V.; LI, C. Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 5 set. 2014.
- ALFONSO, A. et al. The *Caenorhabditis elegans unc-17* Gene: a Putative Vesicular Acetylcholine Transporter. **Science**, v. 261, n. 5121, p. 617–619, 30 jul. 1993.
- ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018a.
- ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018b.
- ALMOHAMMED, H. I.; ALKHAIBARI, A. M.; ALANAZI, A. D. Antiparasitic effects of *Elettaria cardamomum* L. essential oil and its main compounds, 1-8 Cineole alone and in combination with albendazole against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 2811–2818, abr. 2022.
- ANANDAKUMAR, P.; KAMARAJ, S.; VANITHA, M. K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 1, jan. 2021.
- APOSTOLAKOU, A. E. et al. Exploring the conservation of Alzheimer-related pathways between *H. sapiens* and *C. elegans*: a network alignment approach. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4572, 25 fev. 2021.

ARAGÃO, M. I. D. C. et al. O uso de óleos essenciais associado à fisioterapia para o alívio da dor na dismenorreia: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e30101119308, 22 ago. 2021.

ARIZA NIETO, C.; ORTIZ, R. E.; TELLEZ, G. A. EFFECT OF TWO CHEMOTYPES OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON BROILER PERFORMANCE, NUTRIENT BALANCE, AND LIPID PEROXIDATION OF BREAST MEAT DURING STORAGE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, n. 0, 4 out. 2018.

ARRUDA, H. S. et al. Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. **Journal of Functional Foods**, v. 75, p. 104203, dez. 2020.

ASHRAFIAN, H.; ZADEH, E. H.; KHAN, R. H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 382–394, jan. 2021.

AYAZ, M. et al. Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, p. 168, 30 maio 2017.

BANDEIRA JUNIOR, G. et al. Plant essential oils against bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia origanoides*. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20190064, 2019.

BARRETO, F. S. et al. Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceara, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 1, p. 42–44, jan. 2010.

BARROS, L. D. S. P. et al. Chemometric analysis of the seasonal variation in the essential oil composition and antioxidant activity of a new geraniol chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson from the Brazilian Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 105, p. 104503, dez. 2022.

BAUTISTA-HERNÁNDEZ, I. et al. Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5156, 25 ago. 2021.

BECKER, A. J. et al. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: a comparative approach between different essential oils. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, n. 0, 22 out. 2018.

BENNY, A.; THOMAS, J. Essential Oils as Treatment Strategy for Alzheimer's Disease: Current and Future Perspectives. **Planta Medica**, v. 85, n. 03, p. 239–248, fev. 2019.

BEZERRA FILHO, C. M. et al. Antimicrobial and Antivirulence Action of *Eugenia brejoensis* Essential Oil in vitro and in vivo Invertebrate Models. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 424, 19 mar. 2020.

BHATT, S.; PULI, L.; PATIL, C. R. Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 3, p. 794–803, mar. 2021.

BIAŁOŃ, M. et al. Chemical Composition of Two Different Lavender Essential Oils and Their Effect on Facial Skin Microbiota. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3270, 8 set. 2019.

BLANK, P. N.; SHINSKY, S. A.; CHRISTIANSON, D. W. Structure of Sesquisabinene Synthase 1, a Terpenoid Cyclase That Generates a Strained [3.1.0] Bridged-Bicyclic Product. **ACS Chemical Biology**, v. 14, n. 5, p. 1011–1019, 17 maio 2019.

BONCAN, D. A. T. et al. Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7382, 6 out. 2020.

BRAGA DE OLIVEIRA, M. I. et al. *In vitro* anthelmintic efficacy of essential oils in the control of *Neoechinorhynchus buttnerae*, an endoparasite of *Colossoma macropomum*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 5, p. 509–522, 3 set. 2021.

BRANDÃO, F. R. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 534, p. 736275, mar. 2021.

BRANDT, C. C. M. et al. Rosemary essential oil microemulsions as antimicrobial and antioxidant agent in tomato paste. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100295, out. 2023.

BRAZIL (ED.). **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. 1a. ed ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 8 dez. 2020.

BRICARELLO, P. A. et al. Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, ago. 2021.

BRITO, E. N. D. et al. Inteligência Artificial no diagnóstico de doenças neurodegenerativas: uma revisão sistemática de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e482101120004, 7 set. 2021.

BRITO, F. N. et al. Proliferation of human adipose tissue-derived stem cells stimulated by oil rich in thymol of *Lippia origanoides*. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 431–438, maio 2018.

BRNAWI, W. I. et al. Antimicrobial activity of leaf and bark cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in broth system and on celery. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 3, p. e13888, mar. 2019.

BROCHOT, A. et al. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 4, p. e00459, ago. 2017.

BURKHARDT, I. et al. Ancient plant-like terpene biosynthesis in corals. **Nature Chemical Biology**, v. 18, n. 6, p. 664–669, jun. 2022.

CABALLERO-GALLARDO, K. et al. Chemical Composition, Repellent Action, and Toxicity of Essential Oils from *Lippia origanoide*, *Lippia. alba* Chemotypes, and *Pogostemon cablin* on Adults of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Insects**, v. 14, n. 1, p. 41, 31 dez. 2022.

CÁCERES, M. et al. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 147, 30 mar. 2020.

CALDWELL, K. A.; WILLICOTT, C. W.; CALDWELL, G. A. Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Disease Models & Mechanisms**, v. 13, n. 10, p. dmm046110, 1 out. 2020.

CANHOS, D. A. L. et al. The Importance of Biodiversity E-infrastructures for Megadiverse Countries. **PLOS Biology**, v. 13, n. 7, p. e1002204, 23 jul. 2015.

CARDOSO, P. H. et al. Verbenaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 777–786, jun. 2018.

CARDOSO, P. H. et al. An update of the Verbenaceae genera and species numbers. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 1, p. 80–86, 23 mar. 2021.

CARDOSO, P. H.; SALIMENA, F. R. G. Notas taxonômicas em Verbenaceae da Flora do Brasil. **Hoehnea**, v. 46, n. 4, p. e032019, 2019.

CARMEN, M. D. Frutas tropicales como fuentes de antioxidantes y sus perspectivas en la industria de bebidas. [s.d.].

CARVALHO, A. C. B. et al. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 29–35, fev. 2018.

CEARA STATE UNIVERSITY et al. Biotechnological potential of essential oils from different chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 21, n. 6, p. 725–736, 30 nov. 2022.

CHAACHOUAY, N. et al. Poisonous medicinal plants used in the popular pharmacopoeia of the Rif, northern Morocco. **Toxicon**, v. 189, p. 24–32, jan. 2021.

CHACÓN-VARGAS, K. F. et al. Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer and *Poliomintha longiflora* Gray) Essential Oils Induce Cell Death by Apoptosis in *Leishmania* (*Leishmania*) mexicana Promastigotes. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5183, 15 ago. 2022.

CHEN, S.-Y. et al. Traditional Chinese Medicine: Role in Reducing  $\beta$ -Amyloid, Apoptosis, Autophagy, Neuroinflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunction of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 497, 22 abr. 2020a.

CHEN, W. N. et al. Neuroprotective, neurite enhancing, and cholinesterase inhibitory effects of Lamiaceae family essential oils in Alzheimer's disease model. **Journal of Herbal Medicine**, v. 41, p. 100696, set. 2023.

CHEN, X. et al. Essential Oil of *Acorus tatarinowii* Schott Ameliorates A $\beta$ -Induced Toxicity in *Caenorhabditis elegans* through an Autophagy Pathway. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–11, 22 dez. 2020b.

CHEN, Y. et al. Litchi flower essential oil balanced lipid metabolism through the regulation of DAF-2/IIS, MDT-15/SBP-1, and MDT-15/NHR-49 pathway. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 934518, 19 out. 2022.

CHENG, Y.-J.; LIN, C.-H.; LANE, H.-Y. From Menopause to Neurodegeneration—Molecular Basis and Potential Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8654, 11 ago. 2021.

CHI, H.; CHANG, H.-Y.; SANG, T.-K. Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, p. 3082, 9 out. 2018.

CHU, K. O. et al. Pro-oxidative and Antioxidative Controls and Signaling Modification of Polyphenolic Phytochemicals: Contribution to Health Promotion and Disease Prevention? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 4026–4038, 7 maio 2014.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A UTILIZAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS PELA COMUNIDADE INDÍGENA DE VENTARRA ALTA- RS. 2014.

COMBES, D. et al. Multiple *ace* genes encoding acetylcholinesterases of *Caenorhabditis elegans* have distinct tissue expression. **European Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 3, p. 497–512, ago. 2003.

CORSI, A. K. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. **WormBook**, p. 1–31, 18 jun. 2015.

COUILLAUD, J.; DUQUESNE, K.; IACAZIO, G. Extension of the Terpene Chemical Space: the Very First Biosynthetic Steps. **ChemBioChem**, v. 23, n. 9, 4 maio 2022.

COUTINHO, D. F.; TRAVASSOS, L. M. A.; DO AMARAL, F. M. M. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DE PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS EM COMUNIDADES INDÍGENAS NO ESTADO DO MARANHÃO - BRASIL. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, 30 jun. 2002.

CULETTO, E. et al. Structure and promoter activity of the 5' flanking region of *ace-1*, the gene encoding acetylcholinesterase of class A in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Molecular Biology**, v. 290, n. 5, p. 951–966, jul. 1999.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 12 fev. 2019.

DA SILVA, A. C. et al. Larvicidal activity, enzyme inhibitory effect, and molecular docking by essential oil, hydrolate, aqueous extract, and major compounds from the leaves of *Eugenia uniflora* against *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, v. 204, p. 117380, nov. 2023.

DA SILVA BARBOSA, D. C. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, set. 2020.

DAMASCENO, E. et al. NANO-ENCAPSULATION OF *Lippia origanoides* KUNTH. ESSENTIAL OIL BY CHITOSAN-CAFFEIC ACID NANOGEL. **Química Nova**, 2019.

DAVIS, A. N.; TANIS, J. E. Measuring *Caenorhabditis elegans* Sensitivity to the Acetylcholine Receptor Agonist Levamisole. **Journal of Visualized Experiments**, n. 184, p. 64056, 7 jun. 2022.

DE ALBUQUERQUE LIMA, T. et al. Insecticidal activity of a chemotype VI essential oil from *Lippia alba* leaves collected at Caatinga and the major compound (1,8-cineole) against *Nasutitermes corniger* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 177, p. 104901, ago. 2021.

DE ALMEIDA, W. S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham. (Verbenaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 236–240, dez. 2018.

DE CAMPOS, D. L. et al. Aniba canelilla (Kunth) Mez essential oil and its primary constituent, 1-nitro-2-phenylethane, inhibits acetylcholinesterase and reverse memory impairment in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 116036, mar. 2023.

DE FATIMA ALVES NONATO, C. et al. Comparative analysis of chemical profiles and antioxidant activities of essential oils obtained from species of *Lippia* L. by chemometrics. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132614, ago. 2022.

DE OLIVEIRA, I. C. et al. Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 3, p. 501–519, jun. 2022.

DE SOUZA, P. et al. Promising Medicinal Plants with Diuretic Potential Used in Brazil: State of the Art, Challenges, and Prospects. **Planta Medica**, v. 87, n. 01/02, p. 24–37, fev. 2021.

DEY, A. et al. Natural products against Alzheimer's disease: Pharmaco-therapeutics and biotechnological interventions. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 178–216, mar. 2017.

DINIZ DO NASCIMENTO, L. et al. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. **Biomolecules**, v. 10, n. 7, p. 988, 1 jul. 2020.

DONATO, R. et al. Antifungal activity of different essential oils against *Malassezia* pathogenic species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 249, p. 112376, mar. 2020.

DOS SANTOS, R. C. et al. Influence of diurnal variation in the chemical composition and bioactivities of the essential oil from fresh and dried leaves of *Lantana camara*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, n. 3, p. 228–234, 4 maio 2019.

DUGGER, B. N.; DICKSON, D. W. Pathology of Neurodegenerative Diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 9, n. 7, p. a028035, jul. 2017.

DUQUE, J. E. et al. Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 20 fev. 2023.

EBLING FLORES, L.; ZAMIN, L. L. Potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do Canabidiol: relevância e perspectivas para o tratamento de doenças neurodegenerativas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 16, n. 2, p. 224, 27 out. 2017.

EDDIN, L. B. et al. Neuroprotective Potential of Limonene and Limonene Containing Natural Products. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4535, 27 jul. 2021.

EISENMENGER, L. B. et al. Vascular contributions to Alzheimer's disease. **Translational Research**, v. 254, p. 41–53, abr. 2023.

ELDUFANI, J.; BLAISE, G. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: A review of recent clinical applications. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 5, n. 1, p. 175–183, jan. 2019.

FALCO, A. D. et al. ALZHEIMER'S DISEASE: ETIOLOGICAL HYPOTHESES AND TREATMENT PERSPECTIVES. **Química Nova**, 2015.

FÉLIX, M.-A.; BRAENDLE, C. The natural history of *Caenorhabditis elegans*. **Current Biology**, v. 20, n. 22, p. R965–R969, nov. 2010.

FELIX, S. F. et al. Chemical Composition, Larvicidal Activity, and Enzyme Inhibition of the Essential Oil of *Lippia grata* Schauer from the Caatinga Biome against Dengue Vectors. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 250, 10 mar. 2021.

FERRAZ, E. D. O. et al. Seasonality effects on chemical composition, antibacterial activity and essential oil yield of three species of *Nectandra*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0204132, 18 set. 2018.

FERRAZ, M. P. S. et al. PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NO NORDESTE BRASILEIRO COM POTENCIAL FITOTERÁPICO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2023.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. suppl 2, p. 28–34, 2005.

FERREIRA, O. O. et al. Essential Oil of the Plants Growing in the Brazilian Amazon: Chemical Composition, Antioxidants, and Biological Applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 8 jul. 2022.

FILHO, J. G. S. et al. A Chemical Marker Proposal for the *Lantana* genus: Composition of the Essential Oils from the Leaves of *Lantana radula* and *L. canescens*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 4, p. 1934578X1000500, abr. 2010.

FONSECA, M. C. M. et al. EFFECT OF DRYING TEMPERATURE ON THE YIELD AND PHYTOCHEMICAL QUALITY OF THE ESSENTIAL OIL OF PEPPER ROSEMARY (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH) AND OF CLOVE BASIL (*OCIMUM GRATISSIMUM* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 57107–57120, 2020.

FUENTES, C. et al. Effects of essential oil components exposure on biological parameters of *Caenorhabditis elegans*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 159, p. 112763, jan. 2022.

FURLANI, R. et al. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST PATHOGENS OF IMPORTANCE IN CAPRINE AND OVINE MASTITIS. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 702–708, set. 2021.

GIMENES, L. et al. Essential Oils of New *Lippia alba* Genotypes Analyzed by Flow-Modulated Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) and Chemometric Analysis. **Molecules**, v. 26, n. 8, p. 2332, 16 abr. 2021.

GNATTA, J. R. et al. Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 1, p. 127–133, fev. 2016.

GOMES, A. F. et al. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food Chemistry**, v. 273, p. 186–193, fev. 2019.

GÓMEZ-ORTE, E. et al. Effect of the diet type and temperature on the *C. elegans* transcriptome. **Oncotarget**, v. 9, n. 11, p. 9556–9571, 9 fev. 2018.

GÓMEZ-SEQUEDA, N. et al. Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Essential Oils against *Escherichia coli* O157:H7 and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 730, 24 out. 2020.

GOMIDE, M. E. M. A. et al. Uma abordagem geral da demência: Doença de Alzheimer e Demência Vascular. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 18, p. e11047, 3 out. 2022.

GRAY, J. C.; CUTTER, A. D. Mainstreaming *Caenorhabditis elegans* in experimental evolution. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1778, p. 20133055, 7 mar. 2014.

GREGORY, J. et al. Neuroprotective Herbs for the Management of Alzheimer's Disease. **Biomolecules**, v. 11, n. 4, p. 543, 8 abr. 2021.

GUEDES DA PAZ, E. et al. Doenças neurodegenerativas em adultos e idosos: um estudo epidemiológico descritivo. **Revista Neurociências**, v. 29, p. 1–11, 18 set. 2021.

GUILHERME, E. O. et al. Jenipapo, *Genipa americana* L., essential oil and *Curvularia lunata* control: Potential mode-of-action; plant immune responses and selectivity against beneficial non-target organisms. **Industrial Crops and Products**, v. 199, p. 116708, set. 2023.

GUILLÍN, Y. et al. Effect of Essential Oils on the Inhibition of Biofilm and Quorum Sensing in *Salmonella enteritidis* 13076 and *Salmonella typhimurium* 14028. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1191, 1 out. 2021.

GUIMARÃES, L. H. D. S. et al. Chemical Composition and Cytotoxicity Evaluation of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) Leaves Essential Oil on Human Gingival Fibroblasts. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 4, p. 704–713, 4 jul. 2021.

HAMPEL, H. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain**, v. 141, n. 7, p. 1917–1933, 1 jul. 2018.

HAN, Y. et al. ace-3 plays an important role in phoxim resistance in *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 4, p. 835–844, maio 2016.

HARDAN, L. et al. COVID-19 and Alzheimer's Disease: A Literature Review. **Medicina**, v. 57, n. 11, p. 1159, 25 out. 2021.

HARO-GONZÁLEZ, J. N. et al. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6387, 22 out. 2021.

HENRIQUE MONIZ, A. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil increases longevity and ameliorates  $\beta$ -amyloid peptide-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Natural Product Research**, p. 1–9, 2 dez. 2023.

History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. **WormBook**, p. 1–84, 7 set. 2017.

HOU, H. et al. Effects of *Origanum vulgare* essential oil and its two main components, carvacrol and thymol, on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. **PeerJ**, v. 8, p. e9626, 14 ago. 2020.

HUANG, X. et al. Neuroprotective Effects of Ginseng Phytochemicals: Recent Perspectives. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2939, 14 ago. 2019.

HUNT, P. R. The *C. elegans* model in toxicity testing. **Journal of Applied Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 50–59, jan. 2017.

HUSSAIN, M. et al. An ethno-botanical study of indigenous medicinal plants and their usage in rural valleys of Swabi and Hazara region of Pakistan. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e243811, 2022.

JANAÍNA S. PIRES et al. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. 2017.

JANNUZZI, H. et al. Avaliação agrônômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 412–417, dez. 2010.

JEDDI, M. et al. Antimicrobial, antioxidant,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of a chemically characterized essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.: in vitro and in silico investigations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 111, p. 104731, dez. 2023.

JOHNSON, C. A.; BEHBEHANI, R.; BUSS, F. Unconventional Myosins from *Caenorhabditis elegans* as a Probe to Study Human Orthologues. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, p. 1889, 16 dez. 2022.

JOHNSON, C. D.; HERMAN, R. K.; STERN, B. D. The Acetylcholinesterase Genes of *C. elegans*: Identification of a Third Gene (*ace-3*) and Mosaic Mapping of a Synthetic Lethal Phenotype. [s.d.].

JORGENSEN, E. M.; MANGO, S. E. The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans*. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 5, p. 356–369, 1 maio 2002.

JOSÉ-RITA, B. J. et al. Study of the chemical and in vitro cytotoxic activities of essential oils (EOs) of two plants from the Ivorian flora (*Lippia multiflora* and *Zingiber officinale*) and their antiviral activities against non-enveloped viruses. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 387–393, dez. 2022.

JOSHI, A. et al. Chemical Analysis and Antioxidant Activity of Essential Oils of Two Morphotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 3, p. 687–700, 4 maio 2018.

KALETTA, T.; HENGARTNER, M. O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 5, p. 387–399, maio 2006.

KARIM, MD. R. et al. A review on Impact of dietary interventions, drugs, and traditional herbal supplements on the gut microbiome. **Microbiological Research**, v. 271, p. 127346, jun. 2023.

KARIMI YAZDI, M. et al. Antiparasitic effects of *Zataria multiflora* essential oil nano-emulsion on larval stages of *Echinococcus granulosus*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, n. 2, p. 429–435, jun. 2020.

KE, W. et al. Genes in human obesity loci are causal obesity genes in *C. elegans*. **PLOS Genetics**, v. 17, n. 9, p. e1009736, 7 set. 2021.

KEIL, W. et al. Long-Term High-Resolution Imaging of Developing *C. elegans* Larvae with Microfluidics. **Developmental Cell**, v. 40, n. 2, p. 202–214, jan. 2017.

KHAN, F.; JAIN, S.; OLOKETUYI, S. F. Bacteria and bacterial products: Foe and friends to *Caenorhabditis elegans*. **Microbiological Research**, v. 215, p. 102–113, out. 2018.

KIM, D.-K.; KIM, T. H.; LEE, S.-J. Mechanisms of aging-related proteinopathies in *Caenorhabditis elegans*. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, n. 10, p. e263–e263, 7 out. 2016.

KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ; SZOPA; EKIERT. Citrus limon (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 119, 17 jan. 2020.

KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 33, 13 maio 2021.

KOBENAN, K. C. et al. Chemical Composition, Antioxidant Activity, Cholinesterase Inhibitor and *in Vitro* Insecticidal Potentiality of Essential Oils of *Lippia multiflora* Moldenke and *Eucalyptus globulus* Labill. on the Main Carpophagous Pests of Cotton Plant in Ivory Coast. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 4, abr. 2022.

KOLSON, D. L.; RUSSELL, R. L. New Acetylcholinesterase-Deficient Mutants of the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Neurogenetics**, v. 2, n. 2, p. 69–91, 1 jan. 1985.

KOMURA, T. et al. Protective effect of *Lactococcus laudensis* and *Pediococcus parvulus* against neuropathy due to amyloid-beta in *Caenorhabditis elegans*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 155, p. 113769, nov. 2022.

KOYAMA, S.; HEINBOCKEL, T. The Effects of Essential Oils and Terpenes in Relation to Their Routes of Intake and Application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1558, 25 fev. 2020.

KUMAR, A. et al. A pentacyclic triterpene from *Lippia organoides* H.B.K and its cytotoxic activity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 16, n. 5, p. 513, 2020.

KUNUGI; MOHAMMED ALI. Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4662, 20 set. 2019.

KURALKAR, P.; KURALKAR, S. V. Role of herbal products in animal production – An updated review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114246, out. 2021.

LADEIRA, G. D. A. et al. Chemical characterization, antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Lippia lacunosa*, a species used by the Bandeirantes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 312, p. 116473, ago. 2023.

LANZERSTORFER, P. et al. Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative *in vitro* and *in vivo* systems. **Archives of Toxicology**, v. 95, n. 2, p. 673–691, fev. 2021.

LASCURAIN-RANGEL, M. et al. Plantas americanas utilizadas como condimento en la cocina mexicana. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 93, p. e933949, 30 set. 2022.

LEAL-SÁENZ, A. et al. Comparison of the Toxicity of Mexican Oregano Oil from Two Locations on *Epilachna varivestis* Mulsant. **Southwestern Entomologist**, v. 44, n. 4, p. 877, 3 dez. 2019.

LEE, S. H. et al. Impaired Short-Term Plasticity in Mossy Fiber Synapses Caused by Mitochondrial Dysfunction of Dentate Granule Cells Is the Earliest Synaptic Deficit in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **The Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 17, p. 5953–5963, 25 abr. 2012.

LEITE, P. M. et al. Correlation of chemical composition and anticoagulant activity in different accessions of Brazilian *Lippia alba* (Verbenaceae). **Journal of Herbal Medicine**, v. 34, p. 100581, jul. 2022.

LEUNG, M. C. K. et al. *Caenorhabditis elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 106, n. 1, p. 5–28, nov. 2008.

LEYVA-JIMÉNEZ, F. J. et al. Functional Ingredients based on Nutritional Phenolics. A Case Study against Inflammation: Lippia Genus. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1646, 18 jul. 2019.

LI, M. et al. Inhibitory activities of flavonoids from *Eupatorium adenophorum* against acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. 104701, nov. 2020.

LI, W. et al. Alzheimer's disease and COVID-19: Interactions, intrinsic linkages, and the role of immunoinflammatory responses in this process. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1120495, 9 fev. 2023.

LIANG, J. J. H.; MCKINNON, I. A.; RANKIN, C. H. The contribution of *C. elegans* neurogenetics to understanding neurodegenerative diseases. **Journal of Neurogenetics**, v. 34, n. 3–4, p. 527–548, 1 out. 2020.

LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105912, jun. 2021.

LINK, C. D. *C. elegans* models of age-associated neurodegenerative diseases: Lessons from transgenic worm models of Alzheimer's disease. **Experimental Gerontology**, v. 41, n. 10, p. 1007–1013, out. 2006.

LLAMAS-TORRES, I. et al. Impacto del manejo in situ-ex situ del orégano mexicano (*Lippia organoides* Kunth) en el noroeste de Yucatán. **Botanical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 610–630, 6 abr. 2022.

LOGESH, R.; SATHASIVAMPILLAI, S. V. A triterpenoid saponin bacoside-A3 from the aerial parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. with acetylcholinesterase enzyme combating Alzheimer's disease. **South African Journal of Botany**, v. 156, p. 177–185, maio 2023.

LOPES, F. F. D. S. et al. Plantas brasileiras com ação anticolinesterásica – uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e6211124262, 2 jan. 2022.

LU, X.-X. et al. Chemical compositions and repellent activity of *Clerodendrum bungei* Steud. essential oil against three stored product insects. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 469–475, dez. 2021.

LUCCA, L. G. et al. In vivo Acute Anti-Inflammatory Activity of Essential Oils: A Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 1495–1515, jun. 2022.

LUU, H. N. et al. Are Dietary Antioxidant Intake Indices Correlated to Oxidative Stress and Inflammatory Marker Levels? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 22, n. 11, p. 951–959, 10 abr. 2015.

MA, T. et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2. **Nature**, v. 603, n. 7899, p. 159–165, 3 mar. 2022.

MACCIONI, A. et al. Antifungal activity and chemical composition of the essential oil from the aerial parts of two new *Teucrium capitatum* L. chemotypes from Sardinia Island, Italy. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 6007–6013, 17 dez. 2021.

MACÊDO, C. A. F. et al. Lippia organoides essential oil induces tocolytic effect in virgin rat uterus and inhibits writhing in a dysmenorrhea mouse model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 290, p. 115099, maio 2022.

MACHADO, V. S. et al. *Achyrocline flaccida* essential oil from Brazil: phytochemical composition, genotoxicity, protective effects on *Caenorhabditis elegans*, and antimycobacterial activity. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5899–5903, 17 dez. 2021.

MAHONEY, T. R.; LUO, S.; NONET, M. L. Analysis of synaptic transmission in *Caenorhabditis elegans* using an aldicarb-sensitivity assay. **Nature Protocols**, v. 1, n. 4, p. 1772–1777, nov. 2006.

MALEŠ, Ž. et al. Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. **Acta Pharmaceutica**, v. 69, n. 4, p. 525–531, 1 dez. 2019.

MAMBRO, L. D.; SOUZA, N. V. D.; SILVA, W. M. B. D. Atividade de alcaloides inibidores da acetilcolinesterase no tratamento da doença de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1, 22 nov. 2022.

MAR, J. M. et al. Lippia organoides essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 292–297, jan. 2018.

MARKAKI, M.; TAVERNARAKIS, N. *Caenorhabditis elegans* as a model system for human diseases. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 63, p. 118–125, jun. 2020.

MARTÍNEZ, A. et al. Effect of Essential Oils on Growth Inhibition, Biofilm Formation and Membrane Integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1474, 30 nov. 2021.

MARTINEZ-FINLEY, E. J. et al. *C. elegans* and Neurodegeneration In *Caenorhabditis Elegans*: Anatomy, Life Cycles and Biological Functions. 2020.

MATHEWS, E. A. et al. Allele-specific suppression in *Caenorhabditis elegans* reveals details of EMS mutagenesis and a possible moonlighting interaction between the vesicular acetylcholine transporter and ERD2 receptors. **Genetics**, v. 218, n. 4, p. iyab065, 9 ago. 2021.

MATTAR, V. T. et al. Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, p. 105134, jul. 2022.

MENEZES, P. M. N. et al. Relaxant effect of Lippia organoides essential oil in guinea-pig trachea smooth muscle involves potassium channels and soluble guanylyl cyclase. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, p. 16–25, jun. 2018.

MEYER, D.; WILLIAMS, P. L. Toxicity Testing of Neurotoxic Pesticides in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 17, n. 5, p. 284–306, 4 jul. 2014.

MICIĆ, D. et al. Rosemary Essential Oils as a Promising Source of Bioactive Compounds: Chemical Composition, Thermal Properties, Biological Activity, and Gastronomical Perspectives. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2734, 9 nov. 2021.

MILLIKEN, W. TRADITIONAL MEDICINES AMONGST INDIGENOUS GROUPS IN RORAIMA, BRAZIL: A RETROSPECTIVE. **Ethnoscintia - Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology**, v. 6, n. 3, p. 116, 21 set. 2021.

MITTAL, R. P.; RANA, A.; JAITAK, V. Essential Oils: An Impending Substitute of Synthetic Antimicrobial Agents to Overcome Antimicrobial Resistance. **Current Drug Targets**, v. 20, n. 6, p. 605–624, 29 mar. 2019.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022a.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022b.

MOLLER, A. C. et al. Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of Essential Oil and Main Components from Leaves of *Aloysia polystachya* Harvested in Central Chile. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 131, 30 dez. 2020.

MONIZ, A. M. H. et al. Quimiotipos de *Lippia organoides* Kunth na Amazonia e sua importância farmacológica: uma revisão. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 12, p. 15619–15671, 11 dez. 2023.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Chemical Composition and Biological Evaluation of the Essential Oil of the Leaves of *Psidium Striatulum* in the Amazon Region. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 385–390, jun. 2019a.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Biological Evaluation of Essential Oil from Green Fruits of *Psidium Striatulum* of the Roraima State, Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 379–384, jun. 2019b.

MONTEIRO, M. V. B. et al. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 378–382, maio 2007.

MONTEIRO, P. C. et al. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* against *Aeromonas* spp. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 2, p. 152–161, 4 mar. 2021.

MORENO, J. S. R. et al. In vitro propagation from nodal segments of *Lippia organoides* (chemotype A). **Ciência Rural**, v. 52, n. 7, p. e20210323, 2022.

MORONI, P.; AIS, J.; O'LEARY, N. Las Verbenáceas comestibles de América: Una revisión bibliográfica. **Darwiniana, nueva serie**, v. 10, n. 1, p. 307–323, 2022.

MOTA, A. P. P.; DANTAS, J. C. P.; FROTA, C. C. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, 21 jun. 2018.

MOTTI, R.; BONANOMI, G.; DE FALCO, B. Wild and cultivated plants used in traditional alcoholic beverages in Italy: an ethnobotanical review. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 4, p. 1089–1106, abr. 2022.

NANDI, A. et al. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1–19, 11 nov. 2019.

NEBEL, R. A. et al. Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. **Alzheimer's & Dementia**, v. 14, n. 9, p. 1171–1183, set. 2018.

NEGI, G. C. S. et al. Ecology and Use of *Lantana camara* in India. **The Botanical Review**, v. 85, n. 2, p. 109–130, jun. 2019.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461–477, 1 mar. 2007.

NIGON, V.; DOUGHERTY, E. C. Reproductive patterns and attempts at reciprocal crossing of *Rhabditis elegans* maupas, 1900, and *Rhabditis briggsae* Dougherty and nigon, 1949 (Nematoda: Rhabditidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 112, n. 3, p. 485–503, dez. 1949.

NONET, M. L. et al. Synaptic Transmission Deficits in *Caenorhabditis elegans* Synaptobrevin Mutants. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 70–80, 1 jan. 1998.

OH, K.; KIM, H. Aldicarb-induced Paralysis Assay to Determine Defects in Synaptic Transmission in *Caenorhabditis elegans*. **BIO-PROTOCOL**, v. 7, n. 14, 2017.

OLDFIELD, E.; LIN, F.-Y. Terpene Biosynthesis: Modularity Rules. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 5, p. 1124–1137, 27 jan. 2012.

O'LEARY, N. et al. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept: *Lippia* Section *Goniostachyum*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 170, n. 2, p. 197–219, out. 2012.

O'LEARY, N.; CARDOSO, P. H.; SCHAEFER, J. Fátima Regina G. Salimena. 2020.

OLIVEIRA, A. P. et al. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33–38, out. 2018.

OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia organoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 206–214, mar. 2014.

OLIVEIRA, M. C. et al. Influence of *Lippia thymoides* Mart. & Schauer and *Lippia origanoides* Kunth essential oils on planktonic cell and *Streptococcus mutans* biofilm growth. [s.d.].

OLIVEIRA, T. A. S. et al. Antibacterial, Antiparasitic, and Cytotoxic Activities of Chemical Characterized Essential Oil of *Chrysopogon zizanioides* Roots. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, p. 967, 5 ago. 2022.

OPPERMAN, C. H.; CHANG, S. Effects of Aldicarb and Fenamiphos on Acetylcholinesterase and Motility of *Caenorhabditis elegans*. [s.d.].

ORTEGA-CUADROS, M. et al. Essential oils biological activity of the shrub *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. Biol. Trop.**, v. 68, 2020.

OUKERROU, M. A. et al. Differential Cytotoxic Activity of Essential Oil of *Lippia citriodora* from Different Regions in Morocco. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 7, p. e1600497, jul. 2017.

PASCHALIDIS, M. et al. Trends in mortality from Alzheimer's disease in Brazil, 2000-2019. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 32, n. 2, p. e2022886, 2023.

PATEL, S. S. et al. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. **Reviews in the Neurosciences**, v. 29, n. 5, p. 491–529, 26 jul. 2018.

PAUL, D. et al. *Caenorhabditis elegans* as a possible model to screen anti-Alzheimer's therapeutics. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 106, p. 106932, nov. 2020.

PAULETTI, G. F.; SILVESTRE, W. P. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento. [s.d.].

PENHA, T. et al. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 299, p. 109584, nov. 2021.

PEREIRA, E. J. P. et al. Circadian Rhythm, and Antimicrobial and *Anticholinesterase* Activities of Essential Oils from *Vitex gardneriana*. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 5, p. 1934578X1801300, maio 2018.

PEREIRA, P. S. et al. Cytotoxicity of Essential Oil *Cordia verbenaceae* against *Leishmania brasiliensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4485, 25 jul. 2021.

PERERA, W. H. et al. In Vitro Pharmacological Screening of Essential Oils from *Baccharis parvidentata* and *Lippia origanoides* Growing in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1926, 16 mar. 2022.

PÉREZ ZAMORA, C.; TORRES, C.; NUÑEZ, M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 544, 1 mar. 2018.

PERGOLIZZI, J. V. et al. The role and mechanism of action of menthol in topical analgesic products. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 43, n. 3, p. 313–319, jun. 2018.

PHUYAL, N. et al. In Vitro Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Fruits, Seeds, and Bark of *Zanthoxylum armatum* DC. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2020, p. 1–7, 4 jun. 2020.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, jun. 2015.

PITCHAI, A. et al. Molecular interaction of human acetylcholinesterase with trans-tetraphrostachin and derivatives for Alzheimer's disease. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e04930, set. 2020.

PLANT, R. M. et al. The Essentials of Essential Oils. **Advances in Pediatrics**, v. 66, p. 111–122, ago. 2019.

PORSTEINSSON, A. P. et al. Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. **The Journal Of Prevention of Alzheimer's Disease**, p. 1–16, 2021.

POSTU, P. A. et al. Memory-Enhancing Effects of Origanum majorana Essential Oil in an Alzheimer's Amyloid beta1-42 Rat Model: A Molecular and Behavioral Study. **Antioxidants**, v. 9, n. 10, p. 919, 26 set. 2020.

PURI, A. V. DURANTA REPENS LINN. (VERBENACEAE): A COMPREHENSIVE REVIEW OF PHARMACOGNOSTIC, ETHNOMEDICINAL, PHARMACOLOGICAL, AND PHYTOCHEMICAL ASPECTS. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91, 7 nov. 2018.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, n. 2, p. 107–109, jun. 2010.

RAMSEY, J. T. et al. Essential Oils and Health. [s.d.].

REDZA-DUTORDOIR, M.; AVERILL-BATES, D. A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 12, p. 2977–2992, dez. 2016.

REIS, J. B. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342–363, 2020.

REITH, W. Neurodegenerative Erkrankungen. **Der Radiologe**, v. 58, n. 3, p. 241–258, mar. 2018.

REYES-BECERRIL, M. et al. Composition, antioxidant capacity, intestinal, and immunobiological effects of oregano (*Lippia palmeri* Watts) in goats: preliminary in vitro and in vivo studies. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 1, p. 101, mar. 2021.

RIBEIRO, A. F. et al. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia organoides* Kunth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 249–259, ago. 2014.

RIBEIRO, F. P. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the *Lippia organoides* Kunth Essential Oil from the Carajás National Forest, Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–8, 19 out. 2021.

RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, Á. et al. **Lippia spp. Essential Oil as a Control Agent against Acanthoscelides obtectus, an Insect Pest in Phaseolus vulgaris Beans.** Proceedings of The 1st International Electronic Conference on Plant Science. **Anais... Em: THE 1ST INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON PLANT SCIENCE.** Sciforum.net: MDPI, 1 dez. 2020. Disponível em: <<http://sciforum.net/conference/IECPS2020/paper/8767>>. Acesso em: 3 jul. 2023

ROSANI, D. C. D. O. A. et al. Essential oil composition, antifungal activity and leaf anatomy of *Lippia alba* (Verbenaceae) from Brazilian Chaco. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, n. 4, p. 79–88, 25 fev. 2019.

ROSEN, R. S.; YARMUSH, M. L. Current Trends in Anti-Aging Strategies. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 25, n. 1, p. 363–385, 8 jun. 2023.

RUDNICKA-DROŽAK, E. et al. Links between COVID-19 and Alzheimer's Disease—What Do We Already Know? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 2146, 25 jan. 2023.

RUSZKIEWICZ, J. A. et al. *C. elegans* as a model in developmental neurotoxicology. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 354, p. 126–135, set. 2018.

S. DE OLIVEIRA, A. et al. Investigation of Antioxidant Activity, Acute Toxicity and Anticholinesterasic Potential of *Lippia hirta* (Verbenaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 2, p. 432–448, 2019.

SAGBO, I.; MBENG, W. Are plants used in the Eastern Cape province for cosmetics fully commercialized? **Indian Journal of Pharmacology**, v. 51, n. 3, p. 140, 2019.

SAIDI, I. et al. Anti-tyrosinase, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of extracts and phytochemicals from the Tunisian *Citharexylum spinosum* L.: Molecular docking and SAR analysis. **Bioorganic Chemistry**, v. 102, p. 104093, set. 2020.

SALEHI, B. et al. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2847, 1 nov. 2018.

SALES, G. et al. Antifungal and Modulatory Activity of Lemon Balm (*Lippia alba* (MILL.) N. E. BROWN) Essential Oil. **Scientia Pharmaceutica**, v. 90, n. 2, p. 31, 11 maio 2022.

SAMBA, N. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lippia multiflora* Moldenke Essential Oil from Different Regions of Angola. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 155, 31 dez. 2020.

SANTOS, D. R. et al. Insecticidal activity of essential oils of species from the genus *Lippia* against *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v. 67, n. 2, p. 292, 30 jun. 2020.

SANTOS FILHO, L. G. A. D. et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Lippia alba* and *Lippia origanoides*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, n. 1, p. e20220359, 2023.

SATHYA, S. et al. Phytol-loaded PLGA nanoparticle as a modulator of Alzheimer's toxic A $\beta$  peptide aggregation and fibrillation associated with impaired neuronal cell function. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, p. 1–12, 25 out. 2017.

SCHELTENS, P. et al. Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 397, n. 10284, p. 1577–1590, abr. 2021.

SCHETINGER, M. R. C. et al. Combined exposure to methylmercury and manganese during L1 larval stage causes motor dysfunction, cholinergic and monoaminergic up-regulation and oxidative stress in L4 *Caenorhabditis elegans*. **Toxicology**, v. 411, p. 154–162, jan. 2019.

SCOLA, R. H.; WERNECK, L. C.; FRANCO, C. R. C. Corpos de inclusão citoplasmática: estudo em diversas doenças e revisão da literatura. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 54, n. 2, p. 245–259, jun. 1996.

SERRANO-SAIZ, E. et al. Modular Organization of *Cis* -regulatory Control Information of Neurotransmitter Pathway Genes in *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v. 215, n. 3, p. 665–681, 1 jul. 2020.

SHARIFI-RAD, M. et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review: Carvacrol and Human Health. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 9, p. 1675–1687, set. 2018.

SIEBURTH, D. et al. Systematic analysis of genes required for synapse structure and function. **Nature**, v. 436, n. 7050, p. 510–517, 28 jul. 2005.

SILVA, H. N. P. D. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia origanoides* in Tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20181059, 2019a.

SILVA, M. E. T. D. et al. Extraction, Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia origanoides* Kunth from Northeast Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210480, 2022.

SILVA, S. G. et al. Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. **PLOS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0213393, 8 mar. 2019b.

SILVA-TRUJILLO, L. et al. Essential Oils from Colombian Plants: Antiviral Potential against Dengue Virus Based on Chemical Composition, In Vitro and In Silico Analyses. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6844, 12 out. 2022.

SIMAMORA, A. et al. Antioxidant Activity, Enzyme Inhibition Potentials, and Phytochemical Profiling of *Premna serratifolia* L. Leaf Extracts. **International Journal of Food Science**, v. 2020, p. 1–11, 24 set. 2020.

SMITH, D. G.; CAPPAL, R.; BARNHAM, K. J. The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid  $\beta$  peptide. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1768, n. 8, p. 1976–1990, ago. 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002.

SOMBRA, K. E. S. et al. Selectivity of essential oils to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 53, 2022.

SOMMANO, S. R. et al. The Cannabis Terpenes. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5792, 8 dez. 2020.

SOUSA, F. D. C. A. et al. Atividade antioxidante in vitro de *Lippia organoides* H.B.K. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e2810816716, 18 jul. 2021.

SOUTO DA SILVA, N. I. et al. Effect of *Lippia alba* hay as phytogetic feed additive on the lactation performance, milk composition, and rumen and blood parameters of Alpine goats. **Small Ruminant Research**, v. 215, p. 106767, out. 2022.

SOUZA, A. V. D.; VIEIRA, M. R. D. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 22 fev. 2018.

SOUZA, J. D.; GOTTFRIED, C. Muscle injury: Review of experimental models. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 23, n. 6, p. 1253–1260, dez. 2013.

SOUZA, L. M. et al. Essential oil composition in natural population of *Lippia organoides* (Verbenaceae) during dry and rainy seasons. **Revista de Biología Tropical**, v. 67, n. 1, 31 jan. 2019.

SPYRIDOPOULOU, K. et al. Antitumor Potential of *Lippia citriodora* Essential Oil in Breast Tumor-Bearing Mice. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 875, 30 maio 2021.

SRIVASTAVA, N. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Artemisia maderaspatana* essential oil. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 11, p. 1677–1683, 2 nov. 2015.

SRIVASTAVA, S.; AHMAD, R.; KHARE, S. K. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 216, p. 113320, abr. 2021.

STARICH, T. A.; HERMAN, R. K.; SHAW, J. E. Molecular and genetic analysis of *unc-7*, a *Caenorhabditis elegans* gene required for coordinated locomotion. **Genetics**, v. 133, n. 3, p. 527–541, 1 mar. 1993.

SULSTON, J. E.; HORVITZ, H. R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. **Developmental Biology**, v. 56, n. 1, p. 110–156, mar. 1977.

TAHA, M. et al. Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent. **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 3, p. 101401, maio 2021.

TEIXEIRA, M. L. et al. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 143–153, 4 mar. 2023.

TELES, A. M. et al. Aniba rosaeodora (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 24, 30 dez. 2020.

TISSENBAUM, H. A. Using *C. elegans* for aging research. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 59, n. sup1, p. 59–63, 30 jan. 2015.

TIWARI, S. et al. Nanoencapsulated *Lippia origanoides* essential oil: physiochemical characterisation and assessment of its bio-efficacy against fungal and aflatoxin contamination as novel green preservative. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 4, p. 2216–2225, abr. 2022.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 999–1010, 31 maio 2016.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020a.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020b.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021a.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021b.

TROILO, D. et al. IMI – Report on Experimental Models of Emmetropization and Myopia. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 60, n. 3, p. M31, 28 fev. 2019.

TRUJILLO-MAYOL, I. et al. Western Dietary Pattern Antioxidant Intakes and Oxidative Stress: Importance During the SARS-CoV-2/COVID-19 Pandemic. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 670–681, maio 2021.

UDDIN, MD. S. et al. Nootropic and Anti-Alzheimer's Actions of Medicinal Plants: Molecular Insight into Therapeutic Potential to Alleviate Alzheimer's Neuropathology. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 7, p. 4925–4944, jul. 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINA GERAIS et al. Seasonal variation of essential oil of germplasm of *Lippia origanoides* Kunth. (Verbenaceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 21, n. 6, p. 716–724, 30 nov. 2022.

VAHDATI NIA, B. et al. Meta Analysis of Human AlzGene Database: Benefits and Limitations of Using *C. elegans* for the Study of Alzheimer's Disease and Co-morbid Conditions. **Frontiers in Genetics**, v. 8, p. 55, 12 maio 2017.

VAN PELT, K. M.; TRUTTMANN, M. C. *Caenorhabditis elegans* as a model system for studying aging-associated neurodegenerative diseases. **Translational Medicine of Aging**, v. 4, p. 60–72, 2020.

VASHLISHAN, A. B. et al. An RNAi Screen Identifies Genes that Regulate GABA Synapses. **Neuron**, v. 58, n. 3, p. 346–361, maio 2008.

VEGA-VELA, N. E.; DELGADO-ÁVILA, W. A.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. 2013.

VIJAYAKUMAR, S. et al. Novel ligand-based docking; molecular dynamic simulations; and absorption, distribution, metabolism, and excretion approach to analyzing potential acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 8, n. 6, p. 413–420, dez. 2018.

VILELA, D. A. D. et al. *Lippia alnifolia* essential oil induces relaxation on Guinea-pig trachea by multiple pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, p. 112162, jan. 2020.

WAGNER, L. S. et al. Insecticidal, fungicidal, phytotoxic activity and chemical composition of *Lavandula dentata* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102092, ago. 2021.

WANG, C. et al. **A neurotransmitter atlas of the nervous system of *C. elegans* males and hermaphrodites.** , 20 mar. 2024. Disponível em: <<https://elifesciences.org/reviewed-preprints/95402v1>>. Acesso em: 2 maio. 2024

WANI, A. R. et al. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, p. 104620, mar. 2021.

World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. [s.d.].

WU, Z. et al. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2 ago. 2019.

XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; SPINOSA, H. D. S. Toxicologia do praguicida aldicarb (“chumbinho”): aspectos gerais, clínicos e terapêuticos em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1206–1211, ago. 2007.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. COVID-19 and Alzheimer’s disease: how one crisis worsens the other. **Translational Neurodegeneration**, v. 10, n. 1, p. 15, dez. 2021.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. C. Extracellular vesicles, from the pathogenesis to the therapy of neurodegenerative diseases. **Translational Neurodegeneration**, v. 11, n. 1, p. 53, 12 dez. 2022.

XIE, J.; VAN HOECKE, L.; VANDENBROUCKE, R. E. The Impact of Systemic Inflammation on Alzheimer’s Disease Pathology. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 796867, 6 jan. 2022.

XU, X. et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, ago. 2021.

ZAPATA-ZAPATA, C. et al. In Vitro Activity of Essential Oils Distilled from Colombian Plants against *Candida auris* and Other *Candida* Species with Different Antifungal Susceptibility Profiles. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6837, 12 out. 2022.

ZHANG, C. et al. Oxidative stress: A common pathological state in a high-risk population for osteoporosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 163, p. 114834, jul. 2023.

ZHANG, L.; GU, B.; WANG, Y. Clove essential oil confers antioxidant activity and lifespan extension in *C. elegans* via the DAF-16/FOXO transcription factor. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 242, p. 108938, abr. 2021.

ZHANG, Y. et al. Comparative genomics and functional study of lipid metabolic genes in *Caenorhabditis elegans*. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 164, dez. 2013.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Larvicidal activity of two Algerian Verbenaceae essential oils against *Culex pipiens*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2–4, p. 370–373, set. 2011.

**CAPÍTULO 2 – *Lippia organoides* ESSENTIAL OIL INCREASES LONGEVITY AND AMELIORATES *B*-AMYLOID PEPTIDE-INDUCED TOXICITY IN *Caenorhabditis elegans*.** ((Publicado na revista Natural Product research, DOI: 10.1080/14786419.2023.2287183, Qualis Capes A3)

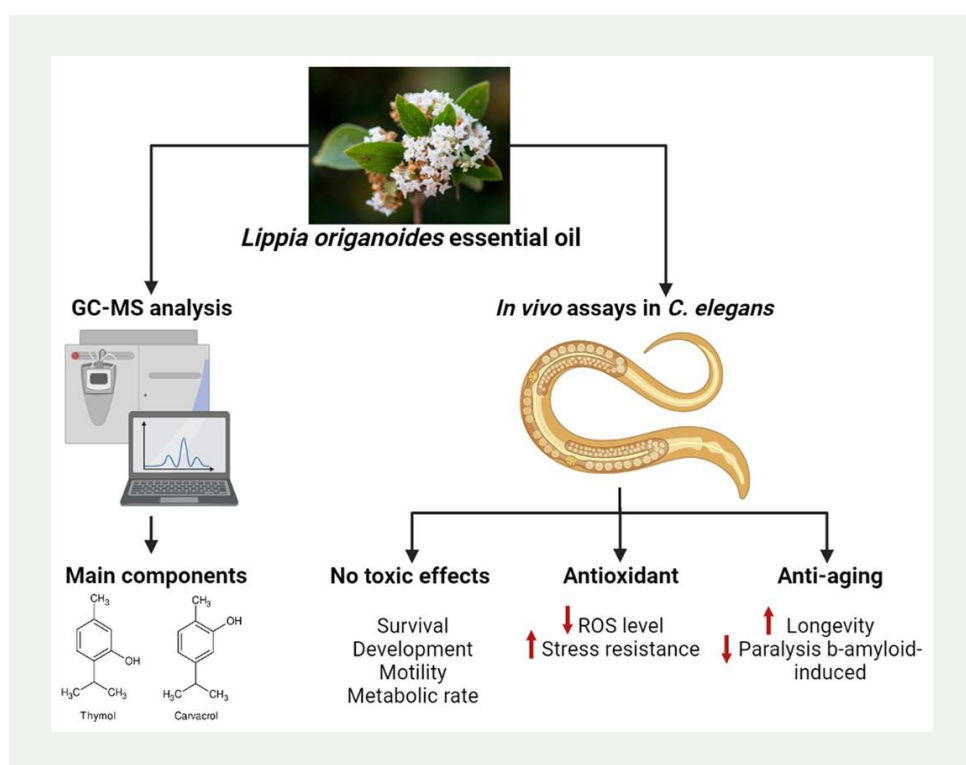
***Lippia origanoides* essential oil increases longevity and ameliorates  $\beta$ -amyloid peptide-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans***

Ana Maria Henrique Moniz<sup>a,b,c</sup>, Francisco Humberto Xavier Junior<sup>d,e</sup>, Giovanna Melo Martins Silva<sup>f</sup>, Ana Cristina Gonçalves Reis de Melo<sup>g</sup>, Maylla Maria Correia Leite Silva<sup>h</sup>, Wesley Souza Paiva<sup>h</sup>, Hugo Alexandre Oliveira Rocha<sup>h,i</sup>, Luiz Antônio Mendonça Alves da Costa<sup>a,j</sup>, Antônio Alves de Melo Filho<sup>a,j</sup> and Riva de Paula Oliveira<sup>f,k</sup>

Rede Norte de Biotecnologia (BIONORTE), Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brazil; <sup>b</sup>Secretaria Estadual de Educação e Cultura (SEED), Boa Vista, Brazil; <sup>c</sup>Departamento de Farmácia, Faculdades Cathedral, Boa Vista, Brazil; <sup>d</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil; <sup>e</sup>Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPGPNSB), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil; <sup>f</sup>Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil; <sup>g</sup>Núcleo de Pesquisa e Pós-graduação em Ciências e Tecnologia, Laboratório de Química Ambiental e Automação e Instrumentação, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brazil; <sup>h</sup>Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil; <sup>i</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil; <sup>j</sup>Departamento de química, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brazil; <sup>k</sup>Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

## ABSTRACT

*Lippia organoides* essential oil (LOEO) is extensively utilised as food preservative due to its antioxidant and antibacterial activities. In this study, the antioxidant and anti-ageing effects of LOEO was investigated *in vivo* using the nematode *Caenorhabditis elegans*. The gas chromatography-mass spectrometry analysis indicated that the main components of LOEO are carvacrol and thymol. LOEO treatment improved physiological parameters such as pharyngeal pumping, locomotion and body size indicating that is not toxic to *C. elegans*. LOEO treatment showed antioxidant effect in *C. elegans*, by reducing endogenous ROS (Reactive Oxygen Species) production and increasing their survival under oxidative stress. Finally, LOEO treatment significantly extended *C. elegans* lifespan and alleviated the paralysis induced by  $\beta$ -amyloid peptide overexpression in the muscle. This work demonstrates, for the first time, LOEO antioxidant and anti-ageing properties on an organism level providing a valuable proof of principle to support further studies in the development of nutraceuticals or antioxidant phytotherapy.



## INTRODUCTION

Essential oils are aromatic liquids extracted from different plant parts consisting of a complex mixture of volatile and non-volatile compounds such as terpenes, phenolics, alcohols, aldehydes and ketones (Aziz et al. 2018). These phytochemicals present a wide range of pharmacological properties, which have been used for therapeutic use, as well in cosmetic and food industries (Lanzerstorfer et al. 2021).

*Lippia organoides* Kunt (syn *Lippia sidoides* Cham), also known as ‘alecrim-pimenta’ or ‘salva do campo’, is an aromatic plant naturally found in North Brazil. Because of its use in popular medicine as antiseptic and analgesic (Oliveira et al. 2014), this plant has been included in the phytotherapy program implemented by the Brazilian Ministry of Health (Almeida et al. 2018). Essential oil from *L. organoides* is rich in terpenes, mainly carvacrol and thymol, which provide several biological activities such as anti-microbial (Monteiro et al. 2021), antioxidant (Sarrazin et al. 2015; Teixeira et al. 2022), anti-inflammatory (Figueiredo et al. 2014; Ruff et al. 2021), and larvicidal (Braga de Oliveira et al. 2021; Tiwari et al. 2022). Because of their antimicrobial and antioxidant activities, these components have been proposed as natural preservatives for a wide variety of food products, and embryo preservation (Hernandes et al. 2017; Pandey et al. 2017; Sollecito et al. 2019; Kachur and Suntres 2020; Al-Maqtari et al. 2022). However, to the best of our knowledge, the *in vivo* antioxidant effect of *L. organoides* essential oil (LOEO) treatment has not yet been properly explored.

The free-living nematode *Caenorhabditis elegans* has been widely used in many research areas such as developmental biology, ageing, neurobiology, and toxicology (Leung et al. 2008; Ma et al. 2018). Its numerous advantageous traits include small body size, short life cycle, fast reproduction, and easy and inexpensive maintenance. Most importantly, many cellular and molecular processes in *C. elegans* are conserved given the high degree homology with human genome (Kaletta and Hengartner 2006). Studies based on *C. elegans* treated with essential oils or its isolated components have shown to be very promising for toxicological, anti-ageing and neurodegenerative diseases research (Chen et al. 2020; Lanzerstorfer et al. 2021; Zhang et al. 2021; Fuentes et al. 2022). In this study, we used *C. elegans* as an *in vivo* model to evaluate the antioxidant and anti-ageing capacity of LOEO. Moreover, we explored LOEO capacity to ameliorate the toxicity induced by  $\beta$ -amyloid peptide by using a transgenic *C. elegans* model for Alzheimer Disease (AD). Our results demonstrated that LOEO treatment reduces ROS production, extends the lifespan and delays A $\beta$ -mediated paralysis.

## 1. METHODOLOGY AND METHODS

### 1.1 *Strains, chemicals and reagents*

The *Caenorhabditis elegans* strains used were: N2 (wild-type strain), CL2006 (dvIs2[pCL12(unc-54/human Abeta peptide 1-42 minigene) + pRF4]), which were obtained in the *Caenorhabditis Genetics Center* (CGC), University of Minnesota, EUA (<http://www.cbs.umn.edu/CGC>).

Tert-butyl hydroperoxide (t-BOOH), fluorodeoxyuridine (FUdR), 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCFDA), thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT), dimethylsulfoxide, ammonium molybdate, ascorbic acid, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, hydrogen peroxide, nitro blue tetrazolium (NBT), riboflavin, sodium acetate and sodium phosphate were obtained from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). Penicillin and streptomycin were acquired from Gibco by Life Technologies (Saint Aubin, France). Acetonitrile, iron (II) sulfate and potassium (III) ferricyanide and sulfuric acid were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Other reagents used in this study were analytical grade.

### 1.2 *Plant material and essential oil extraction*

Fresh leaves of *Lippia organoides* Kunt were collected in the flowering period between 8:00 and 9:00 hours ( $\pm 30$  min), rainy season, georeferenced for phenological analysis in the locality 3° 00'46.2" N, 60° 8'02.41" W, in PA nova Amazônia, municipality of Boa Vista – RR, extreme north of Brazil. Exemplary vouchers were sent to the UFRR Herbarium and deposited under the reference number 9440. The essential oil of the *Lippia organoides* Kunt plant was obtained by hydrodistillation using a Clevenger apparatus with a spell double condenser for an uninterrupted period of two hours of distillation. Five hundred grams of fresh and well-preserved leaves were washed and placed in a 12 L flask with 6 L of distilled water. The flask was placed on a heating mantle for 2 h at 100 °C. Posteriorly, the essential oil extracted was dried with sodium sulphate, filtered through 0.22  $\mu$ m cellulose membrane (Merck Millipore, Billerica, MA, USA), and stored in a borosilicate glass vial at -20 °C until further use (Xavier et al., 2017).

### 1.3 *GC-FID e GC-MS analysis*

The identification of *Lippia organoides* essential oils (LOEO) compounds was

performed using Shimadzu gas chromatograph GC-2010 coupled to a mass spectrometer QP2010 Plus and equipped with a flame ionization detector, RTX-5MS fused silica capillary column (30 m X 0.25 mm X 0.25  $\mu$ m). The operating conditions were as follows: injector at 220 °C, interface at 280 °C, and column programmed to operate at 60 °C, with temperature rise at a rate of 3 °C/min, up to 280 °C. Helium was used as a carrier gas, maintained at a constant flow of 1.02 mL/min. The acquisition of mass spectra was performed in the range of 40-600 daltons by the electron impact ionization method, with ionization energy of 70 eV and ion source at 260 °C.

The concentration of the LOEO constituents was determined using Shimadzu gas chromatograph GC-2010, equipped with a flame ionization detector, RTX-5MS fused silica capillary column (30 m X 0.25 mm X 0.25  $\mu$ m). The operating conditions were as follows: injector at 220 °C, column programmed to operate at 60 °C, with temperature rise at a rate of 3 °C/min, up to 280 °C. Hydrogen was used as a carrier gas, and hydrogen, nitrogen and synthetic air were used to fuel the flame. The analyzes were performed in triplicate and the quantitative data was obtained by electronic integration of the peak area in relation to the total area of the chromatogram, which resulted in the concentration (%) of each phytoconstituent present in the LOEO. The compounds identified in the essential oil of *L. origanoides* were compared with the mass spectra from the Wiley 8 and FFNSC digital libraries databases and data published in the literature (Adams, 2007).

#### ***1.4 Quantification of total phenolic compounds***

The total polyphenol content of LOEO was determined spectrophotometrically with Follin-Ciocalteu reagent, as previously described (Athukorala et al., 2006). The Folin Ciocalteu reagent is reduced by phenolic compounds present in the samples. Briefly, 1 mL of LOEO was mixed with 1 mL of 95% ethanol, 5 mL of distilled water, and 0.5 mL of 50% Folin-Ciocalteu reagent. The LOEO assay was carried out at room temperature, protected from light. After 5 min, 1 mL of 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added and the reading was performed in a spectrophotometer at a wavelength of 765 nm. The total phenolic compounds were calculated using a linear regression equation obtained from the standard plot of gallic.

#### **1.5 Antioxidant activity assays**

##### **1.5.1 Total antioxidant capacity (TAC) assay**

TAC was evaluated by the phosphate-molybdate complex reduction method. One ml solution containing 0.1 mg/mL LOEO, 4 mM ammonium molybdate, 28 mM sodium phosphate, and 0.6 M sulfuric acid were added into a tube, stirred, and incubated at 100 °C for 90 min. The tubes were cooled and were read at 695 nm wavelength. The standard used was ascorbic acid and the TAC values were expressed as ascorbic acid equivalents (AAE/g).

### **1.5.2 DPPH Radical scavenging assay**

The capacity of LOEO scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals was determined according to Brand-Williams (Brand-Williams et al., 1995). Briefly, DPPH solution was prepared in methanol and subsequently added to various concentrations of LOEO (0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/mL) diluted in 0.1% DMSO. After 30 min, at room temperature, absorbances were measured at 517 nm. Butylated hydroxytoluene (BHT) was used as a positive control and tested at the same concentrations used for LOEO. At 1 mg/ml, 100% of DPPH scavenging was obtained. Results were expressed as a percentage of radical scavenging according to the equation: DPPH radical scavenging (%) =  $[1 - (As/A0)] \times 100$ , where As = absorbance of the sample and A0 = absorbance of the control.

### **1.5.3 Reducing power assay**

Samples containing different concentrations of LOEO (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, and 1.0 mg/mL) diluted in 0.1% DMSO were mixed with 200 mM sodium phosphate buffer solution (pH 6.6) containing potency ferricyanide (10 mg/mL) and incubated at 50 °C for 20 min. Then, 10% (w/v) trichloroacetic acid and 0.1% (w/v) iron III were added to the solution to stop the reaction. The mixture was stirred, and the absorbance at 700 nm was measured using a microplate reader. Ascorbic acid was used as a positive control and tested from 0.0001 to 1.0 mg/mL, with a 100% reduction observed at the concentration of 0.5 mg/mL.

## **1.6 Bacterial Growth Assay**

*E. coli* OP50 growth in the presence of LOEO (0.1, 0.25, 0.5, and 1.0 mg/mL) or 0.1% DMSO was evaluated over 5 h, as described previously (Boasquivis et al., 2018). The optical density (OD) of the control group at time zero was initially assigned a value of 1 and subsequently employed for normalizing all other OD readings. Bacterial growth was measured in three individual experiments.

## 1.7 Cytotoxicity assay

Cell viability was determined by the colorimetric method of MTT a-crystal formazan reduction using 3T3 fibroblast cells. Cells were grown in culture flasks in DMEM medium with 10% (v/v) fetal bovine serum, 100 µg/mL streptomycin and 100 IU/mL penicillin. Cells were grown in sterile 96-well plates at a density of  $5 \times 10^3$  cells/well and incubated for 24 h at 37 °C and 5% CO<sub>2</sub>. After this time, the medium was changed to serum-free DMEM so that all cells synchronized in G0 (cells active, but not dividing). The cells remained in this condition for 24 h. Subsequently, the medium was removed, and medium plus fetal serum (10%) containing the samples at different concentrations of LOEO (0.1; 0.25; 0.5, and 1.0 mg/mL) diluted in 0.1% DMSO were added. The control groups consisted of cells treated with 0.1% DMSO (DMSO) and cells without DMSO (NT). After 24 hours of incubation, the cells were washed with PBS. Serum-free culture medium containing 12 mM MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) was added and the cells incubated for 4 h at 37 °C and 5% CO<sub>2</sub>. Finally, to solubilize the reduced MTT product, 100 µL of ethyl alcohol was added to each well. After 15 minutes of alcohol addition, the absorbance at 570 nm was read using a microplate reader (Thermo Labsystems, Franklin, MA, USA).

## 1.8 *C. elegans* maintenance and treatment

Animals were cultured on Nematode Growth Medium (NGM) plates seeded with *Escherichia coli* OP50 at 20 °C as described by Brenner (Brenner, 1974). The experiments conducted with dead bacteria, *E. coli* OP50 was previously incubated at 65 °C for 1 hour before seeding on NGM. All assays were performed with hermaphrodite animals and for each experiment the nematodes were aged- synchronized by alkaline lysis. Alkaline lysis consists of treating adult hermaphrodite worms with a lysis solution (10 M NaOH solution, 2% sodium hypochlorite) for 5 minutes. The eggs, resistant to this process, are centrifuged and resuspended in M9 liquid medium (20 mM M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 40 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 850 mM NaCl and 1 mM MgSO<sub>4</sub>) and kept under agitation in an overnight homogenizer, in the absence of food. This allows the eggs to hatch, but in the absence of food the larvae remain in their first evolutionary stage, L1. LOEO was diluted in 0.1% DMSO and then added to NGM plates at a final concentration of 0.1, 0.25, 0.5 or 1.0 mg/mL. For all assays, the control groups consisted of animals treated with 0.1% DMSO (DMSO) and animals without

DMSO (NT). The experiments were always performed in technical and/or biological triplicate, blindly.

### **1.9 Toxicity assays in *C. elegans***

Synchronized wild-type L1 larvae were treated with LOEO for 48 h until the L4 stage and then toxicity to LOEO exposure was assessed by measuring lethality, growth, pharyngeal pumping, and swimming (Paiva et al., 2015). For lethality, 30 animals per group after treatment were transferred to new plates without treatment. Survival was scored after 24, 48 and 72 h. Dead animals were removed from the plates to avoid confusion during the subsequent counts. Data were presented as the percentage of live worms in the population. All analyzes were performed in triplicate (independent). For growth, 30 worms from each group after treatment were photographed using the AmScope MU300 Digital Camera connected to an optical microscope (Axio Imager Z2, Zeiss, NY, USA). Body area and length was determined by using the ImageJ software and three independent experiments were conducted. The average pharyngeal pumping rate was calculated by three 20-second intervals. Ten worms were measured per group and three independent experiments were conducted. For swimming, the average number of body bends was scored over three 20-second intervals. Ten worms were measured per group and three independent experiments were conducted.

### **1.10 Quantification of Intracellular Reactive Oxygen Species (ROS)**

ROS levels were measured using H<sub>2</sub>DCF-DA as described previously with some modifications (Shi et al., 2012). Approximately 1000 synchronized wild-type L1 larvae were cultured for 48 hours on NGM plates supplemented with LOEO until the L4 stage. The worms were washed with M9 to remove bacteria and then sonicated to a final volume of 800  $\mu$ l. Then, the mixture was centrifuged for 30 min. at 13,200 rpm at 4 °C, the precipitate was discarded and the supernatant was stored for further analysis. Two  $\mu$ l of the supernatant was used for protein quantification using NanoVue Plus (Biochrom US, (Massachusetts, USA)). Twenty-five  $\mu$ g of protein were then incubated with 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>DCF-DA on M9 at 37 °C for 1 hour. Fluorescence intensity was measured with a GloMax®-Multi Detection System microplate reader fluorimeter (Promega, Wisconsin, USA), at excitation wavelength 490 nm

and emission at 510-570 nm. Fluorescence levels were measured every 30 minutes for 2 hours. Data from the 90-minute reading were used for analysis. Fluorescence intensity was normalized by subtracting background fluorescence from H<sub>2</sub>DCF-DA solution in M9 at 1 hour. The experiment was carried out in three independent experiments.

### **1.11 Oxidative stress resistance assay**

Synchronized wild-type L1 larvae were treated with LOEO for 48 h until the L4 stage. Thirty animals were transferred to regular NGM plates containing 12 ug/mL FUDR, to prevent progeny growth, and 10 mM t-BOOH (Paulo et al., 2022). The survival fractions were scored after 24 hours. The assay was conducted with five wells per group, each containing approximately ten worms.

### **1.12 Longevity assay**

Synchronized wild-type L1 larvae were treated with LOEO for 48 h until the L4 stage and then transferred to new regular NGM plates containing FUDR to prevent progeny growth. A total of 90 animals were analyzed across three technical and biological replicates for each treatment group. The worms were scored daily and considered as dead when no pumping or pharyngeal movement was observed when stimulated with a gentle touch of the platinum wire. Dead worms that exhibited internally born progeny, extruded gonads, or desiccation caused by crawling out of the agar were classified as censored and excluded from the assay (Wilson et al., 2006). The experiment was carried out in three independent experiments.

### **1.13 $\beta$ -amyloid-induced paralysis assay**

Synchronized CL2006 L1 larvae expressing human A $\beta$ 1-42 in muscle tissue (Link, 1995) were treated with LOEO for 48h until the L4 stage and then transferred to new regular NGM plates at 35 °C to accelerate the paralysis process. Analyzes were performed by scoring paralyzed animals every 1 hour until all animals were all animals stopped moving. Worms were classified as paralyzed when they had no body movement, but still maintained the pharyngeal pumping.

## 2 Statistical Analysis

Statistical analysis was performed by Graph Pad Prism (v 6.0) software (California, USA). Student's *t*-test and one-way ANOVA were used for comparison between pairs of groups, one-way ANOVA followed by Tukey's posttest was also utilized to compare three or more groups, for normally distributed data. Survival curves were analyzed by the log-rank Mantel-Cox test. For all tests, statistical significance was considered as  $p < 0.05$ .

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Chemical analysis of *Lippia origanoides* essential oil (LOEO)

The substances present in the essential oil we extracted are monoterpene (46%), sesquiterpene (8%), and aromatic hydrocarbons (4%). The remaining substances are oxygenated hydrocarbons (21%) and oxygenated aromatic (21%). Twenty-four main substances were identified being carvacrol (22.64%), thymol (16.77%), and para-cymene (14.85%) the most abundant compounds (supplemental Table S1, Figure S1).

**Table S1: Volatile constituents identified in *L. origanoides* essential oil (LOEO)**

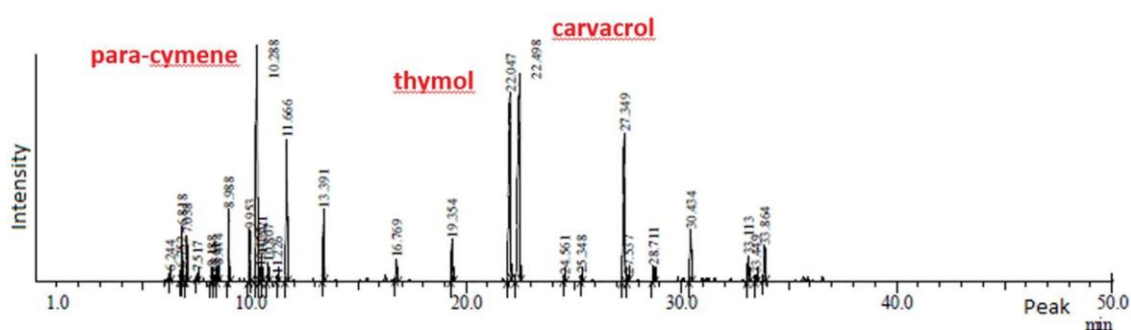
Constituents	kII <sup>a</sup>	kIc <sup>b</sup>	RT <sup>c</sup>	%
alpha-tujene	930	938	6.82	1.96
alpha-pinene	939	943	7.04	1.73
camphene	954	955	7.52	0.19
sabinene	975	975	8.36	0.28
beta-pinene	979	978	8.46	0.60
myrcene	990	990	8.99	2.94
alpha-terpinene	1017	1013	9.95	2.25
sylvestrene	1030	1025	10.43	0.64
(Z)-beta-ocimene	1037	103	10.81	0.79
(E)-beta-ocimene	1050	1044	11.22	0.23
gamma-terpinene	1060	1054	11.89	2.10
para-cymene	1024	1022	10.29	14.85
1,8-cineole	1031	1027	10.52	1.16
linalool	1096	1097	13.63	3.41
terpinen-1-ol	1177	1173	16.77	1.12
thymol methyl ether	1235	1231	19.35	2.2
thymol	1290	1292	22.05	16.77

carvacrol	1299	1302	22.50	22.64
thymol acetate	1352	1350	24.56	0.28
carvacrol acetate	1372	1369	25.35	0.33
(E)-caryophyllene	1419	1416	27.35	9.86
alpha-humulene	1454	1449	28.71	0.83
(E)-nerolidol	1563	1560	33.11	1.38
Caryophyllene oxide	1583	1579	33.87	1.89
others				4.8

<sup>a</sup> Kovats index literature

<sup>b</sup> Kovats Index calculated

<sup>c</sup> Retention time



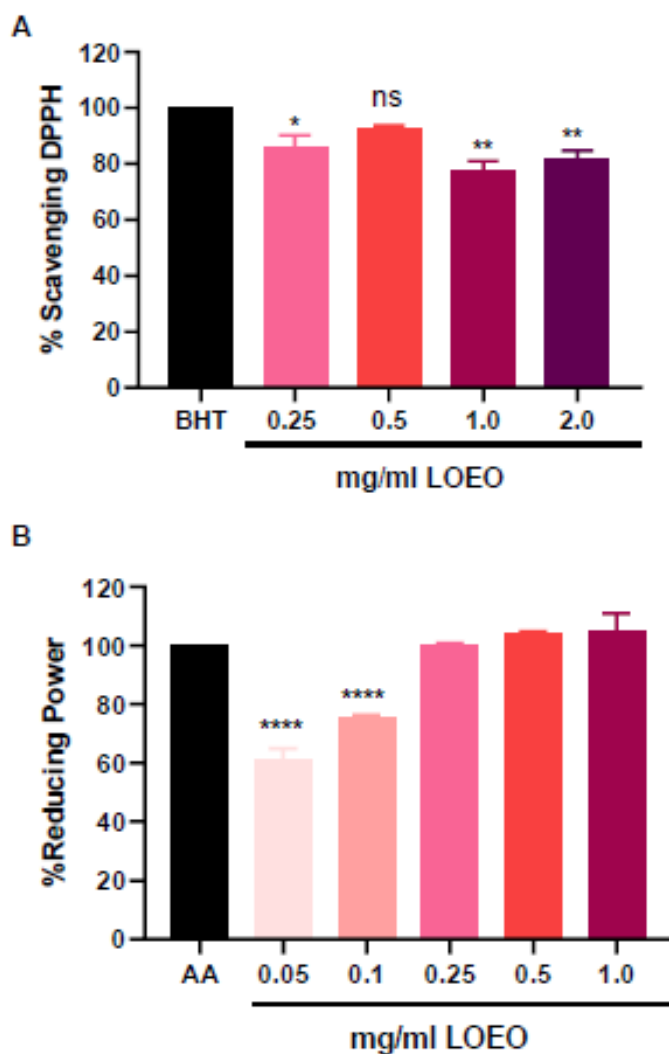
**Figure S1 – Chromatogram of essential oil from *Lippia organoides***

Based on their principal component, *L. organoides* is classified into at least five chemotypes (A, B, C, D, and E) (Stashenko et al. 2010; Ribeiro et al. 2014; Moreno et al. 2022). The chemical characterization of our LOEO indicates that is a chemotype B (carvacrol + thymol + p-cymene). Notably, the percentage of carvacrol in the LOEO we obtained is lower compared to others, LOEO is also classified as chemotype B. For example, the presence of carvacrol varied from 23% to 47% in their oils (Brito et al. 2018; Ribeiro et al. 2021). This result endorses that, in addition to the variation in the composition of the LOEO, there is also modification in the quantity of each compound present.

### 3.2 Antioxidant and antibacterial activities of LOEO

Next, we evaluated the LOEO *in vitro* antioxidant capacity using three different assays. Each gram of LOEO had an activity in the TAC test equivalent to that of 510.64 mg AAE/mL. For all concentrations tested, LOEO showed a radical scavenging potential superior of 80% with no statistical difference between the different concentrations tested ( $p = 0.754$ ; supplemental Figure S2A). For the reducing power test, LOEO exhibited a dose-dependent effect

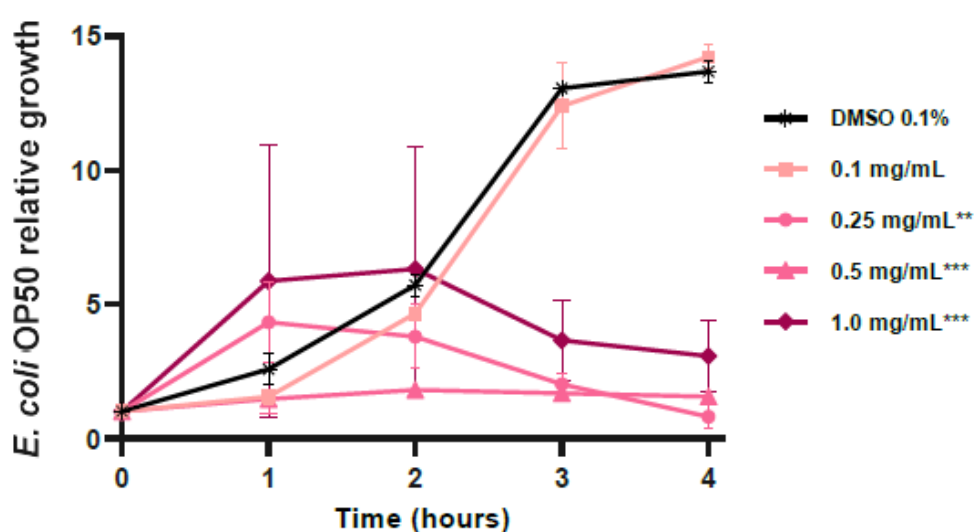
from 0.05 to 1 mg/mL ( $p < 0.0001$ ). LOEO showed an activity of 60% at 0.05 mg/mL, 75% at 0.1 mg/mL, 100% at 0.25 mg/mL, 104% at 0.5 mg/mL, and reached 109% at 1 mg/mL (supplemental Figure S2B). These results indicate that LOEO exhibited strong antioxidant capacity *in vitro* similar to other LOEO chemotypes B (Teles et al. 2014; Sarrazin et al. 2015; Damasceno et al. 2019; Teixeira et al. 2022).



**Figure S2 – LOEO *in vitro* antioxidant activity.**

Antioxidant activity was measured by DPPH assay (A) and reducing power (B). Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. A) Butylated hydroxytoluene (BHT) at 1 mg/ml was used as a control, corresponding to 100% DPPH scavenging. \* $p = 0.022$ , \*\* $p < 0.0042$  and \*\*\*\* $p < 0.0001$  compared to BHT by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. There is no statistical difference among different LOEO concentrations tested in terms of DPPH scavenging activity. B) Ascorbic acid (AA) at 0.5 mg/ml was used as a control, corresponding to 100% reduction. \*\*\*\* $p < 0.0001$  compared to AA by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test.

Since carvacrol and thymol are isomers having well documented antibacterial activity, we tested whether LOEO we produced would inhibit bacterial growth. We monitored the growth of *E. coli* OP50 over 5 h in the presence of LOEO (supplemental Figure S3). Except for the lower concentration tested (0.1 mg/mL), our LOEO was able to inhibit bacterial growth of *E. coli* OP50. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol involves the disruption of the outer membrane of gram-negative bacteria, release of lipopolysaccharides and subsequent increase of cell membrane permeability (Kachur and Suntres 2020).



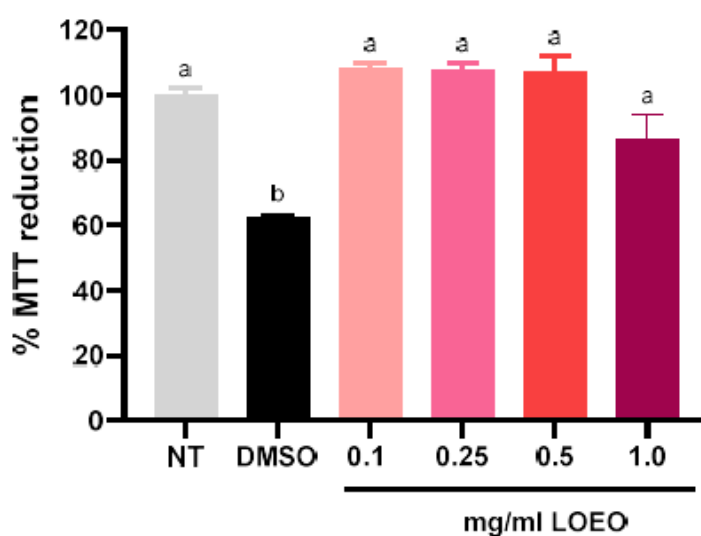
**Figure S3 – Effect of LOEO on *E. coli* growth**

*E. coli* OP50 growth was evaluated over 5 h in the presence of different LOEO concentrations. The optical density (OD) of the control group, at time zero, was initially assigned a value of 1 and subsequently employed for normalizing all other OD readings. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\* $p = 0.0024$  and \*\*\* $p \leq 0.0005$  compared to DMSO control by Two-Way-ANOVA.

### 3.3 Evaluation of cytotoxic effect of LOEO in 3T3 cells

Despite LOEO being considered safe as a food additive, evaluation of its toxicity is extremely important in face of its increasing use in different pharmacological applications and drug development. Cytotoxicity studies on LOEO are rare in the literature, and the few available are discordant. Previous studies have shown that LOEO is cytotoxic to different mammalian cells with C50 values  $< 100 \mu\text{g/mL}$  (Guimarães et al. 2021; Perera et al. 2022), while others did not observe any cytotoxic effect (Borges et al. 2012; Teixeira et al. 2022). These differences could be attributed to the LOEO's chemical composition and therefore the importance of cytotoxicity evaluation.

Here, we evaluated whether our LOEO has a cytotoxic effect on 3T3 fibroblast cells (supplemental Figure S4). Our results indicated that the LOEO had no toxic impact on 3T3 cells' viability at concentration up to 1 mg/mL. However, the percentage of viable cells treated with 0.1% DMSO was significantly reduced. Even DMSO has been reported to be cytotoxic at certain concentrations, and this effect varies between cell types, this result was unexpected for this concentration. Even with these results, we considered our LOEO not cytotoxic.



**Figure S4 – Effect of LOEO on cell viability**

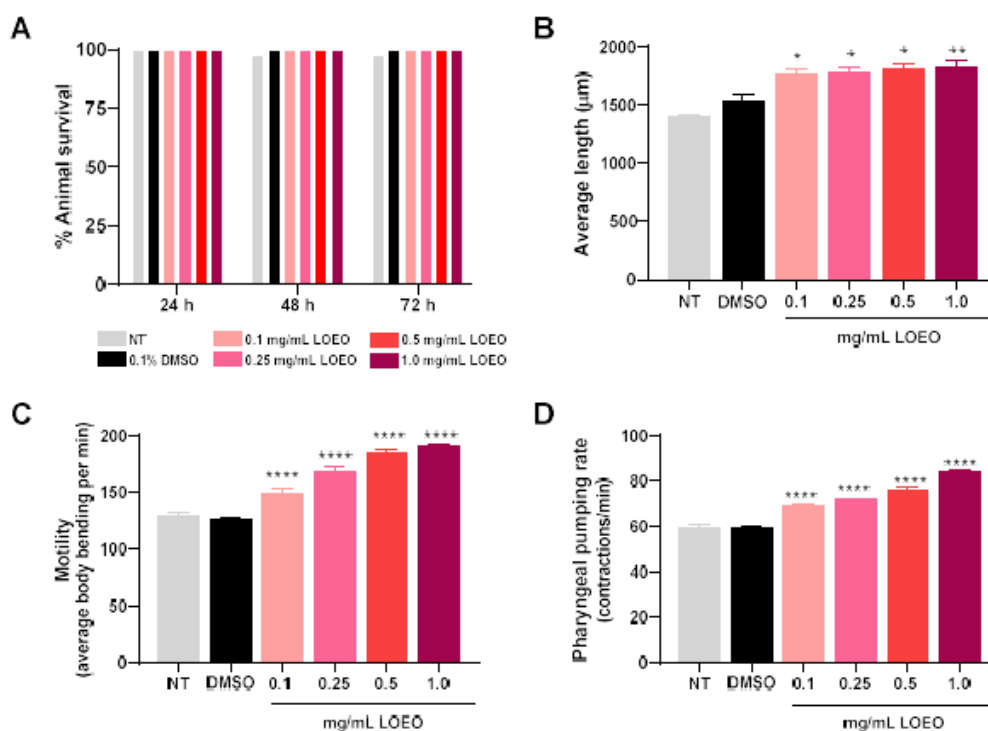
3T3 cells were cultured in the presence of different concentrations of LOEO for 24 h. The effect of LOEO on cell viability was measured by their capacity to reduce MTT. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. Data were analyzed using ordinary One-Way-ANOVA followed by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Different letters (a and b) correspond to significant differences in the statistical analysis. NT, control group of cells not treated with DMSO.

### 3.4 Evaluation of toxicological effects of LOEO in *C. elegans*

Toxicity assays based on *C. elegans* are considered as an intermediate approach between cell culture and mammalian testing (Lanzerstorfer et al. 2021). Here, we evaluated the toxicological properties of LOEO exposure on *C. elegans* survival, growth, movement, and pharyngeal pumping.

Exposure to LOEO for 72 h did not affect nematode survival. No significant differences were observed between the survival rates of the control and treated worms at any

of the tested concentrations (supplemental Figure S5A). Exposure to LOEO resulted in a significant increase in all these three parameters. Compared to 0.1% DMSO control, body size increased 14.9%, 15.4%, 17.4% and 19.0% for 0.1, 0.25, 0.5 and 1 mg/mL LOEO treatment respectively (supplemental Figure S5B). Worms treated with 0.1, 0.25, 0.5 and 1 mg/mL LOEO exhibited a locomotion dose-dependent response at 149.1, 168.6, 185.6, 190.6 bends per minute compared to DMSO-treated group 126.0 bends per minute (supplemental Figure S5C). Pharyngeal pumping also showed dose-dependent response to LOEO treatment (supplemental Figure S5D). The rate was 68.83, 71.89, 76.11, 83.91 contractions per minutes for 0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 mg/ mL LOEO treatment respectively compared to the DMSO-treated group 59.27 contractions per minute. Taken together, our results indicate that LOEO was not toxic since it did not affect the nematode's survival. Instead, the body size, motility, and pharyngeal pumping rate of the worms treated with LOEO were significantly increased compared to control. Similarly, Fuentes et al. (Fuentes et al. 2022) observed that carvacrol and thymol administered in sublethal doses improved *C. elegans* motility and oxidative stress resistance. A possible explanation for the improvement on these endpoint assays is related to LOEO antibacterial effect. Even though bacteria are a food source, it may cause pathogenic infection influencing longevity and other physiological traits in *C. elegans* (Kim 2013). For instance, cultivation of *C. elegans* on heat-killed *E. coli* OP50 or on *E. coli* OP50 that has been previously treated with antibiotics to inhibit bacterial proliferation results in an extension of life span compared to propagation on standard live *E. coli* OP50. Therefore, we believe that the improvement of toxicity endpoints in *C. elegans* is due to the attenuation of bacterial pathogenicity and toxicity induced by LOEO.



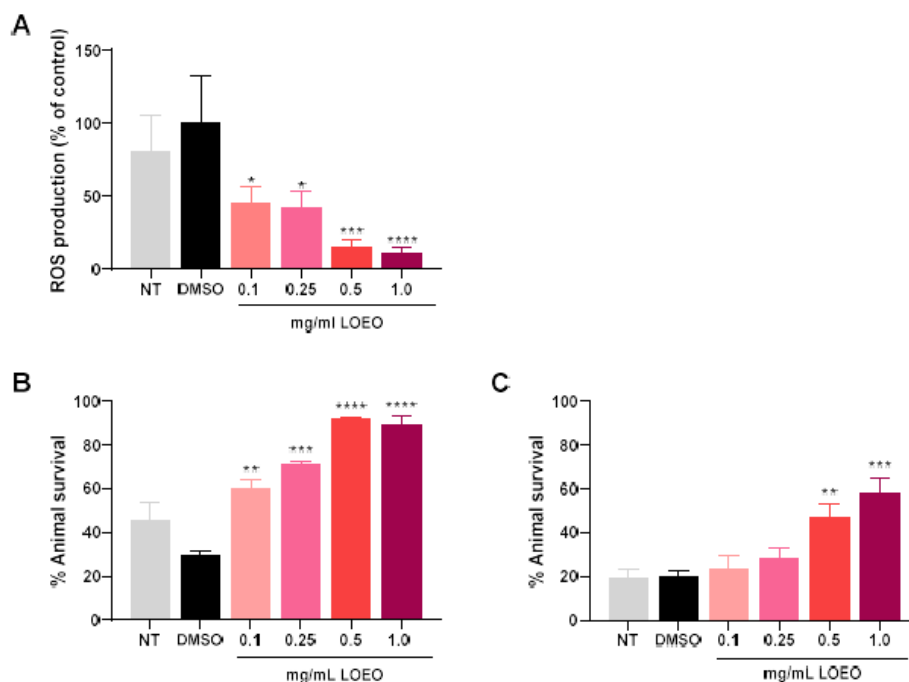
**Figure S5 – Effect of LOEO treatment on *C. elegans* toxicological parameters.**

Wild-type animals were treated with LOEO for 48 h and then toxicity was assessed by measuring lethality (A), body length (B), motility (C) and pharyngeal pumping (D). **A)** Survival animals were scored after 24, 48 and 72 h. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. There is no statistical difference among different LOEO concentrations tested compared to NT and DMSO controls. **B)** Worms were photographed to measure body length using the Image J software. Three independent experiments were conducted and expressed as mean  $\pm$  SEM. \* $p < 0.04$  and \*\* $p = 0.0056$  compared to DMSO 0.1% control by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. **C)** The number of body bends was scored over three 20-second intervals and then calculated as the average number of body bends per minute. Three independent experiments were conducted and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*\*\* $p < 0.0001$  compared to DMSO 0.1% control by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. **D)** The pharyngeal pumping rate was calculated by three 20-second intervals and then calculated as the rate per minute. Three independent experiments were conducted and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*\*\* $p < 0.0001$  compared to DMSO 0.1% control by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. NT, control group of animals not treated with DMSO.

### 3.5 LOEO treatment reduces ROS production and increases stress resistance independently to its antibacterial effect

To determine the antioxidant potential of LOEO *in vivo*, we evaluated the endogenous ROS production and stress resistance in the nematode *C. elegans*. ROS production was significantly reduced in the nematodes treated with LOEO (supplemental Figure S6A). LOEO treatment at any concentration tested also increased the nematode's survival under oxidative stress conditions (supplemental Figure S6B). Since LOEO has an antibacterial activity (Ribeiro et al. 2021) and

cultivation of *C. elegans* on *E. coli* OP50 treated with antibiotics results in extended life span and stress resistance (Garigan et al. 2002; Khan et al. 2018; Schumacker et al. 2019), we investigated whether the protective effect of LOEO was a consequence of bacterial growth inhibition. We repeated the oxidative stress resistance assay using heat-killed bacteria and observed that the wild-type animals treated with 0.1 and 0.25 mg/mL LOEO no longer showed increased survival under stress conditions (supplemental Figure S6C). However, 0.5 and 1.0 mg/mL LOEO treatment still increased the worm's survival, indicating that the LOEO antimicrobial propriety is not the only factor affecting oxidative stress resistance in these animals (supplemental Figure S5C). Worth mentioning, the mean survival variation observed for the LOEO-treated animals on heat-killed bacteria was substantially lower compared to the, respectively, LOEO-treated animals on live bacteria. The mean survival variation was 47% and 91% for the animals treated with 0.5 mg/mL LOEO on live and heat-killed bacteria, respectively. Likewise, the mean survival variation was 58% and 89% for the animals treated with 1.0 mg/mL LOEO on live and heat-killed bacteria, respectively. These findings strongly support that in *C. elegans*, LOEO treatment with the highest concentrations provides an antioxidant effect for itself independently of its antimicrobial effect.



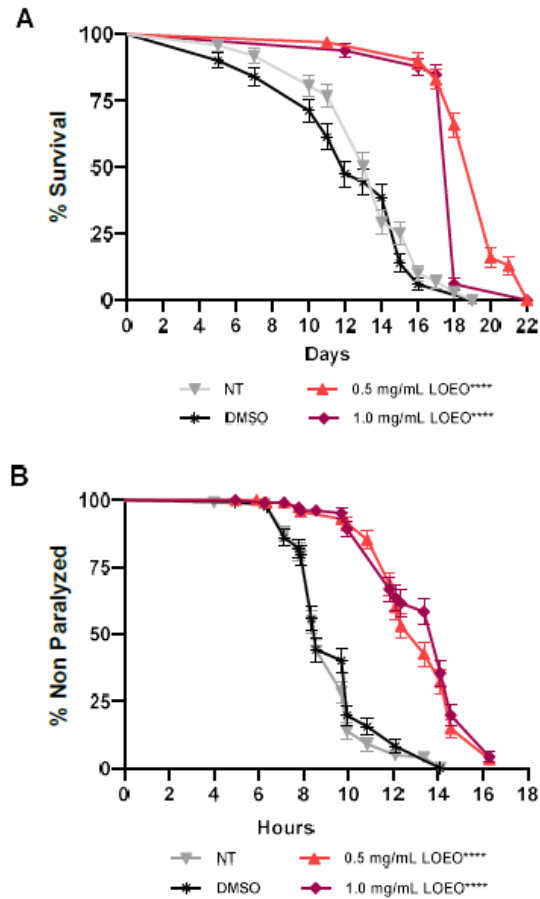
**Figure S6 – Effect of LOEO on Reactive Oxygen Species (ROS) production and oxidative stress resistance of *C. elegans*.**

A) ROS quantification. Wild-type animals were treated with LOEO for 48 h and the production of ROS was measured using the H<sub>2</sub>DCF-DA probe. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.015$ . \*\*\*  $p = 0.0001$  and \*\*\*\*  $p < 0.0001$

compared to DMSO 0.1% control by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. Stress resistance assay on live (**B**) and heat-killed bacteria (**C**). Wild-type animals were treated with LOEO for 48 h and transferred to NGM supplemented with 10 mM t-BOOH to induce oxidative stress conditions. Animal survival was scored after 24 h. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*  $p \leq 0.0060$ , \*\*\*  $p = 0.0002$  and \*\*\*\*  $p < 0.0001$  compared to DMSO 0.1% control by One-Way-ANOVA followed by Tukey's test. NT, control group of animals not treated with DMSO.

### 3.6 LOEO treatment increases longevity and delays $\beta$ -amyloid-induced paralysis in *C. elegans*

To further explore LOEO antioxidant properties *in vivo*, we tested whether 0.5 and 1.0 mg/mL LOEO treatment would affect *C. elegans* longevity under standard laboratory conditions. The lifespan of wild-type worms treated with LOEO was significantly increased compared to control worms (supplemental Figure S7A; Table S2). The mean lifespan of worms treated with 0.1% DMSO was  $13.54 \pm 0.17$  days, while for the worms treated with 0.5 and 1.0 mg/mL LOEO the mean lifespan was  $19.07 \pm 0.12$  and  $18.47 \pm 0.12$  days, which represents a 41% and 36% increase, respectively (supplemental Table S2). Considering that aging plays an important role in late-onset neurodegeneration (Dillin and Cohen 2011) and that ROS accumulation is accelerated in transgenics worms expressing constitutive A $\beta$ 1-42 peptide compared to wild-type animals (Link 1995; Smith and Luo 2003), we investigated whether LOEO treatment would be effective in protecting *C. elegans* against A $\beta$ -induced paralysis. Our results show that the onset of A $\beta$ -induced paralysis was significantly delayed with LOEO treatment compared to the 0.1% DMSO (supplemental Figure S7B; Table S2). The mean paralysis time for worms treated with 0.5 and 1.0 mg/mL LOEO was increased by 39% and 43%, respectively (supplemental Table S2). This result could be associated with the presence of carvacrol and thymol in LOEO. Azizi et al. (Azizi et al. 2022) observed that thymol and carvacrol improve cognitive abilities in AD rat models *via* activation of Protein Kinase C and antioxidant pathways. Thus, we could suggest that our LOEO, which is rich in carvacrol and thymol, exerts its protection against A $\beta$ -induced paralysis partly by reducing the level of ROS *in vivo*. Possibly other mechanisms could be also involved in the attenuation of A $\beta$ 1-42 paralysis such as autophagy and proteostasis (Ga et al. 2018; Chen et al. 2020) which it would be very interesting to further explore.



**Figure S7 – LOEO treatment increases longevity and delays amyloid-induced paralysis in *C. elegans*.**

**A)** Longevity assay. Wild-type animals were treated with LOEO for 48 h and transferred to NGM containing FUDR. Animal survival was scored daily. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  compared to DMSO control determined by the Log Rank test (Mantel-Cox). **B)**  $\beta$ -amyloid-induced paralysis assay. CL2006 strain was treated with LOEO for 48 h and then transferred to 35°C. Paralyzed animals were scored every hour. Assays were performed in triplicate and expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  compared to DMSO 0.1% control determined by the Log Rank test (Mantel-Cox). NT, control group of animals not treated with DMSO.

**Table S2. Effect of LOEO on *C. elegans* lifespan and  $\beta$ -amyloid-induced paralysis**

Condition	Mean survival time	% Mean survival time variation vs. DMSO	P value (log rank) <sup>a</sup> LOEO vs. DMSO	N <sup>b</sup>
<b>Lifespan assay<sup>c</sup></b>				
NT	14.20 ± 0.14	4.87		358(3)
DMSO	13.54 ± 0.17	-		360(3)
0.1 mg/mL LOEO	16.97 ± 0.16	25.33	< 0.0001	357(3)
0.25 mg/mL LOEO	18.06 ± 0.15	33.33	< 0.0001	361(3)
0.5 mg/mL LOEO	19.07 ± 0.12	40.84	< 0.0001	362(3)
1.0 mg/mL LOEO	18.47 ± 0.12	36.41	< 0.0001	363(3)
<b><math>\beta</math>-amyloid paralysis assay<sup>d</sup></b>				
NT	9.13 ± 0.15	-2.46		129(3)
DMSO	9.36 ± 0.18	-		122(3)
0.1 mg/mL LOEO	10.89 ± 0.25	16.34	< 0.0001	94(3)
0.25 mg/mL LOEO	12.38 ± 0.19	32.29	< 0.0001	135(3)
0.5 mg/mL LOEO	13.07 ± 0.20	39.64	< 0.0001	109(3)
1.0 mg/mL LOEO	13.40 ± 0.22	43.23	< 0.0001	95(3)

<sup>a</sup> Comparisons were performed using log-rank (Mantel-Cox) test.

<sup>b</sup> Total number of animals analyzed. The number in parentheses indicates the number of independent trials

<sup>c</sup> Mean survival time expressed in days ± SEM

<sup>d</sup> Mean survival time expressed in hours ± SEM

## 4 CONCLUSIONS

Taken together, our work demonstrates that LOEO is not toxic and possesses *in vivo* antioxidant and anti-aging activities in the *C. elegans* model. Furthermore, LOEO showed a protective effect against abnormal protein aggregation and provided a valuable contribution to support further studies for mammals and humans. According to the results presented, we can suggest that LOEO may become a potent pharmacological agent against dementia, promoting antioxidant action, consequently, improving the life and health of *C. elegans*.

### Acknowledgments

We would like to thank Dr. Regildo Max Gomes Martins, Dr. Caio Rodrigo Dias de Assis (in memoria) for the technical support, and Dra. Amelia Tuller, for the taxonomic identification of *L. origanoides*. We also would like to thank the Faculdade Cathedral, located in Boa Vista, RR and Secretaria de educação do Estado de Roraima, for had given permission to carry out this work.

### Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

### Funding

This study was supported by Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

### ORCID

Ana Maria Henrique Moniz – <http://orcid.org/0000-0003-2711-9485>,

Francisco Humberto Xavier Junior - <http://orcid.org/0000-0001-8238-3380>,

Giovanna Martins Melo - <http://orcid.org/0000-0002-4584-6961>,

Ana Cristina Gonçalves Reis de Melo - <http://orcid.org/0000-0002-9251-2059>,

Maylla Maria Correia Leite Silva - <http://orcid.org/0000-0001-6189-1490>,

Wesley Souza Paiva - <http://orcid.org/0000-0002-2022-5659>,

Hugo Alexandre Oliveira Rocha - <http://orcid.org/0000-0003-2252-1221>,

Luiz Antônio Mendonça Alves da Costa - <http://orcid.org/0000-0003-2674-8634>,

Antônio Alves de Melo Filho - <http://orcid.org/0000-0003-1050-1397>,

Riva de Paula Oliveira - <http://orcid.org/0000-0002-6092-6142>.

## REFERENCES

- Adams RP. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
- Al-Maqtari QA, Rehman A, Mahdi AA, Al-Ansi W, Wei M, Yanyu Z, Phyto HM, Galeboe O, Yao W. 2022. Application of essential oils as preservatives in food systems: challenges and future prospectives - a review. *Phytochem Rev.* 21(4):1209–1246. doi:10.1007/s11101-021-09776-y.
- Almeida RR, Damasceno ETS, de Carvalho SYB, de Carvalho GSG, Gontijo LAP, Guimaraes LGD. 2018. Chitosan nanogels condensed to ferulic acid for the essential oil of *Lippia organoides* Kunth encapsulation. *Carbohydr Polym.* 188:268–275. doi:10.1016/j.carbpol.2018.01.103.
- Aziz ZAA, Ahmad A, Setapar SHM, Karakucuk A, Azim MM, Lokhat D, Rafatullah M, Ganash M, Kamal MA, Ashraf GM. 2018. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - a review. *Curr Drug Metab.* 19(13):1100–1110. doi:10.2174/1389200219666180723144850.
- Azizi Z, Chooapani S, Salimi M, Majlessi N, Naghdi N. 2022. Protein kinase C involvement in neuroprotective effects of thymol and carvacrol against toxicity induced by amyloid-beta in rat hippocampal neurons. *Basic Clin Neurosci.* 13(3):295–304. doi:10.32598/bcn.2021.666.2.
- Borges AR, Aires JRD, Higino TMM, de Medeiros MDF, Cito A, Lopes JAD, de Figueiredo R. 2012. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. *Exp Parasitol.* 132(2):123–128. doi:10.1016/j.exppara.2012.06.003.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. USE OF A FREE-RADICAL METHOD TO EVALUATE ANTIOXIDANT ACTIVITY. *Food Sci Technol-Lebensmittel-Wiss Technol.* 28(1):25–30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Brenner S. 1974. GENETICS OF CAENORHABDITIS-ELEGANS. *Genetics.* 77(1):71–94. doi:10.1093/genetics/77.1.71.
- Brito FN, Vendramin FS, Lopes CTD, Costa MPR, Ohashi OM, Maia JGS, Ferreira LM, Silva JKDRD, Miranda MD. 2018. Proliferation of human adipose tissue-derived stem cells stimulated by oil rich in thymol of *Lippia organoides*. *Acta Cir Bras.* 33(5):431–438. doi:10.1590/s0102-865020180050000005.
- Chen XY, Liao DC, Sun ML, Cui XH, Wang HB. 2020. Essential oil of *Acorus tatarinowii* Schott ameliorates a beta-induced toxicity in caenorhabditis elegans through an autophagy pathway. *Oxid Med Cell Longevity.* 2020:3515609. doi:10.1155/2020/3515609.
- Damasceno E, Almeida R, Carvalho S, Vieira S, Mano V, Guimarães L. 2019. Nano-encapsulation of lippia organoides kunth. Essential oil by chitosan-caffeic acid nanogel. *Quím Nova.* 43(1):16–23. doi:10.21577/0100-4042.20170450.
- Braga de Oliveira MI, Rodrigues Brandão F, Rocha da Silva MJ, Carvalho Rosa M, Santana Farias CF, Silva dos Santos D, Majolo C, Oliveira MRD, Chaves FCM, Bizzo HR, et al. 2021. In vitro anthelmintic efficacy of essential oils in the control of *Neoechinorhynchus buttnerae*, an endoparasite of *Collossoma macropomum*. *J Essent Oil Res.* 33(5):509–522. doi:10.1080/10412905.2021.1921065.
- Dillin A, Cohen E. 2011. Ageing and protein aggregation-mediated disorders: from invertebrates to mammals. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci.* 366(1561):94–98. doi:10.1098/rstb.2010.0271.
- Figueiredo GM, Guilhon CC, Leitao SG, Oliveira DR, Chaves FCM, Fernandes PD. 2014. Anti-inflammatory effect of *Lippia organoides*. *Planta Med.* 80(16):1499–1499.

- doi:10.1055/ s-0034-1394929.
- Fuentes C, Verdu S, Fuentes A, Ruiz MJ, Barat JM. 2022. In vivo toxicity assessment of eugenol and vanillin-functionalised silica particles using *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 238: article 113601. doi:10.1016/j.ecoenv.2022.113601.
- Ga L, Cookson MR, Petrucelli L, La Spade AR. 2018. Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. *Nat Neurosci*. 21(10):1300–1309. doi:10.1038/s41593-018-0237-7.
- Garigan D, Hsu AL, Fraser AG, Kamath RS, Ahringer J, Kenyon C. 2002. Genetic analysis of tissue aging in *Caenorhabditis elegans*: a role for heat-shock factor and bacterial proliferation. *Genetics*. 161(3):1101–1112. doi:10.1093/genetics/161.3.1101.
- Guimarães LHDS, Chemelo GP, Alves ACBA, Pinheiro JDJV, Kataoka MSDS, Silva SG, Santana de Oliveira M, Helena de Aguiar Andrade E, Ribeiro AF, Menezes TODA 2021. Chemical composition and cytotoxicity evaluation of lippia organoides kunth (verbenaceae) leaves essential oil on human gingival fibroblasts. *J Essent Oil Bearing Plants*. 24(4):704–713. doi:10.1080/09 72060X.2021.1967788.
- Hernandes C, Pina ES, Taleb-Contini SH, Bertoni BW, Cestari IM, Espanha LG, Varanda EA, Camilo KF, Martinez EZ, França SC, et al. 2017. Lippia organoides essential oil: an efficient and safe alternative to preserve food, cosmetic and pharmaceutical products. *J Appl Microbiol*. 122(4):900–910. doi:10.1111/jam.13398.
- Kachur K, Suntres Z. 2020. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 60(18):3042–3053. doi:10.1080/10408398.2019.1675585.
- Kaletta T, Hengartner MO. 2006. Finding function in novel targets: c-elegans as a model organism. *Nat Rev Drug Discov*. 5(5):387–398. doi:10.1038/nrd2031.
- Khan F, Jain S, Oloketuyi SF. 2018. Bacteria and bacterial products: foe and friends to *Caenorhabditis elegans*. *Microbiol Res*. 215:102–113. doi:10.1016/j.micres.2018.06.012.
- Kim DH. 2013. Bacteria and the aging and longevity of *Caenorhabditis elegans*. *Annu Rev Genet*. 47:233–46. doi:10.1146/annurev-genet-111212-133352. PMID: 24274752.
- Lanzerstorfer P, Sandner G, Pitsch J, Mascher B, Aumiller T, Weghuber J. 2021. Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative in vitro and in vivo systems. *Arch Toxicol*. 95(2):673–691. doi:10.1007/s00204-020-02945-6.
- Leung MCK, Williams PL, Benedetto A, Au C, Helmcke KJ, Aschner M, Meyer JN. 2008. *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicol Sci*. 106(1):5–28. doi:10.1093/toxsci/kfn121.
- Link CD. 1995. Expression of human beta-amyloid peptide in transgenic caenorhabditis-elegans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 92(20):9368–9372. doi:10.1073/pnas.92.20.9368.
- Ma L, Zhao YD, Chen YC, Cheng B, Peng AL, Huang K. 2018. *Caenorhabditis elegans* as a model system for target identification and drug screening against neurodegenerative diseases. *Eur J Pharmacol*. 819:169–180. doi:10.1016/j.ejphar.2017.11.051.
- Monteiro PC, Majolo C, Chaves FCM, Bizzo HR, Almeida O'Sullivan FL, Chagas EC. 2021. Antimicrobial activity of essential oils from Lippia sidoides, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* against *Aeromonas* spp. *J Essent Oil Res*. 33(2):152–161. doi:10.1080/10412905.202 0.1848653.
- Moreno JSR, Porras SAV, Escobar RH, Stashenko EE, Lorenzo JLF, Gutierrez LNG. 2022. In vitro propagation from nodal segments of Lippia organoides (chemotype A). *Cienc Rural*. 52(7): article e20210323. doi:10.1590/0103-8478cr20210323.
- Oliveira DR, Leitao GG, Fernandes PD, Leitao SG. 2014. Ethnopharmacological studies of Lippia organoides. *Rev Bras Farmac-Braz J Pharm*. 24(2):206–214.

- doi:10.1016/j.bjp.2014.03.001.
- Paiva FA, Bonomo LD, Boasquivis PF, de Paula I, Guerra JFD, Leal WM, Silva ME, Pedrosa ML, Oliveira RD. 2015. Carqueja (*Baccharis trimera*) protects against oxidative stress and beta-amyloid-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Oxid Med Cell Longevity*. 2015:740162. doi:10.1155/2015/740162.
- Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. 2017. Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. *Front Microbiol*. 7:2161. doi:10.3389/fmicb.2016.02161.
- Paulo IRF, Caland RBD, Cadavid COM, Melo GM, Bezerra LSD, Pons E, Peña L, Oliveira RD. 2022. Beta-carotene genetically-enriched lyophilized orange juice increases antioxidant capacity and reduces beta-amyloid proteotoxicity and fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*. *Food Chem Mol Sci*. 5:100141. doi:10.1016/j.fochms.2022.100141.
- Perera WH, Scherbakov AM, Buravchenko GI, Mikhaevich EI, Leitao SG, Cos P, Shchekotikhin AE, Monzote L, Setzer WN. 2022. In vitro pharmacological screening of essential oils from *Baccharis parvidentata* and *Lippia organoides* growing in Brazil. *Molecules*. 27(6):1926. doi:10.3390/molecules27061926.
- Ribeiro AF, Andrade EHA, Salimena FRG, Maia JGS. 2014. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia organoides* Kunth. *Biochem Syst Ecol*. 55:249–259. doi:10.1016/j.bse.2014.03.014.
- Ribeiro FP, de Oliveira MS, Feitosa AD, Marinho PSB, Marinho AMD, Andrade EHD, Ribeiro AF. 2021. Chemical composition and antibacterial activity of the lippia organoides kunth essential oil from the Carajás National Forest, Brazil. *Evid-Based Complement Altern Med*. 2021:9930336. doi:10.1155/2021/9930336.
- Ruff J, Tellez G, Forga AJ, Senas-Cuesta R, Vuong CN, Greene ES, Hernandez-Velasco X, Uribe ÁJ, Martínez BC, Angel-Isaza JA, et al. 2021. Evaluation of three formulations of essential oils in broiler chickens under cyclic heat stress. *Animals*. 11(4):1084. doi:10.3390/ani11041084.
- Sarrazin SLF, da Silva LA, de Assuncao APF, Oliveira RB, Calao VYP, da Silva R, Stashenko EE, Maia JG, Mourao RHV. 2015. Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-chemotype oil from lippia organoides kunth. *Molecules*. 20(2):1860–1871. doi:10.3390/molecules20021860.
- Sarrazin SLF, da Silva LA, Oliveira RB, Raposo JDA, da Silva JKR, Salimena FRG, Maia JGS, Mourão RHV. 2015. Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia organoides* Kunth. *Lipids Health Dis*. 14(1):145. doi:10.1186/s12944-015-0146-7.
- Schumacker ST, Chidester CAM, Enke RA, Marcello MR. 2019. RNA sequencing dataset characterizing transcriptomic responses to dietary changes in *Caenorhabditis elegans*. *Data Brief*. 25:104006. doi:10.1016/j.dib.2019.104006.
- Shi YC, Yu CW, Liao VHC, Pan TM. 2012. Monascus-fermented dioscorea enhances oxidative stress resistance via DAF-16/FOXO in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*. 7(6):e39515. doi:10.1371/journal.pone.0039515.
- Smith JV, Luo Y. 2003. Elevation of oxidative free radicals in Alzheimer's disease models can be attenuated by Ginkgo biloba extract EGb 761. *J Alzheimer Dis*. 5(4):287–300. doi:10.3233/jad-2003-5404.
- Sollecito NV, Pereira ECM, Grázia JGV, Neves BP, Couto BVR, Andrade VB, Miranda MS, Silva JKR, Borges AM. 2019. Antioxidant activity of oily extract obtained from *Lippia organoides* improves the quality of bovine embryos produced in vitro. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 71(3):723–731. doi:10.1590/1678-4162-10323.

- Stashenko EE, Martinez JR, Ruiz CA, Arias G, Duran C, Salgar W, Cala M. 2010. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. *J Sep Sci*. 33(1):93–103. doi:10.1002/jssc.200900452.
- Teixeira ML, Cardoso MdG, Ferreira VRF, Campolina GA, Caetano ARS, Oliveira CD, Alves MVP, Nelson DL. 2022. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. *J Essent Oil Res*. 35(2):143–153. doi:10.1080/10412905.2022.2115570.
- Teles S, Pereira JA, de Oliveira LM, Malheiro R, Lucchese AM, Silva F. 2014. *Lippia origanoides* HBK essential oil production, composition, and antioxidant activity under organic and mineral fertilization: effect of harvest moment. *Ind Crops Prod*. 60:217–225. doi:10.1016/j.ind-crop.2014.06.008.
- Tiwari S, Upadhyay N, Singh BK, Dubey NK, Dwivedy AK, Singh VK. 2022. Nanoencapsulated *Lippia origanoides* essential oil: physiochemical characterisation and assessment of its bio-efficacy against fungal and aflatoxin contamination as novel green preservative. *Int J of Food Sci Tech*. 57(4):2216–2225. doi:10.1111/ijfs.15639.
- Wilson MA, Shukitt-Hale B, Kalt W, Ingram DK, Joseph JA, Wolkow CA. 2006. Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*. 5(1):59–68. doi:10.1111/j.1474-9726.2006.00192.x.
- Xavier FH, Maciuk A, Morais ARD, Alencar ED, Garcia VL, do Egito EST, Vauthier C. 2017. Development of a gas chromatography method for the analysis of copaiba oil. *J Chromatogr Sci*. 55(10):969–978. doi:10.1093/chromsci/bmx065.
- Zhang LF, Gu B, Wang Y. 2021. Clove essential oil confers antioxidant activity and lifespan extension in *C. elegans* via the DAF-16/FOXO transcription factor. *Compar Biochem Physiol C-Toxicol Pharmacol*. 242:108938. doi:10.1016/j.cbpc.2020.108938.

**Capitulo 3 - O ÓLEO ESSENCIAL DA *Lippia origanoides* INIBE A ENZIMA  
ACETILCOLINESTERASE NO *Caenorhabditis elegans* . (Não publicado)**

O óleo essencial da *Lippia origanoides* inibe a enzima acetilcolinesterase no *Caenorhabditis elegans*

Ana Maria Henrique Moniz<sup>a,b,c</sup>, Riva de Paula Oliveira<sup>b,d</sup>, Wesley Souza Paiva<sup>e</sup>, Francisco Humberto Xavier Junior<sup>c,f</sup> Antônio Alves de Melo Filho<sup>\*a,g,h</sup>

[a] Msc. A.M.H. Moniz, Dr. A.A.M. Filho

Biodiversity and Biotechnology of the Legal Amazon, PPG Bionorte, Federal University of Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brazil.

[b] Msc. A.M.H. Moniz, PhD R.P. Oliveira

Department of Biochemistry, Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brazil.

[c] Msc. A.M.H. Moniz, PhD F.H.X. Junior

Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

[d] PhD R.P. Oliveira

Northeast Biotechnology Network (RENORBIO), Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brazil

[e] Dr. W.S.Paiva

Post-Graduate Program in Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil.

[f] PhD F.H.X. Junior

Postgraduate Program in Natural and Synthetic Bioactive Products (PPGPNSB), Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

[g] Dr. A.A.M.Filho

Environmental Chemistry Laboratory, Center for Research and Graduate Studies in Science and Technology, Federal University of Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brazil.

[\*h] Dr. A.A.M.Filho

Post-Graduate in Biotechnology and Biodiversity of Amazon, Environmental Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Center for Research and Graduate Studies in Science and Technology, Federal University of Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brazil.

URL: [www.ufrr.br](http://www.ufrr.br)

\*Corresponding author:

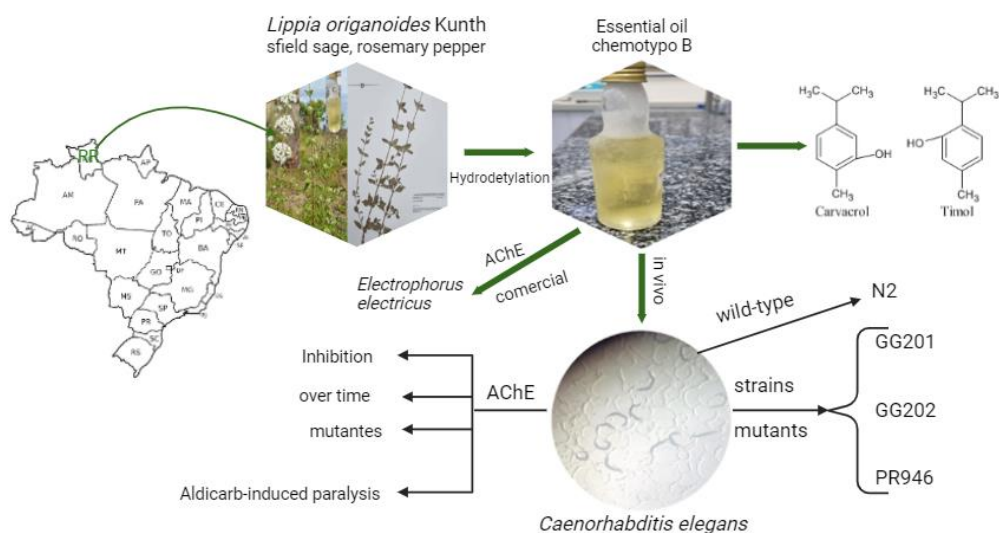
Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho, Federal University of Roraima, Boa Vista, RR,

Brazil. Email: [antonio.alves@ufrr.br](mailto:antonio.alves@ufrr.br)

## RESUMO

*Lippia origanoides* Kunth (*L. origanoides*) é utilizada há décadas para fins culinários e medicinais, na região amazônica. O objetivo dessa pesquisa foi explorar os benefícios do óleo essencial das folhas da espécie *L. origanoides* (EOLO) relacionados ao potencial de inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE). O *Caenorhabditis elegans* foi utilizado como modelo vivo para avaliar a inibição da AChE pelo EOLO, verificar qual o menor tempo em que pudesse verificar a inibição da AChE, bem como investigar o comportamento do animal, exposto ao EOLO e comparar com a paralisia induzida pelo Aldicarbee, sabe-se que o Aldicarbee é um inibidor da AChE. Para investigar a inibição da AChE de forma a excluir outras vias de paralisia no nematóide, utilizou-se mutantes deficientes em AChE classe A e B em *C. elegans*. As análises aqui desenvolvidas indicam que o EOLO apresenta propriedades neuroprotetora promissora nos diferentes modelos testados. Assim, esses resultados podem acrescentar informações que apoiam a possibilidade de utilização dessa planta como coadjuvante no tratamento da Doença do Alzheimer.

**Palavras-chave:** • ace-1 • ace-2 • COVID-19 • Alzheimer • Aldicarbee



## 1. INTRODUÇÃO

*Lippia origanoides* Kunt (syn *Lippia sidoides* Cham), também conhecida como ‘alecrim-pimenta’ ou ‘salva do campo’, é uma planta aromática medicinal, com diferentes aplicações, como aromatizantes e inibidor de apetite, encontrada naturalmente nos campos de lavrados de Roraima, extremo Norte do Brasil. Devido ao seu uso na medicina popular como chás e infusões no tratamento de doenças gastrointestinais, respiratórias, cólicas infantis, diarreia, flatulência, inflamação uterina, febre e no tratamento da tosse (DE ALMEIDA et al., 2018; MILLIKEN, 2021; MONIZ et al., 2023), além de antisséptico e analgésico (OLIVEIRA et al., 2014). Esta planta foi incluída no programa de fitoterapia implementado pelo Ministério da Saúde do Brasil (ALMEIDA et al., 2018a; FERRAZ et al., 2023). O óleo essencial de *L. origanoides* (EOLO) é rico em terpenos, principalmente carvacrol e timol, que apresentam atividades antibacteriana, antifúngica, sedativa e antioxidante, *in vitro* (MONIZ et al., 2023), bem como atividade antioxidante, longevidade e melhora da toxicidade induzida pelo peptídeo  $\beta$ -amiloide no modelo vivo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (HENRIQUE MONIZ et al., 2023).

Envelhecer é um processo natural e ocorre em todos os seres vivos (KUNUGI; MOHAMMED ALI, 2019). Algumas projeções para 2050 indicam o aumento da população de idosos >65 anos podendo chegar a dois bilhões de habitantes no planeta. Aliado a esses fatores, surgem as doença relacionadas ao envelhecimento, como a demência e a doença Alzheimer (DA), sendo que a demência entre os idosos, representa cerca de 70% de todos os casos. É uma das doenças mais letais e onerosas do século XXI (GOMIDE et al., 2022; SCHELTENS et al., 2021; XIE; VAN HOECKE; VANDENBROUCKE, 2022). Na pandemia da COVID-19, a DA alcançou a sétima posição no ranking das dez principais causas de morte, com 1,6 milhões de mortes em todo o mundo, sendo a maioria mulheres com aproximadamente 65% do número total de morte por demência (CHEN et al., 2022; HARDAN et al., 2021; LI et al., 2023; PASCHALIDIS et al., 2023; RUDNICKA-DROŽAK et al., 2023; XIA; WANG; ZHENG, 2021). A DA é uma patologia neurodegenerativa que causa a degeneração das células do cérebro, caracterizada por por um declínio do pensamento e comprometimento cognitivo, funcional progressivo, perda de memória e da independência nas atividades pessoais diárias (ASHRAFIAN; ZADEH; KHAN, 2021; EISENMENGER et al., 2023; KNOPMAN et al., 2021; PORSTEINSSON et al., 2021; SCHELTENS et al., 2021). A degeneração do sistema colinérgico no cérebro de pacientes com a DA (HAMPEL et al.,

2018) leva a destruição de neurônios colinérgicos de forma irreversível (AGGARWAL; MIELKE, 2023; CHEN et al., 2020a; MACHADO et al., 2021).

No entanto, mesmo com o crescimento alarmante da população idosa com demência e Alzheimer no mundo, nenhuma nova terapia foi aprovada na última década (CUMMINGS; TONG; BALLARD, 2019; GREGORY et al., 2021; SATHYA et al., 2017). O tratamento atual para a DA, continua sendo a administração da memantina, para tratar os sintomas da DA, moderada a severa, primeiro fármaco aprovado pela aprovadas pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA (BHATT; PULI; PATIL, 2021; FALCO et al., 2015) e os fármacos que atuam no sistema colinérgico rivastigmina, tacrina, donepezil e galantamina, inibidores da AChE de forma a aumentar a disponibilidade de acetilcolina nas sinapses cerebrais, medida para reduzir a velocidade de progressão da doença (BREIJYEH; KARAMAN, 2020).

O nematóide de vida livre *C. elegans* tem sido amplamente utilizado em muitas áreas de pesquisa, como biologia do desenvolvimento, envelhecimento, neurobiologia e toxicologia (LEUNG et al., 2008; LIANG; MCKINNON; RANKIN, 2020; MA et al., 2022). Suas inúmeras características vantajosas incluem tamanho corporal pequeno, ciclo de vida curto, reprodução rápida e manutenção fácil e barata. Mais importante ainda, muitos processos celulares e moleculares em *C. elegans* são conservados devido ao alto grau de homologia com o genoma humano (KALETTA; HENGARTNER, 2006). Estudos baseados em *C. elegans* tratados com óleos essenciais ou seus componentes isolados têm se mostrado muito promissores para pesquisas toxicológicas, antienvhecimento e de doenças neurodegenerativas (FUENTES et al., 2022; LANZERSTORFER et al., 2021; VAN PELT; TRUTTMANN, 2020; ZHANG; GU; WANG, 2021). Dessa forma, o objetivo desse estudo é investigar o potencial inibitório do EOLO frente a enzima acetilcolinesterase (AChE) utilizando o modelo vivo *Caenorhabditis elegans*, uma vez que a hipótese colinérgica, continua a sendo a principal via de tratamento para a DA. Além disso, explorar um possível mecanismo de ação utilizando modelo mutantes de *C. elegans* deficientes em AChE. Nossos resultados demonstraram que o tratamento com EOLO não paralisou os nos mutantes utilizados, nessa pesquisa.

O *C. elegans* é um nematoide, mantido com baixo custo e manuseado de forma simples, usando técnicas *in vitro* padrão. O *C. elegans* possui inúmeras vantagens sobre a cultura de células, e tem-se firmado como excelente modelo de toxicidade, por fornecer resultados de um animal como um todo, uma vez que possui sistemas reprodutivo, endócrino, sensorial, digestivo, neuromuscular intactos e metabolicamente ativo, além de possuir uma boa

correlação com a classificação LD50 oral em roedores. Assim, este nematodo se estabelece como uma ponte entre ensaios *in vitro* e testes de toxicidade em mamíferos (HUNT, 2017).

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Ensaios de inibição *E. electricus* (comercial)

A enzima AChE de *E. electricus* (Sigma-Aldrich. St. Louis) foi exposta ao óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth, incubando 10 µL da AChE comercial (concentração de 250 µg.mL<sup>-1</sup>) com 10 µL de óleo essencial (concentrações variando de 9,6x10<sup>-6</sup> a 9,6x10<sup>-1</sup> mg.mL<sup>-1</sup> do EOLO (diluição seriada), por uma hora, em temperatura ambiente. Após a incubação, 200 µL de DTNB foram adicionados a cada micropoço, a reação foi iniciada pela adição de 20 µL do substrato (acetiltiocolina 62 mM). A atividade enzimática foi determinada pela leitura do aumento da absorbância a 405 nm durante 180 s usando um espectrofotômetro de microplacas xMark™ da Bio-Rad (Hercules, CA, EUA) . A concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática - IC<sub>50</sub> - foi estimada para cada concentração usando o MicroCal™ Origin® versão 8.0 e pelo software Graph Pad Prism (v 6.0) .

### 2.2 Manutenção e tratamento de *Caenorhabditis elegans*

O nematódeo N2 (Bristol) de *C. elegans* foi utilizado como cepa de referência. As cepas mutantes utilizadas neste trabalho incluíram: GG201 [(*ace-2(g72)* I; *ace-1(p1000)* X)], GG202 [(*ace-2(g72)* I)] e PR946 [*unc-3(p1001)* *ace-1(p1000)* X]. Os animais foram cultivados em placas de Meio de Crescimento de Nematóides (NGM) semeadas com *Escherichia coli* (*E. coli*) a 20 °C conforme descrito por Brenner (Brenner, 1974). Para os experimentos conduzidos com bactérias mortas a *E. coli* (OP50), foram previamente incubados a 65 °C, por 1 hora antes da semeadura em NGM. Todos os ensaios foram realizados com animais hermafroditas e para cada experimento os nematóides foram cultivados por 72 h, até atingirem o estágio adulto grávido. A sincronização foi realizada por lise alcalina (solução de NaOH 10 M, hipoclorito de sódio a 2% por aproximadamente 10 minutos). Os ovos, resistentes a esse processo, foram centrifugados e ressuspensos em meio líquido M9 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 40 mM, NaCl 850 mM e MgSO<sub>4</sub> 1 mM) e mantidos sob agitação em homogeneizador durante a noite, na ausência de alimento. Esse processo, permite que os ovos eclodam na ausência de alimento mas, as larvas permaneçam em seu primeiro estágio evolutivo, L1 (sincronizados). O EOLO foi diluído em DMSO-0,1% e depois adicionado às placas com NGM nas concentrações de trabalho que foram de 0,005, 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg/mL. Para todos os ensaios, os grupos controle consistiram de animais

tratados com DMSO-0,1% (DMSO) e animais sem DMSO (NT). Os experimentos foram sempre realizados em triplicata técnica e/ou biológica, às cegas.

### 2.3 Inibição da Enzima Acetilcolinesterase em *C. elegans*

Aproximadamente 1000 larvas L1 de tipo selvagem sincronizadas foram cultivadas durante 48 horas em placas NGM suplementadas com EOLO até ao estágio L4. Os vermes foram lavados com M9 para remover bactérias (repetir o processo por no mínimo 3 vezes), na última etapa do processo, manter um volume final de 800  $\mu\text{L}$ . Em seguida os animais foram sonicados em banho de gelo (mantidos em gelo durante todo o processo). Após sonicação, a mistura foi centrifugada por 30 min. a 13.200 rpm a 4 °C, o precipitado foi descartado e o sobrenadante foi armazenado, em gelo, para posterior análise. Dois  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram utilizados para quantificação das proteínas, no homogenato, foi utilizado o NanoVue Plus (Biochrom US, (Massachusetts, EUA). Para avaliar a inibição da enzima AChE em *C. elegans*, a atividade enzimática foi conduzida de acordo com algumas modificações. (Ellman et al., 1961; Assis et al. 2014). De forma reduzida, placas de 96 micropoços foram preparadas adicionando 10  $\mu\text{L}$  de TRIS/HCl e 10  $\mu\text{L}$  de homogenato (concentração de 250  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), das concentrações de trabalho em triplicata técnica em cada micropoço, após esses procedimentos, a placa foi incubada por um período de uma hora à 20°C . Após o período de incubação, 200  $\mu\text{L}$  de DTNB foram adicionados a cada micropoço, a reação foi iniciada pela adição de 20  $\mu\text{L}$  do substrato (acetiltiocolina 62 mM). A atividade enzimática foi determinada pela leitura do aumento da absorbância a 405 nm durante 180 s usando um espectrofotômetro de microplacas xMark™ da Bio-Rad (Hercules, CA, EUA). (Sedmak e Grossberg, 1977)

### 2.4 Ensaio de paralisia induzida por Aldicarbe em *C. elegans*

O experimento de paralisia induzida por Aldicarbe foi realizado de acordo com a metodologia de Mahoney et al (2006) e Oh e Kim, (2017) com algumas adaptações. Após sincronização em L1, os animais do tipo selvagem (N2) foram manipulados em placas contendo *E. coli* (OP50), mas não contendo Aldicarbe, a 20 °C durante 48 h até atingirem o estágio larval L4. Para a condição experimental com Aldicarbe, foram separadas placas de cultura celular de fundo plano com 24 poços, contendo cada poço entre 1 e 2 mL de meio NGM. O NGM foi devidamente suplementado com as soluções habituais (tampão fosfato de potássio ( $\text{KPO}_4$ ),  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ , colesterol e estreptomicina), distribuídos em placas experimentais. Quando o meio NGM estava sólido, 20  $\mu\text{L}$  de OP50 foram aplicados em cada poço. Logo após as placas ficarem prontas, 30 animais (10 animais em cada poço) foram transferidos para cada grupo

tratado com aldicarbe (1 mM) e para grupos com o EOLO nas concentrações 0,05, 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg/mL, para encontrar a curva IC<sub>50</sub> em *C. elegans*. O experimento foi realizado em triplicata técnica e biológica e os animais foram observados a cada 1 hora. Os animais que não se moviam sem responder a um toque suave foram retirados do poço e registrados.

#### 2.5 O EOLO inibe a enzima a AChE em *C. elegans* N2 e não paralisa os mutantes deficientes em AChE

As Larvas L1 sincronizadas do tipo selvagem (N2) e os mutantes foram cultivadas durante 48 h até o estágio larval L4. Trinta animais foram transferidos para placas normais de NGM contendo EOLO nas concentrações de 2,0, 5,0, 10,0 e 20,0 mL.mL<sup>-1</sup> e placa com o tratamento aldicarbe (1.0 mM). As análises foram realizadas pontuando os animais paralisados a cada 1 hora até que todos os animais parassem de se mover. O verme N2 e o mutante GG202 foram classificados como paralisados quando não deslizaram sinuosamente na placa. Os vermes mutantes GG201 e PR946 foram classificados como paralisados quando não apresentavam movimento corporal, mas ainda mantinham bombeamento faríngeo.

#### 2.6 Análise Estatística

Análise estatística realizada pelo software Graph Pad Prism (v 6.0) (Califórnia, EUA). O teste t de Student e ANOVA unidirecional foram utilizados para comparação entre pares de grupos, ANOVA unidirecional seguida de pós-teste de Tukey também foi utilizada para comparar três ou mais grupos, para dados normalmente distribuídos. As curvas de sobrevivência foram analisadas pelo teste log-rank de Mantel-Cox. Para todos os testes foi considerada significância estatística  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No *C. elegans*, os múltiplos genes ace codificam classes farmacológicas distintas de AChE, *ace-1* e *ace-2* codificam as AChE da classe A e B, respectivamente, que juntas respondem por 95% de toda a atividade da AChE (COMBES et al., 2003; HAN et al., 2016). Este estudo analisou que os componentes bioativos do EOLO, da Amazônia brasileira, não paralisaram os modelos mutante GG202 [(*ace-2(g72)* I)] e o duplo mutante GG201 [(*ace-2(g72)* I; *ace-1(p1000)* X)] e PR946 [*unc-3 (p1001)* *ace-1(p1000)* X], deficientes em AChE.

Evidências demonstram que a perda de inervação colinérgica no córtex cerebral de pacientes com doença de Alzheimer relacionam-se com a degeneração do sistema colinérgico

(HAMPEL et al., 2018). O tratamento atual para a DA é constituído pela administração de drogas aprovadas pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA, são elas a memantina, primeiro fármaco aprovado pela FDA para tratar os sintomas da DA, moderada a severa (BHATT; PULI; PATIL, 2021; FALCO et al., 2015; KUMAR et al., 2020), rivastigmina, tacrina, donepezil e galantamina, fármacos que atuam no sistema colinérgico, inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE) e aumentando a disponibilidade de acetilcolina (ACh) nas sinapses cerebrais, de forma a “reduzir a velocidade de progressão da doença” e “revigorar a memória e atenção”. (BREIJYEH; KARAMAN, 2020) No entanto, observa-se que mesmo com o crescimento alarmante da população idosa com demência e Alzheimer no mundo, nenhuma nova terapia foi aprovada na última década. (CUMMINGS; TONG; BALLARD, 2019; GREGORY et al., 2021; SATHYA et al., 2017)

### 3.1 O EOLO inibe a enzima AChE de *E. Electricus*, comercial, e no modelo *C. elegans*

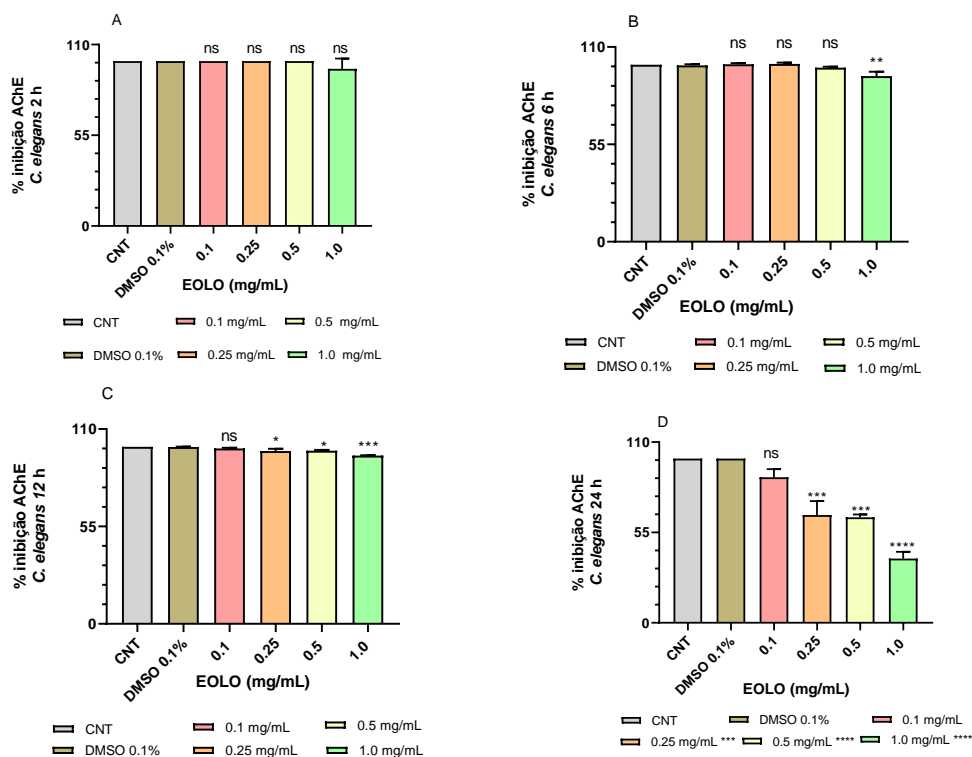
Estudos indicam que *C. elegans* é um modelo importante na avaliação dos efeitos de drogas neurotóxicas a nível celular subletal. (MEYER; WILLIAMS, 2014) sendo assim, com a finalidade de avaliar a inibição da enzima AChE *in vitro* e no modelo vivo *C. elegans*, utilizamos metodologia conforme descrita no item 2.3. Para os ensaios de inibição da AChE, utilizou-se concentrações do EOLO que inibem a atividade enzimática em 50% (IC<sub>50</sub>), utilizou-se a AChE comercial de *Electrophorus electricus* (*E. electricus*) extraída da enguia elétrica (Tipo VI-S, Sigma-Aldrich), a qual foi exposta ao EOLO. A concentração foi determinada por diluição seriada, levando em consideração o composto majoritário do EOLO (concentrações variando de  $9,6 \times 10^{-1}$  a  $9,6 \times 10^{-6}$  mg.mL<sup>-1</sup> do EOLO, por 60 min), os resultados foram comparados com os controles não tratado (CNT) e tratado com DMSO-0.1%, conforme apresentado na figura 1(A). Para explorar o potencial de inibição do EOLO na enzima AChE, o *C. elegans* (N2), estágio L4, foi tratado com o EOLO nas concentrações 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup> e comparadas com os controles não tratados CNT e DMSO-0.1%, sob condições laboratoriais padrão, conforme apresentado na figura 1(B). (ASSIS et al., 2012).



1(A e B). Até onde sabemos, este é o primeiro relato sobre atividade inibitória com o EOLO em *C. elegans*. A inibição deste alvo fisiológico pode estar relacionada com a saúde mental e o potencial neuroprotetor do EOLO. A atividade residual foi calculada usando a ausência de óleo essencial como 100% de atividade. Para estimar os parâmetros do IC50, os resultados foram expressos em percentual de inibição da atividade residual (média  $\pm$  DP) *versus* inibição da atividade obtida com as diferentes concentrações do EOLO utilizadas. Em nossa análise, verificamos que o tratamento do *C. elegans* com o EOLO, as concentrações que apresentaram inibição da AChE foram: 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup> com 16.25, 32.75, 44.22 e 77.73%, respectivamente, de forma dependente da concentração de exposição do *C. elegans* ao EOLO.

### 1.1 Potencial de inibição do EOLO na enzima AChE ao longo do tempo no *C. elegans*

A partir das análises anteriores, escolhemos as concentrações 0.1, 0.25, 0.5, e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>, como as concentrações de trabalho. Para verificar em que momento o EOLO começou a inibir a AChE, novos experimentos foram realizados em intervalos de tempo (2, 6, 12 e 24 horas) para cada concentração do EOLO bem como com os controles não tratados CNT e DMSO-0.1%, conforme figura 2(A,B,C e D).



**Figura 2. Inibição da enzima AChE no *C. Elegans*, ao longo do tempo.**

Para avaliar a inibição da enzima AChE em *C. Elegans*, animais tipo selvagem N2 foram sincronizados em larvas de primeiro estágio tratadas com o EOLO, diluído em meio

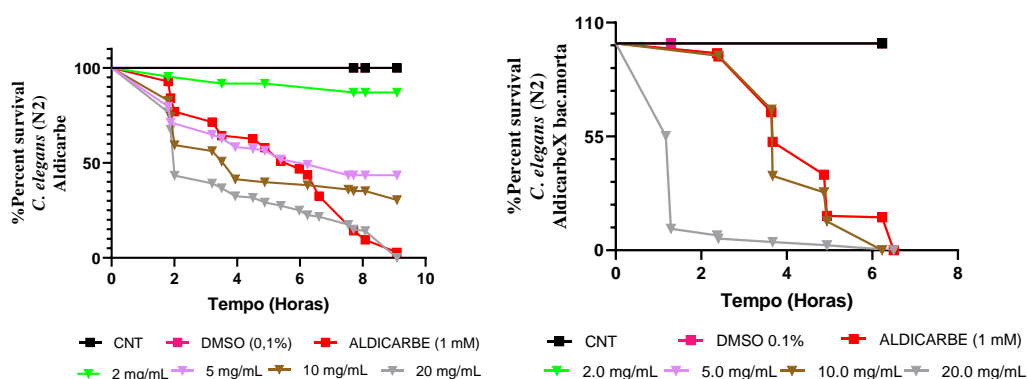
de cultura OP50, conforme descrito na metodologia, nas concentrações 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg mL<sup>-1</sup> e aos controles CNT e DMSO-0.1%, por 2, 6, 12 e 24 horas. A) Atividade da AChE em vermes expostos ao EOLO, por 2 horas, como média  $\pm$  SEM ns. B) Atividade da AChE em vermes expostos ao EOLO, por 6 horas, os resultados foram expressos como média  $\pm$  SEM ns e 6.47% (\*\*p<0.0069. C) Atividade da AChE em vermes expostos ao EOLO, por 12 horas, os resultados foram expressos como média  $\pm$  SEM ns, \*p<0.0338, \*\*p<0.0496 e \*\*\*p<0.0008. D) Atividade da AChE em vermes expostos ao EOLO, por 24 horas. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  SEM ns, \*\*\*p <0,0006, \*\*\*p<0,0004, \*\*\*\*p<0,0001. A atividade residual foi calculada em vermes que não foram tratados com o óleo essencial e foi considerado tendo 100% de atividade. Os ensaios de inibição da AChE com o *C. elegans*, foram realizados em triplicatas técnica e independente, os resultados foram expressos como média  $\pm$  SEM. comparado ao controle DMSO-0.1%, por One-Way-ANOVA seguido pelo teste de Tukey.

Na figura 2(A), já se observa que a exposição do verme por 2 horas, na concentração mais elevada de 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>, mesmo sem uma diferença significativa (ns), já verifica-se uma inibição da enzima AChE em 4.70%, quando comparada ao controle não tratado DMSO-0.1%. Ao expor os animais por 6 horas ao EOLO nas concentrações 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg mL<sup>-1</sup> e aos controles CNT e DMSO-0.1%, Figura 2(B), as concentrações 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>, inibiram em 1.71% (ns) e 6.47% (\*\*p<0.0069) a AChE, respectivamente. Com 12 horas de exposição do *C. elegans* ao EOLO, Figura 2(C), a inibição da AChE foi 0.97, 2.46, 2.26 e 5.02%, (ns, \*p<0.0338, \*\*p<0.0496 e \*\*\*p<0.0008) para as diferentes concentrações testadas, o que corresponde a um valor de IC<sub>50</sub> = ~ 5,444. Com 24 horas de exposição do verme ao EOLO nas concentrações 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg mL<sup>-1</sup> e aos controles CNT e DMSO-0.1%, Figura 2(D), é possível observar um aumento significativo na inibição da AChE com 11.44, 34.45, 35.82 e 60,89% (ns, \*\*\*p <0,0006, \*\*\*p<0,0004, \*\*\*\*p<0,0001), respectivamente. Os resultados mostraram que atividade de inibição da AchE aumenta ao longo do tempo de exposição, de modo dose-dependente. O IC<sub>50</sub> do EOLO em *C. Elegans*, para 24 horas, foi de 0,9787 mg.mL<sup>-1</sup>. Quando os vermes foram expostos por 48 horas, nas concentrações de 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg mL<sup>-1</sup> e aos controles CNT e DMSO-0.1%, a atividade da AChE foi inibida em 16.25, 32.75, 44.22 e 77.73%, respectivamente, e o IC<sub>50</sub> foi de 0,5345 mg.mL<sup>-1</sup>. A inibição da atividade da AChE foi intensificada após 6 horas de exposição ao EOLO, que foi dependente da concentração usada, com atividade significativa a partir de 12 horas de exposição.

### 1.2 O EOLO exerce efeito protetor em *C. elegans* comparada a paralisia induzida por aldicarbe

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor excitatório nas junções neuromusculares do *C. elegans*, da mesma forma que em mamíferos. Mais de um terço das células do sistema

nervoso do *C. elegans* liberam ACh. A AChE é a enzima responsável por regular a quantidade do neurotransmissor, ACh, nas junções neuronais. Para investigar possíveis alterações na sinalização colinérgica, vermes tratados com EOLO foram comparados com a resistência apresentada pelos vermes N2, estágio L4, quanto à paralisia induzida por Aldicarbe, conforme apresentado na figura 3. Para verificar a correlação da taxa de liberação do neurotransmissor com a taxa de paralisia, realizamos as análises onde os vermes tratados com EOLO foram comparados com a resistência apresentada pelos vermes N2 (Bristol), quanto à paralisia induzida pelo Aldicarbe.



**Figura 3 –O EOLO e o Aldicarbe paralisa o *C. elegans* (N2) no estágio L4.**

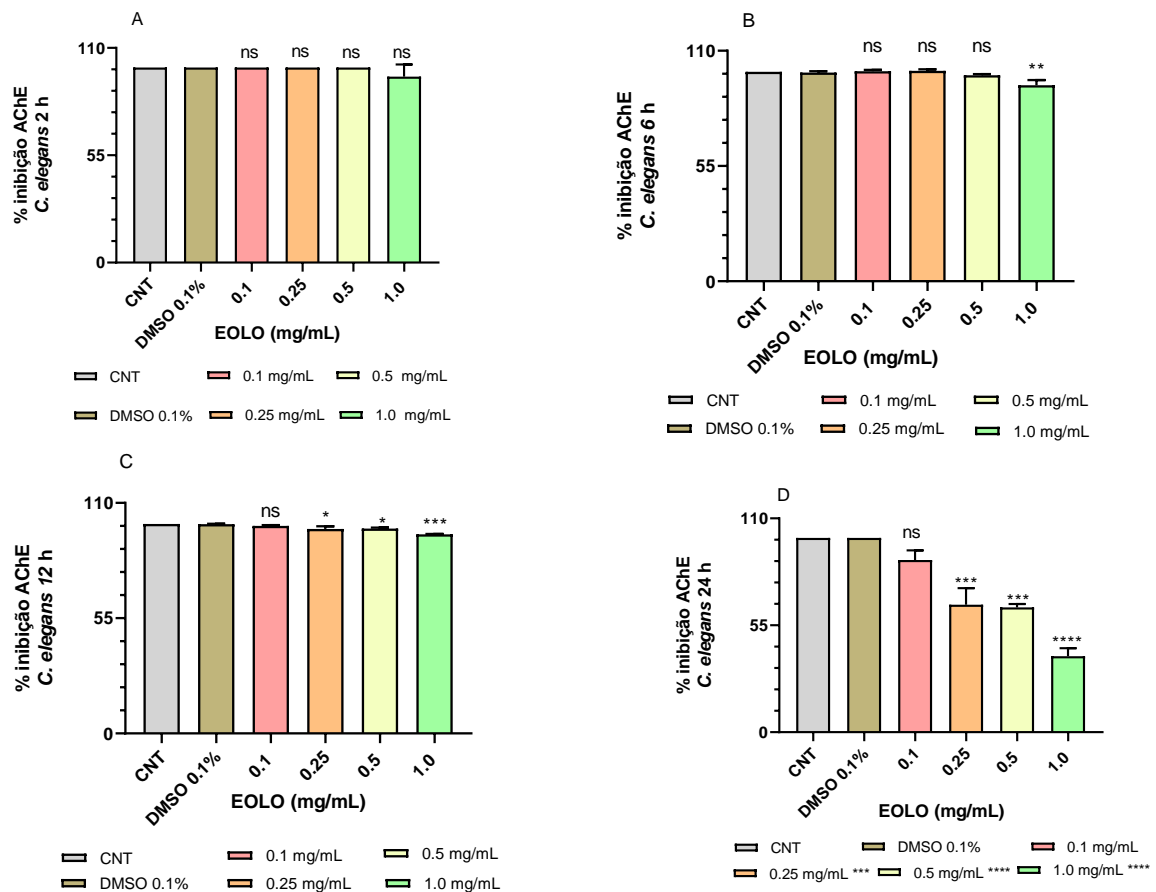
Os animais foram tratados com EOLO nas concentrações 2.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg.mL<sup>-1</sup>, ou 1 mM de Aldicarbe. Os animais paralisados foram pontuados a cada hora. A) Ensaio de paralisia realizado com bactéria viva. B) Ensaio de paralisia realizado com bactéria morta. Os ensaios foram realizados em triplicata e expressos como média  $\pm$  SEM. \*\*\*\*p<0,0001 e comparado ao controle DMSO 0.1% determinado pelo teste Log Rank (Mantel-Cox). O Aldicarbe, foi utilizado como controle positivo para demonstrar que o acúmulo de ACh, no *C. elegans*, leva o verme a paralisar. O *C. elegans* cresceu por 48 h em OP50, após esse período foi levado as placas com o EOLO nas concentrações 2.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg.mL<sup>-1</sup> e .mais uma vez foram usados os controles negativos CNT e DMSO-0.1% e placas com o controle positivo aldicarbe, para comparação com os tratamentos e também para comparar o tempo de paralisiação do *C. elegans* tratado com o Aldicarbe (1 mM).

A taxa na qual os vermes ficam paralisados reflete o equilíbrio das entradas colinérgicas excitatórias e GABAérgicas inibitórias no músculo. (VASHLISHAN et al., 2008) O ensaio de resistência em comparação com o aldicarbe foi realizado de acordo com o método previamente descrito Nonet et al. (1998) com algumas modificações. (NONET et al., 1998) O Aldicarbe (carbamatos) exerce sua toxicidade pela reação de carbamilação, resultando na inibição da atividade da AChE, e conseqüente estimulação excessiva dos receptores nicotínicos e muscarínicos. (XAVIER; RIGHI; SPINOSA, 2007) Como previsto, o aldicarbe (1.0 mM) inibiu a atividade da AChE de forma acentuada ao ponto de levar o nematoide a

paralisar.(MAHONEY; LUO; NONET, 2006) Um resultado semelhante na paralisia dos animais foi observado quando eles foram tratados com as diferentes concentrações do EOLO. O tratamento com EOLO demonstrou aumentar os níveis de acetilcolina, de forma que os vermes tratados com EOLO diluído em OP50 viva, nas diferentes concentrações e no tempo de 2 h começam a paralisar, juntamente, com o *C. elegans* tratado com o aldicarbe. A concentração de 10.0 mg.mL<sup>-1</sup> apresentou paralisia bastante expressiva, já a concentração de 20.0 mg.mL<sup>-1</sup> os animais paralisaram ao mesmo tempo em que os animais tratados com o aldicarbe (1.0 Mm), 9 h de tratamento. No entanto, os vermes fez com que os vermes diminuíssem o tempo de paralisação quando comparados ao controle DMSO-0.1%. O mesmo experimento foi realizado com a bactéria *E. coli* (OP50) morta, para verificar se a metabolização do EOLO pela bactéria mudaria o comportamento do verme, quando comparado aos experimentos com a mesma, OP50, viva. O tratamento com a bactéria morta não alterou os resultados obtidos para inibição da AChE com o EOLO. Os resultados apontam o EOLO como provável inibidor da AChE que, aparentemente, impediu a hidrólise da ACh e resultando na sua permanência por mais tempo nas fendas sinápticas. No entanto, para respondermos, se a paralisia verificada nos tratamento com EOLO no *C. elegans*, se deu realmente pela inibição da AChE ou por outras vias, realizamos outros experimentos de inibição da AChE usando o EOLO nas concentrações 2.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg.mL<sup>-1</sup>, e comparar o tempo de paralisação do *C. elegans* tratado com o aldicarbee (1 mM). Neste teste usaram-se animais selvagens *C. elegans* N2 e animais mutantes GG201, GG202 e PR946, Figura 4, que são deficientes em AChE da calsse A e B. Os controles usados foram animais não tradados (CNT) ou tratados com DMSO 0.1%.

### 3.2 EOLO paralisa o *C. elegans*, N2, e não paralisa os mutantes deficientes-AChE

Na DA as células cerebrais e os nervos são bloqueados por proteínas anormais, resultando na interrupção dos transmissores que transportam mensagens ao cérebro, particularmente aqueles responsáveis pelo armazenamento da memória.(World Alzheimer Report 2021) Para eliminar a possibilidade de o EOLO ter outras vias de paralisar, *in vivo*, expusemos as cepas N2, GG201, GG202 e PR946 ao EOLO nas concentrações 2.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg.mL<sup>-1</sup>. Os resultados estão apresentados na Figura 4.



**Figura 4 – O EOLO inibe a enzima AChE no *C. elegans*, e não paralisa os mutantes deficientes em AChE.**

A) Animais do tipo selvagem cresceram em *E. coli* OP50 sem tratamento, por 48 horas, e transferidos para placas com diferentes concentrações da amostra tratamentos ou com Aldicarbee.

Os animais paralisados foram pontuados a cada hora. Os ensaios foram realizados em triplicatas e expressos como média  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  comparado com o controle DMSO 0.1% determinado pelo teste Log Rank (Mantel-Cox). B) Animais do tipo mutante GG201 cresceram em *E. coli* OP50 sem tratamento, por 48 horas, e transferidos para placas com tratamentos e outra com aldicarbee. Os animais paralisados foram pontuados a cada hora. Os ensaios foram realizados em triplicata e expressos como média  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  comparado ao controle DMSO-0.1% determinado pelo teste Log Rank (Mantel-Cox). C) Animais do tipo mutante GG202 cresceram em OP50 sem tratamento por 48 horas e transferidos para placas com tratamentos e outra com aldicarbee. Os animais paralisados foram pontuados a cada hora. Os ensaios foram realizados em triplicata e expressos como média  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  comparado ao controle DMSO 0.1% determinado pelo teste Log Rank (Mantel-Cox). D) Animais do tipo mutante PR946 cresceram em OP50 sem tratamento por 48 horas e transferidos para placas com tratamentos e outra com aldicarbee. Os animais paralisados foram pontuados a cada hora. Os ensaios foram realizados em triplicata e expressos como média  $\pm$  SEM. \*\*\*\*  $p < 0.0001$  comparado ao controle DMSO-0.1% determinado pelo teste Log Rank (Mantel-Cox).

Os resultados demonstraram que o *C. elegans*, N2, tratado com o EOLO na concentração de 20.0 mg.mL<sup>-1</sup> e os tratados com o Aldicarbe (1.0 mM) apresentaram 100% de animais paralisados, no mesmo tempo de exposição. Enquanto que as cepas mutantes deficientes em AChE, GG201 [(ace-2(g72) I; ace-1(p1000) X)], GG202 [(ace-2(g72) I)] e PR946 [unc-3(p1001) ace-1(p1000) X], (KOLSON; RUSSELL, 1985) quando expostas ao EOLO, nas mesmas condições, não afetou os nematóides como observado *C. elegans* tipo selvagem, N2, indicando que nessas concentrações, a ausência de paralisia observada, atribui-se à inibição da AChE.

#### 4 CONCLUSÃO

A importância das plantas medicinais, como a *Lippia origanoides*, é amplamente reconhecida, especialmente por suas aplicações que vão desde chás e aditivos culinários até suas propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas, já reconhecidas pelo SUS como coadjuvantes no tratamento de doenças causadas por microrganismos. Nesta pesquisa, focamos no potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) pelo óleo essencial de *Lippia origanoides* (EOLO), utilizando *Caenorhabditis elegans* como modelo in vivo. Investigamos as atividades da AChE e a paralisção causada pelo EOLO, comparando-as com os efeitos do Aldicarb, além de utilizar mutantes deficientes em AChE, como GG201, GG202 e PR946, para confirmar o mecanismo de ação do EOLO na paralisção do verme. Os resultados indicam uma série de evidências que sugerem o potencial do EOLO para inibir a AChE, um dos principais alvos na busca de novos tratamentos para a doença de Alzheimer. Assim, propomos que o EOLO tem potencial para se tornar um agente farmacológico promissor no combate à demência, ao promover a inibição da AChE e prolongar a disponibilidade de acetilcolina nas fendas sinápticas, o que pode contribuir para melhorar a função cognitiva e, conseqüentemente, a qualidade de vida.

#### Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Universidade Federal de Roraima, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal da Paraíba, Brasil. Agradecimentos à CAPES pela infraestrutura do NPPGCT-UFRR-FINEP. Meus agradecimentos ao Dr. Wanderli Pedro Tadei (in memoriam), do INPA, pelo apoio na construção do Projeto e ao pós-doutorado Dr. Caio, RD de Assis pelo apoio na pesquisa, metodologia e conceituação (in memoriam). Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

### Declaração de contribuição do autor

**A.M.H.MONIZ:** Pesquisa, Conceitualização, Metodologia, Curadoria de dados, Análise formal, Redação - rascunho original, Escrito - revisão e revisão da edição Texto de contribuição do autor. Dr. **R.P. Oliveira:** Recursos, Redação - revisão, edição, supervisão, validação. Dr. **W.S.Paiva:** Análise formal, Curadoria de dados, Redação - revisão e revisão. Edição. Dr. **F.H.X. Junior:** Recursos, Redação - revisão, edição, supervisão, validação. Dr. **A.A.M. Filho:** Gerenciamento de projetos, Supervisão, Conceitualização, Curadoria de dados, Análise formal, Validação, minuta original, Revisão escrita, edição e obtenção de financiamento.

### REFERENCES

AEBISHER, D. et al. Essential Oils of Seven Lamiaceae Plants and Their Antioxidant Capacity. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3793, 22 jun. 2021.

AGGARWAL, N. T.; MIELKE, M. M. Sex Differences in Alzheimer's Disease. **Neurologic Clinics**, v. 41, n. 2, p. 343–358, maio 2023.

AGNELLO, L.; CIACCIO, M. Neurodegenerative Diseases: From Molecular Basis to Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 12854, 25 out. 2022.

AHMED, S. et al. Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111609, jul. 2021.

AIDI WANNES, W. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 1362–1370, maio 2010.

AKRAM, M.; NAWAZ, A. Effects of medicinal plants on Alzheimer's disease and memory deficits. **Neural Regeneration Research**, v. 12, n. 4, p. 660, 2017.

ALEXANDER, A. G.; MARFIL, V.; LI, C. Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 5 set. 2014.

ALFONSO, A. et al. The *Caenorhabditis elegans unc-17* Gene: a Putative Vesicular Acetylcholine Transporter. **Science**, v. 261, n. 5121, p. 617–619, 30 jul. 1993.

ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018a.

ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018b.

ALMOHAMMED, H. I.; ALKHAIBARI, A. M.; ALANAZI, A. D. Antiparasitic effects of *Elettaria cardamomum* L. essential oil and its main compounds, 1-8 Cineole alone and in

combination with albendazole against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 2811–2818, abr. 2022.

ANANDAKUMAR, P.; KAMARAJ, S.; VANITHA, M. K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 1, jan. 2021.

APOSTOLAKOU, A. E. et al. Exploring the conservation of Alzheimer-related pathways between *H. sapiens* and *C. elegans*: a network alignment approach. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4572, 25 fev. 2021.

ARAGÃO, M. I. D. C. et al. O uso de óleos essenciais associado à fisioterapia para o alívio da dor na dismenorrea: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e30101119308, 22 ago. 2021.

ARIZA NIETO, C.; ORTIZ, R. E.; TELLEZ, G. A. EFFECT OF TWO CHEMOTYPES OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON BROILER PERFORMANCE, NUTRIENT BALANCE, AND LIPID PEROXIDATION OF BREAST MEAT DURING STORAGE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, n. 0, 4 out. 2018.

ARRUDA, H. S. et al. Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. **Journal of Functional Foods**, v. 75, p. 104203, dez. 2020.

ASHRAFIAN, H.; ZADEH, E. H.; KHAN, R. H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 382–394, jan. 2021.

AYAZ, M. et al. Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, p. 168, 30 maio 2017.

BANDEIRA JUNIOR, G. et al. Plant essential oils against bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia origanoides*. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20190064, 2019.

BARRETO, F. S. et al. Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceara, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 1, p. 42–44, jan. 2010.

BARROS, L. D. S. P. et al. Chemometric analysis of the seasonal variation in the essential oil composition and antioxidant activity of a new geraniol chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson from the Brazilian Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 105, p. 104503, dez. 2022.

BAUTISTA-HERNÁNDEZ, I. et al. Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5156, 25 ago. 2021.

BECKER, A. J. et al. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: a comparative approach between different essential oils. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, n. 0, 22 out. 2018.

BENNY, A.; THOMAS, J. Essential Oils as Treatment Strategy for Alzheimer's Disease: Current and Future Perspectives. **Planta Medica**, v. 85, n. 03, p. 239–248, fev. 2019.

BEZERRA FILHO, C. M. et al. Antimicrobial and Antivirulence Action of *Eugenia brejoensis* Essential Oil in vitro and in vivo Invertebrate Models. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 424, 19 mar. 2020.

BHATT, S.; PULI, L.; PATIL, C. R. Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 3, p. 794–803, mar. 2021.

BIAŁOŃ, M. et al. Chemical Composition of Two Different Lavender Essential Oils and Their Effect on Facial Skin Microbiota. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3270, 8 set. 2019.

BLANK, P. N.; SHINSKY, S. A.; CHRISTIANSON, D. W. Structure of Sesquisabinene Synthase 1, a Terpenoid Cyclase That Generates a Strained [3.1.0] Bridged-Bicyclic Product. **ACS Chemical Biology**, v. 14, n. 5, p. 1011–1019, 17 maio 2019.

BONCAN, D. A. T. et al. Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7382, 6 out. 2020.

BRAGA DE OLIVEIRA, M. I. et al. *In vitro* anthelmintic efficacy of essential oils in the control of *Neoechinorhynchus buttnerae*, an endoparasite of *Colossoma macropomum*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 5, p. 509–522, 3 set. 2021.

BRANDÃO, F. R. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 534, p. 736275, mar. 2021.

BRANDT, C. C. M. et al. Rosemary essential oil microemulsions as antimicrobial and antioxidant agent in tomato paste. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100295, out. 2023.

BRAZIL (ED.). **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos**. 1a. ed ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 8 dez. 2020.

BRICARELLO, P. A. et al. Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, ago. 2021.

BRITO, E. N. D. et al. Inteligência Artificial no diagnóstico de doenças neurodegenerativas: uma revisão sistemática de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e482101120004, 7 set. 2021.

BRITO, F. N. et al. Proliferation of human adipose tissue-derived stem cells stimulated by oil rich in thymol of *Lippia organoides*. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 431–438, maio 2018.

BRNAWI, W. I. et al. Antimicrobial activity of leaf and bark cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in broth system and on celery. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 3, p. e13888, mar. 2019.

BROCHOT, A. et al. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 4, p. e00459, ago. 2017.

BURKHARDT, I. et al. Ancient plant-like terpene biosynthesis in corals. **Nature Chemical Biology**, v. 18, n. 6, p. 664–669, jun. 2022.

CABALLERO-GALLARDO, K. et al. Chemical Composition, Repellent Action, and Toxicity of Essential Oils from *Lippia origanoide*, *Lippia. alba* Chemotypes, and *Pogostemon cablin* on Adults of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Insects**, v. 14, n. 1, p. 41, 31 dez. 2022.

CÁCERES, M. et al. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 147, 30 mar. 2020.

CALDWELL, K. A.; WILLICOTT, C. W.; CALDWELL, G. A. Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Disease Models & Mechanisms**, v. 13, n. 10, p. dmm046110, 1 out. 2020.

CANHOS, D. A. L. et al. The Importance of Biodiversity E-infrastructures for Megadiverse Countries. **PLOS Biology**, v. 13, n. 7, p. e1002204, 23 jul. 2015.

CARDOSO, P. H. et al. Verbenaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 777–786, jun. 2018.

CARDOSO, P. H. et al. An update of the Verbenaceae genera and species numbers. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 1, p. 80–86, 23 mar. 2021.

CARDOSO, P. H.; SALIMENA, F. R. G. Notas taxonômicas em Verbenaceae da Flora do Brasil. **Hoehnea**, v. 46, n. 4, p. e032019, 2019.

CARMEN, M. D. Frutas tropicales como fuentes de antioxidantes y sus perspectivas en la industria de bebidas. [s.d.].

CARVALHO, A. C. B. et al. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 29–35, fev. 2018.

CEARA STATE UNIVERSITY et al. Biotechnological potential of essential oils from different chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 21, n. 6, p. 725–736, 30 nov. 2022.

CHAACHOUAY, N. et al. Poisonous medicinal plants used in the popular pharmacopoeia of the Rif, northern Morocco. **Toxicon**, v. 189, p. 24–32, jan. 2021.

CHACÓN-VARGAS, K. F. et al. Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer and *Poliomintha longiflora* Gray) Essential Oils Induce Cell Death by Apoptosis in *Leishmania* (*Leishmania*) mexicana Promastigotes. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5183, 15 ago. 2022.

CHEN, S.-Y. et al. Traditional Chinese Medicine: Role in Reducing  $\beta$ -Amyloid, Apoptosis, Autophagy, Neuroinflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunction of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 497, 22 abr. 2020a.

CHEN, W. N. et al. Neuroprotective, neurite enhancing, and cholinesterase inhibitory effects of Lamiaceae family essential oils in Alzheimer's disease model. **Journal of Herbal Medicine**, v. 41, p. 100696, set. 2023.

CHEN, X. et al. Essential Oil of *Acorus tatarinowii* Schott Ameliorates A $\beta$ -Induced Toxicity in *Caenorhabditis elegans* through an Autophagy Pathway. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–11, 22 dez. 2020b.

CHEN, Y. et al. Litchi flower essential oil balanced lipid metabolism through the regulation of DAF-2/IIS, MDT-15/SBP-1, and MDT-15/NHR-49 pathway. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 934518, 19 out. 2022.

CHENG, Y.-J.; LIN, C.-H.; LANE, H.-Y. From Menopause to Neurodegeneration—Molecular Basis and Potential Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8654, 11 ago. 2021.

CHI, H.; CHANG, H.-Y.; SANG, T.-K. Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, p. 3082, 9 out. 2018.

CHU, K. O. et al. Pro-oxidative and Antioxidative Controls and Signaling Modification of Polyphenolic Phytochemicals: Contribution to Health Promotion and Disease Prevention? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 4026–4038, 7 maio 2014.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A UTILIZAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS PELA COMUNIDADE INDÍGENA DE VENTARRA ALTA- RS. 2014.

COMBES, D. et al. Multiple *ace* genes encoding acetylcholinesterases of *Caenorhabditis elegans* have distinct tissue expression. **European Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 3, p. 497–512, ago. 2003.

CORSI, A. K. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. **WormBook**, p. 1–31, 18 jun. 2015.

COUILLAUD, J.; DUQUESNE, K.; IACAZIO, G. Extension of the Terpene Chemical Space: the Very First Biosynthetic Steps. **ChemBioChem**, v. 23, n. 9, 4 maio 2022.

COUTINHO, D. F.; TRAVASSOS, L. M. A.; DO AMARAL, F. M. M. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DE PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS EM COMUNIDADES INDÍGENAS NO ESTADO DO MARANHÃO - BRASIL. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, 30 jun. 2002.

CULETTO, E. et al. Structure and promoter activity of the 5' flanking region of *ace-1*, the gene encoding acetylcholinesterase of class A in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Molecular Biology**, v. 290, n. 5, p. 951–966, jul. 1999.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 12 fev. 2019.

DA SILVA, A. C. et al. Larvicidal activity, enzyme inhibitory effect, and molecular docking by essential oil, hydrolate, aqueous extract, and major compounds from the leaves of *Eugenia uniflora* against *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, v. 204, p. 117380, nov. 2023.

DA SILVA BARBOSA, D. C. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, set. 2020.

DAMASCENO, E. et al. NANO-ENCAPSULATION OF *Lippia origanoides* KUNTH. ESSENTIAL OIL BY CHITOSAN-CAFFEIC ACID NANOGEL. **Química Nova**, 2019.

DAVIS, A. N.; TANIS, J. E. Measuring *Caenorhabditis elegans* Sensitivity to the Acetylcholine Receptor Agonist Levamisole. **Journal of Visualized Experiments**, n. 184, p. 64056, 7 jun. 2022.

DE ALBUQUERQUE LIMA, T. et al. Insecticidal activity of a chemotype VI essential oil from *Lippia alba* leaves collected at Caatinga and the major compound (1,8-cineole) against *Nasutitermes corniger* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 177, p. 104901, ago. 2021.

DE ALMEIDA, W. S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham. (Verbenaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 236–240, dez. 2018.

DE CAMPOS, D. L. et al. Aniba canelilla (Kunth) Mez essential oil and its primary constituent, 1-nitro-2-phenylethane, inhibits acetylcholinesterase and reverse memory impairment in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 116036, mar. 2023.

DE FATIMA ALVES NONATO, C. et al. Comparative analysis of chemical profiles and antioxidant activities of essential oils obtained from species of *Lippia* L. by chemometrics. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132614, ago. 2022.

DE OLIVEIRA, I. C. et al. Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 3, p. 501–519, jun. 2022.

DE SOUZA, P. et al. Promising Medicinal Plants with Diuretic Potential Used in Brazil: State of the Art, Challenges, and Prospects. **Planta Medica**, v. 87, n. 01/02, p. 24–37, fev. 2021.

DEY, A. et al. Natural products against Alzheimer's disease: Pharmaco-therapeutics and biotechnological interventions. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 178–216, mar. 2017.

DINIZ DO NASCIMENTO, L. et al. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. **Biomolecules**, v. 10, n. 7, p. 988, 1 jul. 2020.

DONATO, R. et al. Antifungal activity of different essential oils against *Malassezia* pathogenic species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 249, p. 112376, mar. 2020.

DOS SANTOS, R. C. et al. Influence of diurnal variation in the chemical composition and bioactivities of the essential oil from fresh and dried leaves of *Lantana camara*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, n. 3, p. 228–234, 4 maio 2019.

DUGGER, B. N.; DICKSON, D. W. Pathology of Neurodegenerative Diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 9, n. 7, p. a028035, jul. 2017.

DUQUE, J. E. et al. Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 20 fev. 2023.

EBLING FLORES, L.; ZAMIN, L. L. Potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do Canabidiol: relevância e perspectivas para o tratamento de doenças neurodegenerativas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 16, n. 2, p. 224, 27 out. 2017.

EDDIN, L. B. et al. Neuroprotective Potential of Limonene and Limonene Containing Natural Products. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4535, 27 jul. 2021.

EISENMENGER, L. B. et al. Vascular contributions to Alzheimer's disease. **Translational Research**, v. 254, p. 41–53, abr. 2023.

ELDUFANI, J.; BLAISE, G. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: A review of recent clinical applications. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 5, n. 1, p. 175–183, jan. 2019.

FALCO, A. D. et al. ALZHEIMER'S DISEASE: ETIOLOGICAL HYPOTHESES AND TREATMENT PERSPECTIVES. **Química Nova**, 2015.

FÉLIX, M.-A.; BRAENDLE, C. The natural history of *Caenorhabditis elegans*. **Current Biology**, v. 20, n. 22, p. R965–R969, nov. 2010.

FELIX, S. F. et al. Chemical Composition, Larvicidal Activity, and Enzyme Inhibition of the Essential Oil of *Lippia grata* Schauer from the Caatinga Biome against Dengue Vectors. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 250, 10 mar. 2021.

FERRAZ, E. D. O. et al. Seasonality effects on chemical composition, antibacterial activity and essential oil yield of three species of *Nectandra*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0204132, 18 set. 2018.

FERRAZ, M. P. S. et al. PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NO NORDESTE BRASILEIRO COM POTENCIAL FITOTERÁPICO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2023.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. suppl 2, p. 28–34, 2005.

FERREIRA, O. O. et al. Essential Oil of the Plants Growing in the Brazilian Amazon: Chemical Composition, Antioxidants, and Biological Applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 8 jul. 2022.

FILHO, J. G. S. et al. A Chemical Marker Proposal for the *Lantana* genus: Composition of the Essential Oils from the Leaves of *Lantana radula* and *L. canescens*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 4, p. 1934578X1000500, abr. 2010.

FONSECA, M. C. M. et al. EFFECT OF DRYING TEMPERATURE ON THE YIELD AND PHYTOCHEMICAL QUALITY OF THE ESSENTIAL OIL OF PEPPER ROSEMARY (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH) AND OF CLOVE BASIL (*OCIMUM GRATISSIMUM* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 57107–57120, 2020.

FUENTES, C. et al. Effects of essential oil components exposure on biological parameters of *Caenorhabditis elegans*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 159, p. 112763, jan. 2022.

FURLANI, R. et al. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST PATHOGENS OF IMPORTANCE IN CAPRINE AND OVINE MASTITIS. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 702–708, set. 2021.

GIMENES, L. et al. Essential Oils of New *Lippia alba* Genotypes Analyzed by Flow-Modulated Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) and Chemometric Analysis. **Molecules**, v. 26, n. 8, p. 2332, 16 abr. 2021.

GNATTA, J. R. et al. Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 1, p. 127–133, fev. 2016.

GOMES, A. F. et al. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food Chemistry**, v. 273, p. 186–193, fev. 2019.

GÓMEZ-ORTE, E. et al. Effect of the diet type and temperature on the *C. elegans* transcriptome. **Oncotarget**, v. 9, n. 11, p. 9556–9571, 9 fev. 2018.

GÓMEZ-SEQUEDA, N. et al. Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Essential Oils against *Escherichia coli* O157:H7 and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 730, 24 out. 2020.

GOMIDE, M. E. M. A. et al. Uma abordagem geral da demência: Doença de Alzheimer e Demência Vascular. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 18, p. e11047, 3 out. 2022.

GRAY, J. C.; CUTTER, A. D. Mainstreaming *Caenorhabditis elegans* in experimental evolution. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1778, p. 20133055, 7 mar. 2014.

GREGORY, J. et al. Neuroprotective Herbs for the Management of Alzheimer’s Disease. **Biomolecules**, v. 11, n. 4, p. 543, 8 abr. 2021.

GUEDES DA PAZ, E. et al. Doenças neurodegenerativas em adultos e idosos: um estudo epidemiológico descritivo. **Revista Neurociências**, v. 29, p. 1–11, 18 set. 2021.

GUILHERME, E. O. et al. Jenipapo, *Genipa americana* L., essential oil and *Curvularia lunata* control: Potential mode-of-action; plant immune responses and selectivity against beneficial non-target organisms. **Industrial Crops and Products**, v. 199, p. 116708, set. 2023.

GUILLÍN, Y. et al. Effect of Essential Oils on the Inhibition of Biofilm and Quorum Sensing in *Salmonella enteritidis* 13076 and *Salmonella typhimurium* 14028. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1191, 1 out. 2021.

GUIMARÃES, L. H. D. S. et al. Chemical Composition and Cytotoxicity Evaluation of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) Leaves Essential Oil on Human Gingival Fibroblasts. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 4, p. 704–713, 4 jul. 2021.

HAMPEL, H. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. **Brain**, v. 141, n. 7, p. 1917–1933, 1 jul. 2018.

HAN, Y. et al. *ace-3* plays an important role in phoxim resistance in *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 4, p. 835–844, maio 2016.

HARDAN, L. et al. COVID-19 and Alzheimer's Disease: A Literature Review. **Medicina**, v. 57, n. 11, p. 1159, 25 out. 2021.

HARO-GONZÁLEZ, J. N. et al. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6387, 22 out. 2021.

HENRIQUE MONIZ, A. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil increases longevity and ameliorates  $\beta$ -amyloid peptide-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Natural Product Research**, p. 1–9, 2 dez. 2023.

History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. **WormBook**, p. 1–84, 7 set. 2017.

HOU, H. et al. Effects of *Origanum vulgare* essential oil and its two main components, carvacrol and thymol, on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. **PeerJ**, v. 8, p. e9626, 14 ago. 2020.

HUANG, X. et al. Neuroprotective Effects of Ginseng Phytochemicals: Recent Perspectives. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2939, 14 ago. 2019.

HUNT, P. R. The *C. elegans* model in toxicity testing. **Journal of Applied Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 50–59, jan. 2017.

HUSSAIN, M. et al. An ethno-botanical study of indigenous medicinal plants and their usage in rural valleys of Swabi and Hazara region of Pakistan. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e243811, 2022.

JANAÍNA S. PIRES et al. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. 2017.

JANNUZZI, H. et al. Avaliação agrônômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 412–417, dez. 2010.

JEDDI, M. et al. Antimicrobial, antioxidant,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of a chemically characterized essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.: in vitro and in silico investigations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 111, p. 104731, dez. 2023.

JOHNSON, C. A.; BEHBEHANI, R.; BUSS, F. Unconventional Myosins from *Caenorhabditis elegans* as a Probe to Study Human Orthologues. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, p. 1889, 16 dez. 2022.

JOHNSON, C. D.; HERMAN, R. K.; STERN, B. D. The Acetylcholinesterase Genes of *C. elegans*: Identification of a Third Gene (*ace-3*) and Mosaic Mapping of a Synthetic Lethal Phenotype. [s.d.].

JORGENSEN, E. M.; MANGO, S. E. The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans*. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 5, p. 356–369, 1 maio 2002.

JOSÉ-RITA, B. J. et al. Study of the chemical and in vitro cytotoxic activities of essential oils (EOs) of two plants from the Ivorian flora (*Lippia multiflora* and *Zingiber officinale*) and their antiviral activities against non-enveloped viruses. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 387–393, dez. 2022.

JOSHI, A. et al. Chemical Analysis and Antioxidant Activity of Essential Oils of Two Morphotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 3, p. 687–700, 4 maio 2018.

KALETTA, T.; HENGARTNER, M. O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 5, p. 387–399, maio 2006.

KARIM, MD. R. et al. A review on Impact of dietary interventions, drugs, and traditional herbal supplements on the gut microbiome. **Microbiological Research**, v. 271, p. 127346, jun. 2023.

KARIMI YAZDI, M. et al. Antiparasitic effects of *Zataria multiflora* essential oil nano-emulsion on larval stages of *Echinococcus granulosus*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, n. 2, p. 429–435, jun. 2020.

KE, W. et al. Genes in human obesity loci are causal obesity genes in *C. elegans*. **PLOS Genetics**, v. 17, n. 9, p. e1009736, 7 set. 2021.

KEIL, W. et al. Long-Term High-Resolution Imaging of Developing *C. elegans* Larvae with Microfluidics. **Developmental Cell**, v. 40, n. 2, p. 202–214, jan. 2017.

KHAN, F.; JAIN, S.; OLOKETUYI, S. F. Bacteria and bacterial products: Foe and friends to *Caenorhabditis elegans*. **Microbiological Research**, v. 215, p. 102–113, out. 2018.

KIM, D.-K.; KIM, T. H.; LEE, S.-J. Mechanisms of aging-related proteinopathies in *Caenorhabditis elegans*. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, n. 10, p. e263–e263, 7 out. 2016.

KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ; SZOPA; EKIERT. Citrus limon (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 119, 17 jan. 2020.

KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 33, 13 maio 2021.

KOBENAN, K. C. et al. Chemical Composition, Antioxidant Activity, Cholinesterase Inhibitor and *in Vitro* Insecticidal Potentiality of Essential Oils of *Lippia multiflora* Moldenke and *Eucalyptus globulus* Labill. on the Main Carpophagous Pests of Cotton Plant in Ivory Coast. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 4, abr. 2022.

KOLSON, D. L.; RUSSELL, R. L. New Acetylcholinesterase-Deficient Mutants of the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Neurogenetics**, v. 2, n. 2, p. 69–91, 1 jan. 1985.

KOMURA, T. et al. Protective effect of *Lactococcus laudensis* and *Pediococcus parvulus* against neuropathy due to amyloid-beta in *Caenorhabditis elegans*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 155, p. 113769, nov. 2022.

KOYAMA, S.; HEINBOCKEL, T. The Effects of Essential Oils and Terpenes in Relation to Their Routes of Intake and Application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1558, 25 fev. 2020.

KUMAR, A. et al. A pentacyclic triterpene from *Lippia organoides* H.B.K and its cytotoxic activity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 16, n. 5, p. 513, 2020.

KUNUGI; MOHAMMED ALI. Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4662, 20 set. 2019.

KURALKAR, P.; KURALKAR, S. V. Role of herbal products in animal production – An updated review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114246, out. 2021.

LADEIRA, G. D. A. et al. Chemical characterization, antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Lippia lacunosa*, a species used by the Bandeirantes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 312, p. 116473, ago. 2023.

LANZERSTORFER, P. et al. Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative in vitro and in vivo systems. **Archives of Toxicology**, v. 95, n. 2, p. 673–691, fev. 2021.

LASCURAIN-RANGEL, M. et al. Plantas americanas utilizadas como condimento en la cocina mexicana. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 93, p. e933949, 30 set. 2022.

LEAL-SÁENZ, A. et al. Comparison of the Toxicity of Mexican Oregano Oil from Two Locations on *Epilachna varivestis* Mulsant. **Southwestern Entomologist**, v. 44, n. 4, p. 877, 3 dez. 2019.

LEE, S. H. et al. Impaired Short-Term Plasticity in Mossy Fiber Synapses Caused by Mitochondrial Dysfunction of Dentate Granule Cells Is the Earliest Synaptic Deficit in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **The Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 17, p. 5953–5963, 25 abr. 2012.

LEITE, P. M. et al. Correlation of chemical composition and anticoagulant activity in different accessions of Brazilian *Lippia alba* (Verbenaceae). **Journal of Herbal Medicine**, v. 34, p. 100581, jul. 2022.

LEUNG, M. C. K. et al. *Caenorhabditis elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 106, n. 1, p. 5–28, nov. 2008.

LEYVA-JIMÉNEZ, F. J. et al. Functional Ingredients based on Nutritional Phenolics. A Case Study against Inflammation: *Lippia* Genus. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1646, 18 jul. 2019.

LI, M. et al. Inhibitory activities of flavonoids from *Eupatorium adenophorum* against acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. 104701, nov. 2020.

LI, W. et al. Alzheimer's disease and COVID-19: Interactions, intrinsic linkages, and the role of immunoinflammatory responses in this process. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1120495, 9 fev. 2023.

LIANG, J. J. H.; MCKINNON, I. A.; RANKIN, C. H. The contribution of *C. elegans* neurogenetics to understanding neurodegenerative diseases. **Journal of Neurogenetics**, v. 34, n. 3–4, p. 527–548, 1 out. 2020.

- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105912, jun. 2021.
- LINK, C. D. C. *C. elegans* models of age-associated neurodegenerative diseases: Lessons from transgenic worm models of Alzheimer's disease. **Experimental Gerontology**, v. 41, n. 10, p. 1007–1013, out. 2006.
- LLAMAS-TORRES, I. et al. Impacto del manejo in situ-ex situ del orégano mexicano (*Lippia origanoides* Kunth) en el noroeste de Yucatán. **Botanical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 610–630, 6 abr. 2022.
- LOGESH, R.; SATHASIVAMPILLAI, S. V. A triterpenoid saponin bacoside-A3 from the aerial parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. with acetylcholinesterase enzyme combating Alzheimer's disease. **South African Journal of Botany**, v. 156, p. 177–185, maio 2023.
- LOPES, F. F. D. S. et al. Plantas brasileiras com ação anticolinesterásica – uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e6211124262, 2 jan. 2022.
- LU, X.-X. et al. Chemical compositions and repellent activity of *Clerodendrum bungei* Steud. essential oil against three stored product insects. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 469–475, dez. 2021.
- LUCCA, L. G. et al. In vivo Acute Anti-Inflammatory Activity of Essential Oils: A Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 1495–1515, jun. 2022.
- LUU, H. N. et al. Are Dietary Antioxidant Intake Indices Correlated to Oxidative Stress and Inflammatory Marker Levels? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 22, n. 11, p. 951–959, 10 abr. 2015.
- MA, T. et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2. **Nature**, v. 603, n. 7899, p. 159–165, 3 mar. 2022.
- MACCIONI, A. et al. Antifungal activity and chemical composition of the essential oil from the aerial parts of two new *Teucrium capitatum* L. chemotypes from Sardinia Island, Italy. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 6007–6013, 17 dez. 2021.
- MACÊDO, C. A. F. et al. *Lippia origanoides* essential oil induces tocolytic effect in virgin rat uterus and inhibits writhing in a dysmenorrhea mouse model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 290, p. 115099, maio 2022.
- MACHADO, V. S. et al. *Achyrocline flaccida* essential oil from Brazil: phytochemical composition, genotoxicity, protective effects on *Caenorhabditis elegans*, and antimycobacterial activity. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5899–5903, 17 dez. 2021.
- MAHONEY, T. R.; LUO, S.; NONET, M. L. Analysis of synaptic transmission in *Caenorhabditis elegans* using an aldicarb-sensitivity assay. **Nature Protocols**, v. 1, n. 4, p. 1772–1777, nov. 2006.
- MALEŠ, Ž. et al. Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. **Acta Pharmaceutica**, v. 69, n. 4, p. 525–531, 1 dez. 2019.

MAMBRO, L. D.; SOUZA, N. V. D.; SILVA, W. M. B. D. Atividade de alcaloides inibidores da acetilcolinesterase no tratamento da doença de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1, 22 nov. 2022.

MAR, J. M. et al. Lippia organoides essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 292–297, jan. 2018.

MARKAKI, M.; TAVERNARAKIS, N. *Caenorhabditis elegans* as a model system for human diseases. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 63, p. 118–125, jun. 2020.

MARTÍNEZ, A. et al. Effect of Essential Oils on Growth Inhibition, Biofilm Formation and Membrane Integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1474, 30 nov. 2021.

MARTINEZ-FINLEY, E. J. et al. *C. elegans* and Neurodegeneration In *Caenorhabditis Elegans*: Anatomy, Life Cycles and Biological Functions. 2020.

MATHEWS, E. A. et al. Allele-specific suppression in *Caenorhabditis elegans* reveals details of EMS mutagenesis and a possible moonlighting interaction between the vesicular acetylcholine transporter and ERD2 receptors. **Genetics**, v. 218, n. 4, p. iyab065, 9 ago. 2021.

MATTAR, V. T. et al. Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, p. 105134, jul. 2022.

MENEZES, P. M. N. et al. Relaxant effect of *Lippia organoides* essential oil in guinea-pig trachea smooth muscle involves potassium channels and soluble guanylyl cyclase. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, p. 16–25, jun. 2018.

MEYER, D.; WILLIAMS, P. L. Toxicity Testing of Neurotoxic Pesticides in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 17, n. 5, p. 284–306, 4 jul. 2014.

MICIĆ, D. et al. Rosemary Essential Oils as a Promising Source of Bioactive Compounds: Chemical Composition, Thermal Properties, Biological Activity, and Gastronomical Perspectives. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2734, 9 nov. 2021.

MILLIKEN, W. TRADITIONAL MEDICINES AMONGST INDIGENOUS GROUPS IN RORAIMA, BRAZIL: A RETROSPECTIVE. **Ethnoscintia - Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology**, v. 6, n. 3, p. 116, 21 set. 2021.

MITTAL, R. P.; RANA, A.; JAITAK, V. Essential Oils: An Impending Substitute of Synthetic Antimicrobial Agents to Overcome Antimicrobial Resistance. **Current Drug Targets**, v. 20, n. 6, p. 605–624, 29 mar. 2019.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022a.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022b.

MOLLER, A. C. et al. Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of Essential Oil and Main Components from Leaves of *Aloysia polystachya* Harvested in Central Chile. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 131, 30 dez. 2020.

MONIZ, A. M. H. et al. Quimiotipos de *Lippia origanoides* Kunth na Amazonia e sua importância farmacológica: uma revisão. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 12, p. 15619–15671, 11 dez. 2023.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Chemical Composition and Biological Evaluation of the Essential Oil of the Leaves of *Psidium Striatulum* in the Amazon Region. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 385–390, jun. 2019a.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Biological Evaluation of Essential Oil from Green Fruits of *Psidium Striatulum* of the Roraima State, Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 379–384, jun. 2019b.

MONTEIRO, M. V. B. et al. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 378–382, maio 2007.

MONTEIRO, P. C. et al. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* against *Aeromonas* spp. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 2, p. 152–161, 4 mar. 2021.

MORENO, J. S. R. et al. In vitro propagation from nodal segments of *Lippia origanoides* (chemotype A). **Ciência Rural**, v. 52, n. 7, p. e20210323, 2022.

MORONI, P.; AIS, J.; O'LEARY, N. Las Verbenáceas comestibles de América: Una revisión bibliográfica. **Darwiniana, nueva serie**, v. 10, n. 1, p. 307–323, 2022.

MOTA, A. P. P.; DANTAS, J. C. P.; FROTA, C. C. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, 21 jun. 2018.

MOTTI, R.; BONANOMI, G.; DE FALCO, B. Wild and cultivated plants used in traditional alcoholic beverages in Italy: an ethnobotanical review. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 4, p. 1089–1106, abr. 2022.

NANDI, A. et al. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1–19, 11 nov. 2019.

NEBEL, R. A. et al. Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. **Alzheimer's & Dementia**, v. 14, n. 9, p. 1171–1183, set. 2018.

NEGI, G. C. S. et al. Ecology and Use of *Lantana camara* in India. **The Botanical Review**, v. 85, n. 2, p. 109–130, jun. 2019.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461–477, 1 mar. 2007.

NIGON, V.; DOUGHERTY, E. C. Reproductive patterns and attempts at reciprocal crossing of *Rhabditis elegans* maupas, 1900, and *Rhabditis briggsae* Dougherty and nigon,

1949 (Nematoda: Rhabditidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 112, n. 3, p. 485–503, dez. 1949.

NONET, M. L. et al. Synaptic Transmission Deficits in *Caenorhabditis elegans* Synaptobrevin Mutants. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 70–80, 1 jan. 1998.

OH, K.; KIM, H. Aldicarb-induced Paralysis Assay to Determine Defects in Synaptic Transmission in *Caenorhabditis elegans*. **BIO-PROTOCOL**, v. 7, n. 14, 2017.

OLDFIELD, E.; LIN, F.-Y. Terpene Biosynthesis: Modularity Rules. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 5, p. 1124–1137, 27 jan. 2012.

O'LEARY, N. et al. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept: *Lippia* Section *GONIostachyum*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 170, n. 2, p. 197–219, out. 2012.

O'LEARY, N.; CARDOSO, P. H.; SCHAEFER, J. Fátima Regina G. Salimena. 2020.

OLIVEIRA, A. P. et al. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33–38, out. 2018.

OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia organoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 206–214, mar. 2014.

OLIVEIRA, M. C. et al. Influence of *Lippia thymoides* Mart. & Schauer and *Lippia organoides* Kunth essential oils on planktonic cell and *Streptococcus mutans* biofilm growth. [s.d.].

OLIVEIRA, T. A. S. et al. Antibacterial, Antiparasitic, and Cytotoxic Activities of Chemical Characterized Essential Oil of *Chrysopogon zizanioides* Roots. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, p. 967, 5 ago. 2022.

OPPERMAN, C. H.; CHANG, S. Effects of Aldicarb and Fenamiphos on Acetylcholinesterase and Motility of *Caenorhabditis elegans*. [s.d.].

ORTEGA-CUADROS, M. et al. Essential oils biological activity of the shrub *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. Biol. Trop.**, v. 68, 2020.

OUKERROU, M. A. et al. Differential Cytotoxic Activity of Essential Oil of *Lippia citriodora* from Different Regions in Morocco. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 7, p. e1600497, jul. 2017.

PASCHALIDIS, M. et al. Trends in mortality from Alzheimer's disease in Brazil, 2000-2019. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 32, n. 2, p. e2022886, 2023.

PATEL, S. S. et al. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. **Reviews in the Neurosciences**, v. 29, n. 5, p. 491–529, 26 jul. 2018.

PAUL, D. et al. *Caenorhabditis elegans* as a possible model to screen anti-Alzheimer's therapeutics. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 106, p. 106932, nov. 2020.

PAULETTI, G. F.; SILVESTRE, W. P. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento. [s.d.].

PENHA, T. et al. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 299, p. 109584, nov. 2021.

PEREIRA, E. J. P. et al. Circadian Rhythm, and Antimicrobial and *Anticholinesterase* Activities of Essential Oils from *Vitex gardneriana*. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 5, p. 1934578X1801300, maio 2018.

PEREIRA, P. S. et al. Cytotoxicity of Essential Oil *Cordia verbenaceae* against *Leishmania brasiliensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4485, 25 jul. 2021.

PERERA, W. H. et al. In Vitro Pharmacological Screening of Essential Oils from *Baccharis parvidentata* and *Lippia organoides* Growing in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1926, 16 mar. 2022.

PÉREZ ZAMORA, C.; TORRES, C.; NUÑEZ, M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from *Verbenaceae* Species Growing in South America. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 544, 1 mar. 2018.

PERGOLIZZI, J. V. et al. The role and mechanism of action of menthol in topical analgesic products. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 43, n. 3, p. 313–319, jun. 2018.

PHUYAL, N. et al. In Vitro Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Fruits, Seeds, and Bark of *Zanthoxylum armatum* DC. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2020, p. 1–7, 4 jun. 2020.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, jun. 2015.

PITCHAI, A. et al. Molecular interaction of human acetylcholinesterase with trans-tetraphostachin and derivatives for Alzheimer's disease. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e04930, set. 2020.

PLANT, R. M. et al. The Essentials of Essential Oils. **Advances in Pediatrics**, v. 66, p. 111–122, ago. 2019.

PORSTEINSSON, A. P. et al. Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. **The Journal Of Prevention of Alzheimer's Disease**, p. 1–16, 2021.

POSTU, P. A. et al. Memory-Enhancing Effects of *Origanum majorana* Essential Oil in an Alzheimer's Amyloid beta1-42 Rat Model: A Molecular and Behavioral Study. **Antioxidants**, v. 9, n. 10, p. 919, 26 set. 2020.

PURI, A. V. DURANTA REPENS LINN. (VERBENACEAE): A COMPREHENSIVE REVIEW OF PHARMACOGNOSTIC, ETHNOMEDICINAL, PHARMACOLOGICAL, AND PHYTOCHEMICAL ASPECTS. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91, 7 nov. 2018.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya

vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, n. 2, p. 107–109, jun. 2010.

RAMSEY, J. T. et al. Essential Oils and Health. [s.d.].

REDZA-DUTORDOIR, M.; AVERILL-BATES, D. A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 12, p. 2977–2992, dez. 2016.

REIS, J. B. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342–363, 2020.

REITH, W. Neurodegenerative Erkrankungen. **Der Radiologe**, v. 58, n. 3, p. 241–258, mar. 2018.

REYES-BECERRIL, M. et al. Composition, antioxidant capacity, intestinal, and immunobiological effects of oregano (*Lippia palmeri* Watts) in goats: preliminary in vitro and in vivo studies. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 1, p. 101, mar. 2021.

RIBEIRO, A. F. et al. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia origanoides* Kunth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 249–259, ago. 2014.

RIBEIRO, F. P. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the *Lippia origanoides* Kunth Essential Oil from the Carajás National Forest, Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–8, 19 out. 2021.

RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, Á. et al. **Lippia spp. Essential Oil as a Control Agent against Acanthoscelides obtectus, an Insect Pest in Phaseolus vulgaris Beans.** Proceedings of The 1st International Electronic Conference on Plant Science. **Anais... Em: THE 1ST INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON PLANT SCIENCE.** Sciforum.net: MDPI, 1 dez. 2020. Disponível em: <<http://sciforum.net/conference/IECPS2020/paper/8767>>. Acesso em: 3 jul. 2023

ROSANI, D. C. D. O. A. et al. Essential oil composition, antifungal activity and leaf anatomy of *Lippia alba* (Verbenaceae) from Brazilian Chaco. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, n. 4, p. 79–88, 25 fev. 2019.

ROSEN, R. S.; YARMUSH, M. L. Current Trends in Anti-Aging Strategies. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 25, n. 1, p. 363–385, 8 jun. 2023.

RUDNICKA-DROŻAK, E. et al. Links between COVID-19 and Alzheimer's Disease—What Do We Already Know? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 2146, 25 jan. 2023.

RUSZKIEWICZ, J. A. et al. *C. elegans* as a model in developmental neurotoxicology. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 354, p. 126–135, set. 2018.

S. DE OLIVEIRA, A. et al. Investigation of Antioxidant Activity, Acute Toxicity and Anticholinesterasic Potential of *Lippia hirta* (Verbenaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 2, p. 432–448, 2019.

SAGBO, I.; MBENG, W. Are plants used in the Eastern Cape province for cosmetics fully commercialized? **Indian Journal of Pharmacology**, v. 51, n. 3, p. 140, 2019.

SAIDI, I. et al. Anti-tyrosinase, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of extracts and phytochemicals from the Tunisian *Citharexylum spinosum* L.: Molecular docking and SAR analysis. **Bioorganic Chemistry**, v. 102, p. 104093, set. 2020.

SALEHI, B. et al. Tagetes spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2847, 1 nov. 2018.

SALES, G. et al. Antifungal and Modulatory Activity of Lemon Balm (*Lippia alba* (MILL.) N. E. BROWN) Essential Oil. **Scientia Pharmaceutica**, v. 90, n. 2, p. 31, 11 maio 2022.

SAMBA, N. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lippia multiflora* Moldenke Essential Oil from Different Regions of Angola. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 155, 31 dez. 2020.

SANTOS, D. R. et al. Insecticidal activity of essential oils of species from the genus *Lippia* against *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v. 67, n. 2, p. 292, 30 jun. 2020.

SANTOS FILHO, L. G. A. D. et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Lippia alba* and *Lippia organoides*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, n. 1, p. e20220359, 2023.

SATHYA, S. et al. Phytol-loaded PLGA nanoparticle as a modulator of Alzheimer's toxic A $\beta$  peptide aggregation and fibrillation associated with impaired neuronal cell function. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, p. 1–12, 25 out. 2017.

SCHELTENS, P. et al. Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 397, n. 10284, p. 1577–1590, abr. 2021.

SCHETINGER, M. R. C. et al. Combined exposure to methylmercury and manganese during L1 larval stage causes motor dysfunction, cholinergic and monoaminergic up-regulation and oxidative stress in L4 *Caenorhabditis elegans*. **Toxicology**, v. 411, p. 154–162, jan. 2019.

SCOLA, R. H.; WERNECK, L. C.; FRANCO, C. R. C. Corpos de inclusão citoplasmática: estudo em diversas doenças e revisão da literatura. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 54, n. 2, p. 245–259, jun. 1996.

SERRANO-SAIZ, E. et al. Modular Organization of *Cis* -regulatory Control Information of Neurotransmitter Pathway Genes in *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v. 215, n. 3, p. 665–681, 1 jul. 2020.

SHARIFI-RAD, M. et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review: Carvacrol and Human Health. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 9, p. 1675–1687, set. 2018.

SIEBURTH, D. et al. Systematic analysis of genes required for synapse structure and function. **Nature**, v. 436, n. 7050, p. 510–517, 28 jul. 2005.

SILVA, H. N. P. D. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia organoides* in Tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20181059, 2019a.

SILVA, M. E. T. D. et al. Extraction, Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia origanoides* Kunth from Northeast Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210480, 2022.

SILVA, S. G. et al. Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. **PLOS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0213393, 8 mar. 2019b.

SILVA-TRUJILLO, L. et al. Essential Oils from Colombian Plants: Antiviral Potential against Dengue Virus Based on Chemical Composition, In Vitro and In Silico Analyses. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6844, 12 out. 2022.

SIMAMORA, A. et al. Antioxidant Activity, Enzyme Inhibition Potentials, and Phytochemical Profiling of *Premna serratifolia* L. Leaf Extracts. **International Journal of Food Science**, v. 2020, p. 1–11, 24 set. 2020.

SMITH, D. G.; CAPPAL, R.; BARNHAM, K. J. The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid  $\beta$  peptide. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1768, n. 8, p. 1976–1990, ago. 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002.

SOMBRA, K. E. S. et al. Selectivity of essential oils to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 53, 2022.

SOMMANO, S. R. et al. The Cannabis Terpenes. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5792, 8 dez. 2020.

SOUSA, F. D. C. A. et al. Atividade antioxidante in vitro de *Lippia origanoides* H.B.K. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e2810816716, 18 jul. 2021.

SOUTO DA SILVA, N. I. et al. Effect of *Lippia alba* hay as phytogetic feed additive on the lactation performance, milk composition, and rumen and blood parameters of Alpine goats. **Small Ruminant Research**, v. 215, p. 106767, out. 2022.

SOUZA, A. V. D.; VIEIRA, M. R. D. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 22 fev. 2018.

SOUZA, J. D.; GOTTFRIED, C. Muscle injury: Review of experimental models. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 23, n. 6, p. 1253–1260, dez. 2013.

SOUZA, L. M. et al. Essential oil composition in natural population of *Lippia origanoides* (Verbenaceae) during dry and rainy seasons. **Revista de Biología Tropical**, v. 67, n. 1, 31 jan. 2019.

SPYRIDOPOULOU, K. et al. Antitumor Potential of *Lippia citriodora* Essential Oil in Breast Tumor-Bearing Mice. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 875, 30 maio 2021.

SRIVASTAVA, N. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Artemisia maderaspatana* essential oil. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 11, p. 1677–1683, 2 nov. 2015.

SRIVASTAVA, S.; AHMAD, R.; KHARE, S. K. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 216, p. 113320, abr. 2021.

STARICH, T. A.; HERMAN, R. K.; SHAW, J. E. Molecular and genetic analysis of *unc-7*, a *Caenorhabditis elegans* gene required for coordinated locomotion. **Genetics**, v. 133, n. 3, p. 527–541, 1 mar. 1993.

SULSTON, J. E.; HORVITZ, H. R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. **Developmental Biology**, v. 56, n. 1, p. 110–156, mar. 1977.

TAHA, M. et al. Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent. **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 3, p. 101401, maio 2021.

TEIXEIRA, M. L. et al. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 143–153, 4 mar. 2023.

TELES, A. M. et al. Aniba rosaeodora (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 24, 30 dez. 2020.

TISSENBAUM, H. A. Using *C. elegans* for aging research. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 59, n. sup1, p. 59–63, 30 jan. 2015.

TIWARI, S. et al. Nanoencapsulated *Lippia origanoides* essential oil: physiochemical characterisation and assessment of its bio-efficacy against fungal and aflatoxin contamination as novel green preservative. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 4, p. 2216–2225, abr. 2022.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 999–1010, 31 maio 2016.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020a.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020b.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021a.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021b.

TROILO, D. et al. IMI – Report on Experimental Models of Emmetropization and Myopia. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 60, n. 3, p. M31, 28 fev. 2019.

TRUJILLO-MAYOL, I. et al. Western Dietary Pattern Antioxidant Intakes and Oxidative Stress: Importance During the SARS-CoV-2/COVID-19 Pandemic. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 670–681, maio 2021.

UDDIN, MD. S. et al. Nootropic and Anti-Alzheimer's Actions of Medicinal Plants: Molecular Insight into Therapeutic Potential to Alleviate Alzheimer's Neuropathology. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 7, p. 4925–4944, jul. 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINA GERAIS et al. Seasonal variation of essential oil of germplasm of *Lippia organoides* Kunth. (Verbenaceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 21, n. 6, p. 716–724, 30 nov. 2022.

VAHDATI NIA, B. et al. Meta Analysis of Human AlzGene Database: Benefits and Limitations of Using *C. elegans* for the Study of Alzheimer's Disease and Co-morbid Conditions. **Frontiers in Genetics**, v. 8, p. 55, 12 maio 2017.

VAN PELT, K. M.; TRUTTMANN, M. C. *Caenorhabditis elegans* as a model system for studying aging-associated neurodegenerative diseases. **Translational Medicine of Aging**, v. 4, p. 60–72, 2020.

VASHLISHAN, A. B. et al. An RNAi Screen Identifies Genes that Regulate GABA Synapses. **Neuron**, v. 58, n. 3, p. 346–361, maio 2008.

VEGA-VELA, N. E.; DELGADO-ÁVILA, W. A.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia organoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. 2013.

VIJAYAKUMAR, S. et al. Novel ligand-based docking; molecular dynamic simulations; and absorption, distribution, metabolism, and excretion approach to analyzing potential acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 8, n. 6, p. 413–420, dez. 2018.

VILELA, D. A. D. et al. *Lippia alnifolia* essential oil induces relaxation on Guinea-pig trachea by multiple pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, p. 112162, jan. 2020.

WAGNER, L. S. et al. Insecticidal, fungicidal, phytotoxic activity and chemical composition of *Lavandula dentata* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102092, ago. 2021.

WANG, C. et al. **A neurotransmitter atlas of the nervous system of *C. elegans* males and hermaphrodites**. , 20 mar. 2024. Disponível em: <<https://elifesciences.org/reviewed-preprints/95402v1>>. Acesso em: 2 maio. 2024

WANI, A. R. et al. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, p. 104620, mar. 2021.

World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. [s.d.].

WU, Z. et al. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2 ago. 2019.

XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; SPINOSA, H. D. S. Toxicologia do praguicida aldicarb (“chumbinho”): aspectos gerais, clínicos e terapêuticos em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1206–1211, ago. 2007.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. COVID-19 and Alzheimer’s disease: how one crisis worsens the other. **Translational Neurodegeneration**, v. 10, n. 1, p. 15, dez. 2021.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. C. Extracellular vesicles, from the pathogenesis to the therapy of neurodegenerative diseases. **Translational Neurodegeneration**, v. 11, n. 1, p. 53, 12 dez. 2022.

XIE, J.; VAN HOECKE, L.; VANDENBROUCKE, R. E. The Impact of Systemic Inflammation on Alzheimer’s Disease Pathology. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 796867, 6 jan. 2022.

XU, X. et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, ago. 2021.

ZAPATA-ZAPATA, C. et al. In Vitro Activity of Essential Oils Distilled from Colombian Plants against *Candida auris* and Other *Candida* Species with Different Antifungal Susceptibility Profiles. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6837, 12 out. 2022.

ZHANG, C. et al. Oxidative stress: A common pathological state in a high-risk population for osteoporosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 163, p. 114834, jul. 2023.

ZHANG, L.; GU, B.; WANG, Y. Clove essential oil confers antioxidant activity and lifespan extension in *C. elegans* via the DAF-16/FOXO transcription factor. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 242, p. 108938, abr. 2021.

ZHANG, Y. et al. Comparative genomics and functional study of lipid metabolic genes in *Caenorhabditis elegans*. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 164, dez. 2013.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Larvicidal activity of two Algerian Verbenaceae essential oils against *Culex pipiens*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2–4, p. 370–373, set. 2011.

## CONCLUSÃO

Neste estudo, usamos o nematódeo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como modelo *in vivo* para analisar a atividade biológica do óleo essencial de *Lippia sidoides* (EOLO), por ser um modelo amplamente utilizado em pesquisas de laboratório, por ser uma ferramenta poderosa para o estudo dos mecanismos das doenças neurodegenerativas, devido à sua facilidade de manipulação genética e ciclo de vida curto, estrutura simples e grande homologia com mamíferos, ao mesmo tempo em que fornece um sistema de todo o animal passível de inúmeras técnicas moleculares e bioquímicas. Além disso, *C. elegans* pode ser prontamente induzido por edição de genes para expressar o peptídeo  $\beta$ -amiloide humana (A $\beta$ 1-42) humana em suas células musculares.

Dessa forma avaliamos os efeitos do óleo essencial de *Lippia origanoides* (EOLO) *in vitro* e *in vivo* (*C. elegans*), analisamos alguns parâmetros comportamentais de *C. elegans* tais como toxicidade, batimento faríngeo, curvatura e tamanho corporal, devido esses experimentos serem importantes na qualidade de vida do animal, além de experimentos de resistência ao estresse, taxa de sobrevivência em condição de estresse, expectativa de vida, paralisia induzida pelo peptídeo  $\beta$ -amiloide humano (CL2006), paralisia em comparação com o Aldicarbee, inibição da AChE, com o objetivo de investigar se o EOLO tem efeito protetor no modelo *C. elegans* para doença de Alzheimer.

- A composição química do EOLO extraído das folhas frescas de *Lippia origanoides* é rico em monoterpene (46%), sesquiterpene (8%) e hidrocarbonetos aromáticos (4%), reconhecidos pela riqueza de atividades biológicas.
- Os compostos majoritários do EOLO foram carvacrol, timol, para-cimeno e (E)-cariofileno, substâncias reconhecidas pelo seu poder antioxidante e reconhecida no *C. elegans*.
- O EOLO demonstrou atividade bacteriostática ou bactericida;
- O EOLO, não apresentou toxicidade, nas concentrações de 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg/mL para o *C. elegans*, uma vez que não interferiu nos parâmetros de desenvolvimento dos animais (letalidade, batimento faríngeo, curvatura, tamanho corporal).
- Todos os experimentos realizados neste trabalho, os vermes tratados com o EOLO, comparados com os grupos controles sem tratamento CNT (OP50) e DMSO-0.1%, sem que apresentassem diferenças estatísticas.
- O EOLO demonstrou sua capacidade antioxidante e antienvhecimento, no *C. elegans*.

- O EOLO mostrou efeito protetor contra a agregação anormal da proteína A $\beta$ 1-42, presente no musculo do *C. elegans*
- O EOLO diminui a paralisia induzida pelo peptídeo  $\beta$ -amilóide humano nos modelos *C. elegans* para a doença de Alzheimer. Os resultados do ensaio de paralisia induzida por  $\beta$ -amilóide em vermes transgênicos (CL 2006) mostraram que o EOLO não teve efeito na vida útil dos nematoides, sendo sugerido que as concentrações utilizadas não eram tóxicas para os vermes.
- O EOLO foi capaz diminuir os níveis ROs em animais tipo selvagem tanto em condições normais e de estresse oxidativo,
- O EOLO também foi capaz diminuir os níveis ERO em animais que expressam o peptídeo  $\beta$ -amilóide. Além disso, Foi observado que os vermes tratados com o EOLO paralisaram antes que os grupos sem tratamento e DMSO-0,1%, obtendo resultados não significativos. Este fato pode ser em decorrência do acúmulo da  $\beta$ -amilóide no músculo dos vermes bem como o aumento de concentração da ACh nos vermes devido a inibição da AChE, por isso, sugere-se que estes dois fatores podem contribuir para a paralisia mais acelerada do verme.
- O EOLO demonstrou inibição da enzima AChE, em concentrações mais elevadas (2.0, 5.0, 10.0 e 20.0 mg.mL<sup>-1</sup>), no *C. elegans*, uma vez que foi identificada paralisia, nessas concentrações. No entanto, na concentração de 20.0 mg/mL o verme paralisou totalmente ao mesmo tempo que o aldicarbe, com aproximadamente 9 h de tratamento.
- Nos resultados com bactéria morta confirmaram a paralisia do *C. elegans*, unicamente na concentração de 20.0 mg.mL<sup>-1</sup>, reafirmando a patogenicidade da *E. coli* para o *C. elegans*.
- Para a IC50 foi realizada uma curva de inibição da AChE, para a enzima comercial de *E. Electricus*, nas concentrações de 9,6x10<sup>-1</sup> a 9,6x10<sup>-6</sup> mg.mL<sup>-1</sup>, obtidas a partir da concentração do composto majoritário, carvacrol, presente no EOLO, por diluição seriada. A IC50 obtida foi de 0.001771 mg.mL<sup>-1</sup>
- A IC50 do homogenato obtido dos animais tratados com com EOLO foi obtida pela curva de inibição da AChE, nas concentrações .005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup> e comparadas com os controles não tratados CNT e DMSO-0.1%, sob condições laboratoriais padrão. A IC50 do homogenato de *C. elegans* foi de 0.5345 mg.mL<sup>-1</sup>. A atividade de inibição da enzima AChE no *C. elegans* e concentrações 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup> foi de 16.25, 32.75, 44.22 e 77.73%, respectivamente, de forma dependente da concentração de exposição do *C. elegans* ao EOLO.

- Na inibição da enzima AChE (concentrações 0.1, 0.25, 0.5 e 1.0 mg.mL<sup>-1</sup>), verifica-se atividade, nas primeiras duas horas de leitura do tratamento do *C. elegans* com o EOLO, mesmo não sendo uma diferença significativa, é importante por demonstrar que inibição da AChE inicia com 2 horas de tratamento no *C. elegans* com o EOLO. Sendo assim, os resultados mostraram que atividade de inibição da AchE aumenta ao longo do tempo de exposição, de modo dose-dependente.
- Em resumo, os resultados desta pesquisa sugerem que OELO apresentou atividade antioxidante, proteção contra proteínas anormais em vermes com a  $\alpha$ -amilóide de forma a diminuir a paralisia induzida pelo peptídeo  $\beta$ -amilóide humano nos modelos *C. elegans*, para a doença de Alzheimer, possui atividade antienvhecimento e inibidor da enzima AChE *in vitro* e *in vivo*, no *C. elegans*.

Os resultados eficazes do EOLO sugerem que produtos naturais como os óleos essenciais, utilizados desde o início da humanidade, possuem efeito terapêutico, provavelmente por efeitos sinérgicos entre moléculas as presentes nos óleos essenciais, como foi demonstrado, neste trabalho. Estes resultados, instiga a busca de novas metodologias para desenvolver estratégias de tratamento para doença de Alzheimer utilizando tratamentos com o OELO *in natura*, da mesma forma que procurar melhorar esses efeito do EOLO, com um nanoencapsulamento. Este trabalho forneceu uma contribuição valiosa para estudos adicionais em mamíferos e em humanos, já que a *Lippia origanoides* é uma planta que está inserida no caderno de fitoterápicos dos SUS, o que leva a crer que não apresenta toxicidade em humanos. De acordo com os resultados apresentados, podemos sugerir que o EOLO pode se tornar um potente agente farmacológico contra a demência, promovendo ação antioxidante e, conseqüentemente, melhorando a vida e a saúde do *C. elegans*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBISHER, D. et al. Essential Oils of Seven Lamiaceae Plants and Their Antioxidant Capacity. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3793, 22 jun. 2021.

AGGARWAL, N. T.; MIELKE, M. M. Sex Differences in Alzheimer's Disease. **Neurologic Clinics**, v. 41, n. 2, p. 343–358, maio 2023.

AGNELLO, L.; CIACCIO, M. Neurodegenerative Diseases: From Molecular Basis to Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 12854, 25 out. 2022.

AHMED, S. et al. Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111609, jul. 2021.

AIDI WANNES, W. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 1362–1370, maio 2010.

AKRAM, M.; NAWAZ, A. Effects of medicinal plants on Alzheimer's disease and memory deficits. **Neural Regeneration Research**, v. 12, n. 4, p. 660, 2017.

ALEXANDER, A. G.; MARFIL, V.; LI, C. Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 5 set. 2014.

ALFONSO, A. et al. The *Caenorhabditis elegans unc-17* Gene: a Putative Vesicular Acetylcholine Transporter. **Science**, v. 261, n. 5121, p. 617–619, 30 jul. 1993.

ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018a.

ALMEIDA, M. C. et al. Genetic diversity and chemical variability of *Lippia* spp. (Verbenaceae). **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 725, dez. 2018b.

ALMOHAMMED, H. I.; ALKHAIBARI, A. M.; ALANAZI, A. D. Antiparasitic effects of *Elettaria cardamomum* L. essential oil and its main compounds, 1-8 Cineole alone and in combination with albendazole against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 2811–2818, abr. 2022.

ANANDAKUMAR, P.; KAMARAJ, S.; VANITHA, M. K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 1, jan. 2021.

APOSTOLAKOU, A. E. et al. Exploring the conservation of Alzheimer-related pathways between *H. sapiens* and *C. elegans*: a network alignment approach. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 4572, 25 fev. 2021.

ARAGÃO, M. I. D. C. et al. O uso de óleos essenciais associado à fisioterapia para o alívio da dor na dismenorreia: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e30101119308, 22 ago. 2021.

ARIZA NIETO, C.; ORTIZ, R. E.; TELLEZ, G. A. EFFECT OF TWO CHEMOTYPES OF OREGANO ESSENTIAL OIL ON BROILER PERFORMANCE, NUTRIENT BALANCE, AND LIPID PEROXIDATION OF BREAST MEAT DURING STORAGE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, n. 0, 4 out. 2018.

ARRUDA, H. S. et al. Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. **Journal of Functional Foods**, v. 75, p. 104203, dez. 2020.

ASHRAFIAN, H.; ZADEH, E. H.; KHAN, R. H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 382–394, jan. 2021.

AYAZ, M. et al. Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, p. 168, 30 maio 2017.

BANDEIRA JUNIOR, G. et al. Plant essential oils against bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia origanoides*. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20190064, 2019.

BARRETO, F. S. et al. Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn. and *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceara, Brazil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 1, p. 42–44, jan. 2010.

BARROS, L. D. S. P. et al. Chemometric analysis of the seasonal variation in the essential oil composition and antioxidant activity of a new geraniol chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson from the Brazilian Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 105, p. 104503, dez. 2022.

BAUTISTA-HERNÁNDEZ, I. et al. Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5156, 25 ago. 2021.

BECKER, A. J. et al. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: a comparative approach between different essential oils. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, n. 0, 22 out. 2018.

BENNY, A.; THOMAS, J. Essential Oils as Treatment Strategy for Alzheimer's Disease: Current and Future Perspectives. **Planta Medica**, v. 85, n. 03, p. 239–248, fev. 2019.

BEZERRA FILHO, C. M. et al. Antimicrobial and Antivirulence Action of *Eugenia brejoensis* Essential Oil in vitro and in vivo Invertebrate Models. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 424, 19 mar. 2020.

BHATT, S.; PULI, L.; PATIL, C. R. Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 3, p. 794–803, mar. 2021.

BIAŁOŃ, M. et al. Chemical Composition of Two Different Lavender Essential Oils and Their Effect on Facial Skin Microbiota. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3270, 8 set. 2019.

BLANK, P. N.; SHINSKY, S. A.; CHRISTIANSON, D. W. Structure of Sesquisabinene Synthase 1, a Terpenoid Cyclase That Generates a Strained [3.1.0] Bridged-Bicyclic Product. **ACS Chemical Biology**, v. 14, n. 5, p. 1011–1019, 17 maio 2019.

BONCAN, D. A. T. et al. Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7382, 6 out. 2020.

BRAGA DE OLIVEIRA, M. I. et al. *In vitro* anthelmintic efficacy of essential oils in the control of *Neoechinorhynchus buttnerae*, an endoparasite of *Colossoma macropomum*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 5, p. 509–522, 3 set. 2021.

BRANDÃO, F. R. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 534, p. 736275, mar. 2021.

BRANDT, C. C. M. et al. Rosemary essential oil microemulsions as antimicrobial and antioxidant agent in tomato paste. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100295, out. 2023.

BRAZIL (ED.). **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. 1a. ed ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 8 dez. 2020.

BRICARELLO, P. A. et al. Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, ago. 2021.

BRITO, E. N. D. et al. Inteligência Artificial no diagnóstico de doenças neurodegenerativas: uma revisão sistemática de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e482101120004, 7 set. 2021.

BRITO, F. N. et al. Proliferation of human adipose tissue-derived stem cells stimulated by oil rich in thymol of *Lippia origanoides*. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 431–438, maio 2018.

BRNAWI, W. I. et al. Antimicrobial activity of leaf and bark cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in broth system and on celery. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 3, p. e13888, mar. 2019.

BROCHOT, A. et al. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. **Microbiology Open**, v. 6, n. 4, p. e00459, ago. 2017.

BURKHARDT, I. et al. Ancient plant-like terpene biosynthesis in corals. **Nature Chemical Biology**, v. 18, n. 6, p. 664–669, jun. 2022.

CABALLERO-GALLARDO, K. et al. Chemical Composition, Repellent Action, and Toxicity of Essential Oils from *Lippia origanoides*, *Lippia alba* Chemotypes, and *Pogostemon cablin* on Adults of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Insects**, v. 14, n. 1, p. 41, 31 dez. 2022.

CÁCERES, M. et al. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 147, 30 mar. 2020.

- CALDWELL, K. A.; WILLICOTT, C. W.; CALDWELL, G. A. Modeling neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Disease Models & Mechanisms**, v. 13, n. 10, p. dmm046110, 1 out. 2020.
- CANHOS, D. A. L. et al. The Importance of Biodiversity E-infrastructures for Megadiverse Countries. **PLOS Biology**, v. 13, n. 7, p. e1002204, 23 jul. 2015.
- CARDOSO, P. H. et al. Verbenaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 777–786, jun. 2018.
- CARDOSO, P. H. et al. An update of the Verbenaceae genera and species numbers. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 1, p. 80–86, 23 mar. 2021.
- CARDOSO, P. H.; SALIMENA, F. R. G. Notas taxonômicas em Verbenaceae da Flora do Brasil. **Hoehnea**, v. 46, n. 4, p. e032019, 2019.
- CARMEN, M. D. Frutas tropicales como fuentes de antioxidantes y sus perspectivas en la industria de bebidas. [s.d.].
- CARVALHO, A. C. B. et al. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 29–35, fev. 2018.
- CEARA STATE UNIVERSITY et al. Biotechnological potential of essential oils from different chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 21, n. 6, p. 725–736, 30 nov. 2022.
- CHAACHOUAY, N. et al. Poisonous medicinal plants used in the popular pharmacopoeia of the Rif, northern Morocco. **Toxicon**, v. 189, p. 24–32, jan. 2021.
- CHACÓN-VARGAS, K. F. et al. Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer and *Poliomintha longiflora* Gray) Essential Oils Induce Cell Death by Apoptosis in Leishmania (Leishmania) mexicana Promastigotes. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5183, 15 ago. 2022.
- CHEN, S.-Y. et al. Traditional Chinese Medicine: Role in Reducing  $\beta$ -Amyloid, Apoptosis, Autophagy, Neuroinflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunction of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 497, 22 abr. 2020a.
- CHEN, W. N. et al. Neuroprotective, neurite enhancing, and cholinesterase inhibitory effects of Lamiaceae family essential oils in Alzheimer's disease model. **Journal of Herbal Medicine**, v. 41, p. 100696, set. 2023.
- CHEN, X. et al. Essential Oil of *Acorus tatarinowii* Schott Ameliorates  $A\beta$ -Induced Toxicity in *Caenorhabditis elegans* through an Autophagy Pathway. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–11, 22 dez. 2020b.
- CHEN, Y. et al. Litchi flower essential oil balanced lipid metabolism through the regulation of DAF-2/IIS, MDT-15/SBP-1, and MDT-15/NHR-49 pathway. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 934518, 19 out. 2022.
- CHENG, Y.-J.; LIN, C.-H.; LANE, H.-Y. From Menopause to Neurodegeneration—Molecular Basis and Potential Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8654, 11 ago. 2021.

CHI, H.; CHANG, H.-Y.; SANG, T.-K. Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, p. 3082, 9 out. 2018.

CHU, K. O. et al. Pro-oxidative and Antioxidative Controls and Signaling Modification of Polyphenolic Phytochemicals: Contribution to Health Promotion and Disease Prevention? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 4026–4038, 7 maio 2014.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A UTILIZAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS PELA COMUNIDADE INDÍGENA DE VENTARRA ALTA- RS. 2014.

COMBES, D. et al. Multiple *ace* genes encoding acetylcholinesterases of *Caenorhabditis elegans* have distinct tissue expression. **European Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 3, p. 497–512, ago. 2003.

CORSI, A. K. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. **WormBook**, p. 1–31, 18 jun. 2015.

COULLAUD, J.; DUQUESNE, K.; IACAZIO, G. Extension of the Terpene Chemical Space: the Very First Biosynthetic Steps. **ChemBioChem**, v. 23, n. 9, 4 maio 2022.

COUTINHO, D. F.; TRAVASSOS, L. M. A.; DO AMARAL, F. M. M. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DE PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS EM COMUNIDADES INDÍGENAS NO ESTADO DO MARANHÃO - BRASIL. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, 30 jun. 2002.

CULETTO, E. et al. Structure and promoter activity of the 5' flanking region of *ace-1*, the gene encoding acetylcholinesterase of class A in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Molecular Biology**, v. 290, n. 5, p. 951–966, jul. 1999.

CUMMINGS, J. L.; TONG, G.; BALLARD, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 67, n. 3, p. 779–794, 12 fev. 2019.

DA SILVA, A. C. et al. Larvicidal activity, enzyme inhibitory effect, and molecular docking by essential oil, hydrolate, aqueous extract, and major compounds from the leaves of *Eugenia uniflora* against *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, v. 204, p. 117380, nov. 2023.

DA SILVA BARBOSA, D. C. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, set. 2020.

DAMASCENO, E. et al. NANO-ENCAPSULATION OF *Lippia organoides* KUNTH. ESSENTIAL OIL BY CHITOSAN-CAFFEIC ACID NANOGEL. **Química Nova**, 2019.

DAVIS, A. N.; TANIS, J. E. Measuring *Caenorhabditis elegans* Sensitivity to the Acetylcholine Receptor Agonist Levamisole. **Journal of Visualized Experiments**, n. 184, p. 64056, 7 jun. 2022.

DE ALBUQUERQUE LIMA, T. et al. Insecticidal activity of a chemotype VI essential oil from *Lippia alba* leaves collected at Caatinga and the major compound (1,8-cineole) against *Nasutitermes corniger* and *Sitophilus zeamais*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 177, p. 104901, ago. 2021.

DE ALMEIDA, W. S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham. (Verbenaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 236–240, dez. 2018.

DE CAMPOS, D. L. et al. Aniba canelilla (Kunth) Mez essential oil and its primary constituent, 1-nitro-2-phenylethane, inhibits acetylcholinesterase and reverse memory impairment in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 116036, mar. 2023.

DE FATIMA ALVES NONATO, C. et al. Comparative analysis of chemical profiles and antioxidant activities of essential oils obtained from species of *Lippia* L. by chemometrics. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132614, ago. 2022.

DE OLIVEIRA, I. C. et al. Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 3, p. 501–519, jun. 2022.

DE SOUZA, P. et al. Promising Medicinal Plants with Diuretic Potential Used in Brazil: State of the Art, Challenges, and Prospects. **Planta Medica**, v. 87, n. 01/02, p. 24–37, fev. 2021.

DEY, A. et al. Natural products against Alzheimer's disease: Pharmaco-therapeutics and biotechnological interventions. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 178–216, mar. 2017.

DINIZ DO NASCIMENTO, L. et al. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. **Biomolecules**, v. 10, n. 7, p. 988, 1 jul. 2020.

DONATO, R. et al. Antifungal activity of different essential oils against *Malassezia pathogenic* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 249, p. 112376, mar. 2020.

DOS SANTOS, R. C. et al. Influence of diurnal variation in the chemical composition and bioactivities of the essential oil from fresh and dried leaves of *Lantana camara*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, n. 3, p. 228–234, 4 maio 2019.

DUGGER, B. N.; DICKSON, D. W. Pathology of Neurodegenerative Diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 9, n. 7, p. a028035, jul. 2017.

DUQUE, J. E. et al. Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 20 fev. 2023.

EBLING FLORES, L.; ZAMIN, L. L. Potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do Canabidiol: relevância e perspectivas para o tratamento de doenças neurodegenerativas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 16, n. 2, p. 224, 27 out. 2017.

EDDIN, L. B. et al. Neuroprotective Potential of Limonene and Limonene Containing Natural Products. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4535, 27 jul. 2021.

EISENMENGER, L. B. et al. Vascular contributions to Alzheimer's disease. **Translational Research**, v. 254, p. 41–53, abr. 2023.

ELDUFANI, J.; BLAISE, G. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: A review of recent clinical applications. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 5, n. 1, p. 175–183, jan. 2019.

FALCO, A. D. et al. ALZHEIMER'S DISEASE: ETIOLOGICAL HYPOTHESES AND TREATMENT PERSPECTIVES. **Química Nova**, 2015.

FÉLIX, M.-A.; BRAENDLE, C. The natural history of *Caenorhabditis elegans*. **Current Biology**, v. 20, n. 22, p. R965–R969, nov. 2010.

FELIX, S. F. et al. Chemical Composition, Larvicidal Activity, and Enzyme Inhibition of the Essential Oil of *Lippia grata* Schauer from the Caatinga Biome against Dengue Vectors. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 250, 10 mar. 2021.

FERRAZ, E. D. O. et al. Seasonality effects on chemical composition, antibacterial activity and essential oil yield of three species of *Nectandra*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0204132, 18 set. 2018.

FERRAZ, M. P. S. et al. PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NO NORDESTE BRASILEIRO COM POTENCIAL FITOTERÁPICO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 2023.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, n. suppl 2, p. 28–34, 2005.

FERREIRA, O. O. et al. Essential Oil of the Plants Growing in the Brazilian Amazon: Chemical Composition, Antioxidants, and Biological Applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 8 jul. 2022.

FILHO, J. G. S. et al. A Chemical Marker Proposal for the *Lantana* genus: Composition of the Essential Oils from the Leaves of *Lantana radula* and *L. canescens*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 4, p. 1934578X1000500, abr. 2010.

FONSECA, M. C. M. et al. EFFECT OF DRYING TEMPERATURE ON THE YIELD AND PHYTOCHEMICAL QUALITY OF THE ESSENTIAL OIL OF PEPPER ROSEMARY (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH) AND OF CLOVE BASIL (*Ocimum gratissimum* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 57107–57120, 2020.

FUENTES, C. et al. Effects of essential oil components exposure on biological parameters of *Caenorhabditis elegans*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 159, p. 112763, jan. 2022.

FURLANI, R. et al. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST PATHOGENS OF IMPORTANCE IN CAPRINE AND OVINE MASTITIS. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, p. 702–708, set. 2021.

GIMENES, L. et al. Essential Oils of New *Lippia alba* Genotypes Analyzed by Flow-Modulated Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) and Chemometric Analysis. **Molecules**, v. 26, n. 8, p. 2332, 16 abr. 2021.

GNATTA, J. R. et al. Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 1, p. 127–133, fev. 2016.

- GOMES, A. F. et al. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food Chemistry**, v. 273, p. 186–193, fev. 2019.
- GÓMEZ-ORTE, E. et al. Effect of the diet type and temperature on the *C. elegans* transcriptome. **Oncotarget**, v. 9, n. 11, p. 9556–9571, 9 fev. 2018.
- GÓMEZ-SEQUEDA, N. et al. Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Essential Oils against *Escherichia coli* O157:H7 and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 730, 24 out. 2020.
- GOMIDE, M. E. M. A. et al. Uma abordagem geral da demência: Doença de Alzheimer e Demência Vascular. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 18, p. e11047, 3 out. 2022.
- GRAY, J. C.; CUTTER, A. D. Mainstreaming *Caenorhabditis elegans* in experimental evolution. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1778, p. 20133055, 7 mar. 2014.
- GREGORY, J. et al. Neuroprotective Herbs for the Management of Alzheimer’s Disease. **Biomolecules**, v. 11, n. 4, p. 543, 8 abr. 2021.
- GUEDES DA PAZ, E. et al. Doenças neurodegenerativas em adultos e idosos: um estudo epidemiológico descritivo. **Revista Neurociências**, v. 29, p. 1–11, 18 set. 2021.
- GUILHERME, E. O. et al. Jenipapo, *Genipa americana* L., essential oil and *Curvularia lunata* control: Potential mode-of-action; plant immune responses and selectivity against beneficial non-target organisms. **Industrial Crops and Products**, v. 199, p. 116708, set. 2023.
- GUILLÍN, Y. et al. Effect of Essential Oils on the Inhibition of Biofilm and Quorum Sensing in *Salmonella enteritidis* 13076 and *Salmonella typhimurium* 14028. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1191, 1 out. 2021.
- GUIMARÃES, L. H. D. S. et al. Chemical Composition and Cytotoxicity Evaluation of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) Leaves Essential Oil on Human Gingival Fibroblasts. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 4, p. 704–713, 4 jul. 2021.
- HAMPEL, H. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. **Brain**, v. 141, n. 7, p. 1917–1933, 1 jul. 2018.
- HAN, Y. et al. ace-3 plays an important role in phoxim resistance in *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 4, p. 835–844, maio 2016.
- HARDAN, L. et al. COVID-19 and Alzheimer’s Disease: A Literature Review. **Medicina**, v. 57, n. 11, p. 1159, 25 out. 2021.
- HARO-GONZÁLEZ, J. N. et al. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6387, 22 out. 2021.
- HENRIQUE MONIZ, A. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil increases longevity and ameliorates  $\beta$ -amyloid peptide-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Natural Product Research**, p. 1–9, 2 dez. 2023.

History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. **WormBook**, p. 1–84, 7 set. 2017.

HOU, H. et al. Effects of *Origanum vulgare* essential oil and its two main components, carvacrol and thymol, on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. **PeerJ**, v. 8, p. e9626, 14 ago. 2020.

HUANG, X. et al. Neuroprotective Effects of Ginseng Phytochemicals: Recent Perspectives. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2939, 14 ago. 2019.

HUNT, P. R. The *C. elegans* model in toxicity testing. **Journal of Applied Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 50–59, jan. 2017.

HUSSAIN, M. et al. An ethno-botanical study of indigenous medicinal plants and their usage in rural valleys of Swabi and Hazara region of Pakistan. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e243811, 2022.

JANAÍNA S. PIRES et al. Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. 2017.

JANNUZZI, H. et al. Avaliação agrônômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 412–417, dez. 2010.

JEDDI, M. et al. Antimicrobial, antioxidant,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of a chemically characterized essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.: in vitro and in silico investigations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 111, p. 104731, dez. 2023.

JOHNSON, C. A.; BEHBEHANI, R.; BUSS, F. Unconventional Myosins from *Caenorhabditis elegans* as a Probe to Study Human Orthologues. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, p. 1889, 16 dez. 2022.

JOHNSON, C. D.; HERMAN, R. K.; STERN, B. D. The Acetylcholinesterase Genes of *C. elegans*: Identification of a Third Gene (*ace-3*) and Mosaic Mapping of a Synthetic Lethal Phenotype. [s.d.].

JORGENSEN, E. M.; MANGO, S. E. The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans*. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 5, p. 356–369, 1 maio 2002.

JOSÉ-RITA, B. J. et al. Study of the chemical and in vitro cytotoxic activities of essential oils (EOs) of two plants from the Ivorian flora (*Lippia multiflora* and *Zingiber officinale*) and their antiviral activities against non-enveloped viruses. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 387–393, dez. 2022.

JOSHI, A. et al. Chemical Analysis and Antioxidant Activity of Essential Oils of Two Morphotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 3, p. 687–700, 4 maio 2018.

KALETTA, T.; HENGARTNER, M. O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 5, p. 387–399, maio 2006.

KARIM, MD. R. et al. A review on Impact of dietary interventions, drugs, and traditional herbal supplements on the gut microbiome. **Microbiological Research**, v. 271, p. 127346, jun. 2023.

- KARIMI YAZDI, M. et al. Antiparasitic effects of *Zataria multiflora* essential oil nano-emulsion on larval stages of *Echinococcus granulosus*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, n. 2, p. 429–435, jun. 2020.
- KE, W. et al. Genes in human obesity loci are causal obesity genes in *C. elegans*. **PLOS Genetics**, v. 17, n. 9, p. e1009736, 7 set. 2021.
- KEIL, W. et al. Long-Term High-Resolution Imaging of Developing *C. elegans* Larvae with Microfluidics. **Developmental Cell**, v. 40, n. 2, p. 202–214, jan. 2017.
- KHAN, F.; JAIN, S.; OLOKETUYI, S. F. Bacteria and bacterial products: Foe and friends to *Caenorhabditis elegans*. **Microbiological Research**, v. 215, p. 102–113, out. 2018.
- KIM, D.-K.; KIM, T. H.; LEE, S.-J. Mechanisms of aging-related proteinopathies in *Caenorhabditis elegans*. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, n. 10, p. e263–e263, 7 out. 2016.
- KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ; SZOPA; EKIERT. Citrus limon (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 119, 17 jan. 2020.
- KNOPMAN, D. S. et al. Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 33, 13 maio 2021.
- KOBENAN, K. C. et al. Chemical Composition, Antioxidant Activity, Cholinesterase Inhibitor and *in Vitro* Insecticidal Potentiality of Essential Oils of *Lippia multiflora* Moldenke and *Eucalyptus globulus* Labill. on the Main Carpophagous Pests of Cotton Plant in Ivory Coast. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 4, abr. 2022.
- KOLSON, D. L.; RUSSELL, R. L. New Acetylcholinesterase-Deficient Mutants of the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Neurogenetics**, v. 2, n. 2, p. 69–91, 1 jan. 1985.
- KOMURA, T. et al. Protective effect of *Lactococcus laudensis* and *Pediococcus parvulus* against neuropathy due to amyloid-beta in *Caenorhabditis elegans*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 155, p. 113769, nov. 2022.
- KOYAMA, S.; HEINBOCKEL, T. The Effects of Essential Oils and Terpenes in Relation to Their Routes of Intake and Application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1558, 25 fev. 2020.
- KUMAR, A. et al. A pentacyclic triterpene from *Lippia origanoides* H.B.K and its cytotoxic activity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 16, n. 5, p. 513, 2020.
- KUNUGI; MOHAMMED ALI. Royal Jelly and Its Components Promote Healthy Aging and Longevity: From Animal Models to Humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4662, 20 set. 2019.
- KURALKAR, P.; KURALKAR, S. V. Role of herbal products in animal production – An updated review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114246, out. 2021.

- LADEIRA, G. D. A. et al. Chemical characterization, antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Lippia lacunosa*, a species used by the Bandeirantes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 312, p. 116473, ago. 2023.
- LANZERSTORFER, P. et al. Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative in vitro and in vivo systems. **Archives of Toxicology**, v. 95, n. 2, p. 673–691, fev. 2021.
- LASCURAIN-RANGEL, M. et al. Plantas americanas utilizadas como condimento en la cocina mexicana. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 93, p. e933949, 30 set. 2022.
- LEAL-SÁENZ, A. et al. Comparison of the Toxicity of Mexican Oregano Oil from Two Locations on *Epilachna varivestis* Mulsant. **Southwestern Entomologist**, v. 44, n. 4, p. 877, 3 dez. 2019.
- LEE, S. H. et al. Impaired Short-Term Plasticity in Mossy Fiber Synapses Caused by Mitochondrial Dysfunction of Dentate Granule Cells Is the Earliest Synaptic Deficit in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **The Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 17, p. 5953–5963, 25 abr. 2012.
- LEITE, P. M. et al. Correlation of chemical composition and anticoagulant activity in different accessions of Brazilian *Lippia alba* (Verbenaceae). **Journal of Herbal Medicine**, v. 34, p. 100581, jul. 2022.
- LEUNG, M. C. K. et al. *Caenorhabditis elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 106, n. 1, p. 5–28, nov. 2008.
- LEYVA-JIMÉNEZ, F. J. et al. Functional Ingredients based on Nutritional Phenolics. A Case Study against Inflammation: *Lippia Genus*. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1646, 18 jul. 2019.
- LI, M. et al. Inhibitory activities of flavonoids from *Eupatorium adenophorum* against acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. 104701, nov. 2020.
- LI, W. et al. Alzheimer's disease and COVID-19: Interactions, intrinsic linkages, and the role of immunoinflammatory responses in this process. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1120495, 9 fev. 2023.
- LIANG, J. J. H.; MCKINNON, I. A.; RANKIN, C. H. The contribution of *C. elegans* neurogenetics to understanding neurodegenerative diseases. **Journal of Neurogenetics**, v. 34, n. 3–4, p. 527–548, 1 out. 2020.
- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105912, jun. 2021.
- LINK, C. D. *C. elegans* models of age-associated neurodegenerative diseases: Lessons from transgenic worm models of Alzheimer's disease. **Experimental Gerontology**, v. 41, n. 10, p. 1007–1013, out. 2006.
- LLAMAS-TORRES, I. et al. Impacto del manejo in situ-ex situ del orégano mexicano (*Lippia origanoides* Kunth) en el noroeste de Yucatán. **Botanical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 610–630, 6 abr. 2022.

LOGESH, R.; SATHASIVAMPILLAI, S. V. A triterpenoid saponin bacoside-A3 from the aerial parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. with acetylcholinesterase enzyme combating Alzheimer's disease. **South African Journal of Botany**, v. 156, p. 177–185, maio 2023.

LOPES, F. F. D. S. et al. Plantas brasileiras com ação anticolinesterásica – uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e6211124262, 2 jan. 2022.

LU, X.-X. et al. Chemical compositions and repellent activity of *Clerodendrum bungei* Steud. essential oil against three stored product insects. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 469–475, dez. 2021.

LUCCA, L. G. et al. In vivo Acute Anti-Inflammatory Activity of Essential Oils: A Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 1495–1515, jun. 2022.

LUU, H. N. et al. Are Dietary Antioxidant Intake Indices Correlated to Oxidative Stress and Inflammatory Marker Levels? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 22, n. 11, p. 951–959, 10 abr. 2015.

MA, T. et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2. **Nature**, v. 603, n. 7899, p. 159–165, 3 mar. 2022.

MACCIONI, A. et al. Antifungal activity and chemical composition of the essential oil from the aerial parts of two new *Teucrium capitatum* L. chemotypes from Sardinia Island, Italy. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 6007–6013, 17 dez. 2021.

MACÊDO, C. A. F. et al. *Lippia origanoides* essential oil induces tocolytic effect in virgin rat uterus and inhibits writhing in a dysmenorrhea mouse model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 290, p. 115099, maio 2022.

MACHADO, V. S. et al. *Achyrocline flaccida* essential oil from Brazil: phytochemical composition, genotoxicity, protective effects on *Caenorhabditis elegans*, and antimycobacterial activity. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5899–5903, 17 dez. 2021.

MAHONEY, T. R.; LUO, S.; NONET, M. L. Analysis of synaptic transmission in *Caenorhabditis elegans* using an aldicarb-sensitivity assay. **Nature Protocols**, v. 1, n. 4, p. 1772–1777, nov. 2006.

MALEŠ, Ž. et al. Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. **Acta Pharmaceutica**, v. 69, n. 4, p. 525–531, 1 dez. 2019.

MAMBRO, L. D.; SOUZA, N. V. D.; SILVA, W. M. B. D. Atividade de alcaloides inibidores da acetilcolinesterase no tratamento da doença de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1, 22 nov. 2022.

MAR, J. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 292–297, jan. 2018.

MARKAKI, M.; TAVERNARAKIS, N. *Caenorhabditis elegans* as a model system for human diseases. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 63, p. 118–125, jun. 2020.

MARTÍNEZ, A. et al. Effect of Essential Oils on Growth Inhibition, Biofilm Formation and Membrane Integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1474, 30 nov. 2021.

MARTINEZ-FINLEY, E. J. et al. C. elegans and Neurodegeneration In *Caenorhabditis Elegans*: Anatomy, Life Cycles and Biological Functions. 2020.

MATHEWS, E. A. et al. Allele-specific suppression in *Caenorhabditis elegans* reveals details of EMS mutagenesis and a possible moonlighting interaction between the vesicular acetylcholine transporter and ERD2 receptors. **Genetics**, v. 218, n. 4, p. iyab065, 9 ago. 2021.

MATTAR, V. T. et al. Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, p. 105134, jul. 2022.

MENEZES, P. M. N. et al. Relaxant effect of *Lippia organoides* essential oil in guinea-pig trachea smooth muscle involves potassium channels and soluble guanylyl cyclase. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, p. 16–25, jun. 2018.

MEYER, D.; WILLIAMS, P. L. Toxicity Testing of Neurotoxic Pesticides in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 17, n. 5, p. 284–306, 4 jul. 2014.

MICIĆ, D. et al. Rosemary Essential Oils as a Promising Source of Bioactive Compounds: Chemical Composition, Thermal Properties, Biological Activity, and Gastronomical Perspectives. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2734, 9 nov. 2021.

MILLIKEN, W. TRADITIONAL MEDICINES AMONGST INDIGENOUS GROUPS IN RORAIMA, BRAZIL: A RETROSPECTIVE. **Ethnoscintia - Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology**, v. 6, n. 3, p. 116, 21 set. 2021.

MITTAL, R. P.; RANA, A.; JAITAK, V. Essential Oils: An Impending Substitute of Synthetic Antimicrobial Agents to Overcome Antimicrobial Resistance. **Current Drug Targets**, v. 20, n. 6, p. 605–624, 29 mar. 2019.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022a.

MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, v. 36, n. 19, p. 5091–5107, 2 out. 2022b.

MOLLER, A. C. et al. Antioxidant and Anti-Proliferative Activity of Essential Oil and Main Components from Leaves of *Aloysia polystachya* Harvested in Central Chile. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 131, 30 dez. 2020.

MONIZ, A. M. H. et al. Quimiotipos de *Lippia organoides* Kunth na Amazonia e sua importância farmacológica: uma revisão. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 12, p. 15619–15671, 11 dez. 2023.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Chemical Composition and Biological Evaluation of the Essential Oil of the Leaves of *Psidium Striatulum* in the Amazon Region. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 385–390, jun. 2019a.

MONIZ ANA MARIA HENRIQUE et al. Biological Evaluation of Essential Oil from Green Fruits of *Psidium Striatulum* of the Roraima State, Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 379–384, jun. 2019b.

MONTEIRO, M. V. B. et al. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 378–382, maio 2007.

MONTEIRO, P. C. et al. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* against *Aeromonas* spp. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 2, p. 152–161, 4 mar. 2021.

MORENO, J. S. R. et al. In vitro propagation from nodal segments of *Lippia origanoides* (chemotype A). **Ciência Rural**, v. 52, n. 7, p. e20210323, 2022.

MORONI, P.; AIS, J.; O'LEARY, N. Las Verbenáceas comestibles de América: Una revisión bibliográfica. **Darwiniana, nueva serie**, v. 10, n. 1, p. 307–323, 2022.

MOTA, A. P. P.; DANTAS, J. C. P.; FROTA, C. C. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, 21 jun. 2018.

MOTTI, R.; BONANOMI, G.; DE FALCO, B. Wild and cultivated plants used in traditional alcoholic beverages in Italy: an ethnobotanical review. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 4, p. 1089–1106, abr. 2022.

NANDI, A. et al. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1–19, 11 nov. 2019.

NEBEL, R. A. et al. Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. **Alzheimer's & Dementia**, v. 14, n. 9, p. 1171–1183, set. 2018.

NEGI, G. C. S. et al. Ecology and Use of *Lantana camara* in India. **The Botanical Review**, v. 85, n. 2, p. 109–130, jun. 2019.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461–477, 1 mar. 2007.

NIGON, V.; DOUGHERTY, E. C. Reproductive patterns and attempts at reciprocal crossing of *Rhabditis elegans* maupas, 1900, and *Rhabditis briggsae* Dougherty and nigon, 1949 (Nematoda: Rhabditidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 112, n. 3, p. 485–503, dez. 1949.

NONET, M. L. et al. Synaptic Transmission Deficits in *Caenorhabditis elegans* Synaptobrevin Mutants. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 70–80, 1 jan. 1998.

OH, K.; KIM, H. Aldicarb-induced Paralysis Assay to Determine Defects in Synaptic Transmission in *Caenorhabditis elegans*. **BIO-PROTOCOL**, v. 7, n. 14, 2017.

OLDFIELD, E.; LIN, F.-Y. Terpene Biosynthesis: Modularity Rules. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 5, p. 1124–1137, 27 jan. 2012.

O'LEARY, N. et al. Species delimitation in *Lippia* section Goniostachyum (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept: Lippia Section GONiostachyum. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 170, n. 2, p. 197–219, out. 2012.

O'LEARY, N.; CARDOSO, P. H.; SCHAEFER, J. Fátima Regina G. Salimena. 2020.

OLIVEIRA, A. P. et al. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33–38, out. 2018.

OLIVEIRA, D. R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia organoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 206–214, mar. 2014.

OLIVEIRA, M. C. et al. Influence of *Lippia thymoides* Mart. & Schauer and *Lippia organoides* Kunth essential oils on planktonic cell and *Streptococcus mutans* biofilm growth. [s.d.].

OLIVEIRA, T. A. S. et al. Antibacterial, Antiparasitic, and Cytotoxic Activities of Chemical Characterized Essential Oil of *Chrysopogon zizanioides* Roots. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, p. 967, 5 ago. 2022.

OPPERMAN, C. H.; CHANG, S. Effects of Aldicarb and Fenamiphos on Acetylcholinesterase and Motility of *Caenorhabditis elegans*. [s.d.].

ORTEGA-CUADROS, M. et al. Essential oils biological activity of the shrub *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. Biol. Trop.**, v. 68, 2020.

OUKERROU, M. A. et al. Differential Cytotoxic Activity of Essential Oil of *Lippia citriodora* from Different Regions in Morocco. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 7, p. e1600497, jul. 2017.

PASCHALIDIS, M. et al. Trends in mortality from Alzheimer's disease in Brazil, 2000-2019. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 32, n. 2, p. e2022886, 2023.

PATEL, S. S. et al. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. **Reviews in the Neurosciences**, v. 29, n. 5, p. 491–529, 26 jul. 2018.

PAUL, D. et al. *Caenorhabditis elegans* as a possible model to screen anti-Alzheimer's therapeutics. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 106, p. 106932, nov. 2020.

PAULETTI, G. F.; SILVESTRE, W. P. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento. [s.d.].

PENHA, T. et al. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 299, p. 109584, nov. 2021.

PEREIRA, E. J. P. et al. Circadian Rhythm, and Antimicrobial and Anticholinesterase Activities of Essential Oils from *Vitex gardneriana*. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 5, p. 1934578X1801300, maio 2018.

PEREIRA, P. S. et al. Cytotoxicity of Essential Oil Cordia verbenaceae against Leishmania brasiliensis and Trypanosoma cruzi. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4485, 25 jul. 2021.

PERERA, W. H. et al. In Vitro Pharmacological Screening of Essential Oils from Baccharis parvidentata and Lippia organoides Growing in Brazil. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1926, 16 mar. 2022.

PÉREZ ZAMORA, C.; TORRES, C.; NUÑEZ, M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 544, 1 mar. 2018.

PERGOLIZZI, J. V. et al. The role and mechanism of action of menthol in topical analgesic products. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 43, n. 3, p. 313–319, jun. 2018.

PHUYAL, N. et al. In Vitro Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Fruits, Seeds, and Bark of *Zanthoxylum armatum* DC. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2020, p. 1–7, 4 jun. 2020.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, jun. 2015.

PITCHAI, A. et al. Molecular interaction of human acetylcholinesterase with trans-tetraphostachin and derivatives for Alzheimer's disease. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e04930, set. 2020.

PLANT, R. M. et al. The Essentials of Essential Oils. **Advances in Pediatrics**, v. 66, p. 111–122, ago. 2019.

PORSTEINSSON, A. P. et al. Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. **The Journal Of Prevention of Alzheimer's Disease**, p. 1–16, 2021.

POSTU, P. A. et al. Memory-Enhancing Effects of *Origanum majorana* Essential Oil in an Alzheimer's Amyloid beta1-42 Rat Model: A Molecular and Behavioral Study. **Antioxidants**, v. 9, n. 10, p. 919, 26 set. 2020.

PURI, A. V. DURANTA REPENS LINN. (VERBENACEAE): A COMPREHENSIVE REVIEW OF PHARMACOGNOSTIC, ETHNOMEDICINAL, PHARMACOLOGICAL, AND PHYTOCHEMICAL ASPECTS. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91, 7 nov. 2018.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the *Chikungunya* vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, n. 2, p. 107–109, jun. 2010.

RAMSEY, J. T. et al. Essential Oils and Health. [s.d.].

REDZA-DUTORDOIR, M.; AVERILL-BATES, D. A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 12, p. 2977–2992, dez. 2016.

REIS, J. B. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342–363, 2020.

REITH, W. Neurodegenerative Erkrankungen. **Der Radiologe**, v. 58, n. 3, p. 241–258, mar. 2018.

REYES-BECERRIL, M. et al. Composition, antioxidant capacity, intestinal, and immunobiological effects of oregano (*Lippia palmeri* Watts) in goats: preliminary in vitro and in vivo studies. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 1, p. 101, mar. 2021.

RIBEIRO, A. F. et al. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia origanoides* Kunth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 249–259, ago. 2014.

RIBEIRO, F. P. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the *Lippia origanoides* Kunth Essential Oil from the Carajás National Forest, Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–8, 19 out. 2021.

RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, Á. et al. **Lippia spp. Essential Oil as a Control Agent against *Acanthoscelides obtectus*, an Insect Pest in *Phaseolus vulgaris* Beans.** Proceedings of The 1st International Electronic Conference on Plant Science. **Anais... Em: THE 1ST INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON PLANT SCIENCE.** Sciforum.net: MDPI, 1 dez. 2020. Disponível em: <<http://sciforum.net/conference/IECPS2020/paper/8767>>. Acesso em: 3 jul. 2023

ROSANI, D. C. D. O. A. et al. Essential oil composition, antifungal activity and leaf anatomy of *Lippia alba* (Verbenaceae) from Brazilian Chaco. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, n. 4, p. 79–88, 25 fev. 2019.

ROSEN, R. S.; YARMUSH, M. L. Current Trends in Anti-Aging Strategies. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 25, n. 1, p. 363–385, 8 jun. 2023.

RUDNICKA-DROŻAK, E. et al. Links between COVID-19 and Alzheimer's Disease—What Do We Already Know? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 2146, 25 jan. 2023.

RUSZKIEWICZ, J. A. et al. *C. elegans* as a model in developmental neurotoxicology. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 354, p. 126–135, set. 2018.

S. DE OLIVEIRA, A. et al. Investigation of Antioxidant Activity, Acute Toxicity and Anticholinesterasic Potential of *Lippia hirta* (Verbenaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 2, p. 432–448, 2019.

SAGBO, I.; MBENG, W. Are plants used in the Eastern Cape province for cosmetics fully commercialized? **Indian Journal of Pharmacology**, v. 51, n. 3, p. 140, 2019.

SAIDI, I. et al. Anti-tyrosinase, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of extracts and phytochemicals from the Tunisian *Citharexylum spinosum* L.: Molecular docking and SAR analysis. **Bioorganic Chemistry**, v. 102, p. 104093, set. 2020.

SALEHI, B. et al. Tagetes spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2847, 1 nov. 2018.

SALES, G. et al. Antifungal and Modulatory Activity of Lemon Balm (*Lippia alba* (MILL.) N. E. BROWN) Essential Oil. **Scientia Pharmaceutica**, v. 90, n. 2, p. 31, 11 maio 2022.

SAMBA, N. et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lippia multiflora* Moldenke Essential Oil from Different Regions of Angola. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 155, 31 dez. 2020.

SANTOS, D. R. et al. Insecticidal activity of essential oils of species from the genus *Lippia* against *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v. 67, n. 2, p. 292, 30 jun. 2020.

SANTOS FILHO, L. G. A. D. et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Lippia alba* and *Lippia origanoides*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, n. 1, p. e20220359, 2023.

SATHYA, S. et al. Phytol-loaded PLGA nanoparticle as a modulator of Alzheimer's toxic A $\beta$  peptide aggregation and fibrillation associated with impaired neuronal cell function. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, p. 1–12, 25 out. 2017.

SCHELTENS, P. et al. Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 397, n. 10284, p. 1577–1590, abr. 2021.

SCHETINGER, M. R. C. et al. Combined exposure to methylmercury and manganese during L1 larval stage causes motor dysfunction, cholinergic and monoaminergic up-regulation and oxidative stress in L4 *Caenorhabditis elegans*. **Toxicology**, v. 411, p. 154–162, jan. 2019.

SCOLA, R. H.; WERNECK, L. C.; FRANCO, C. R. C. Corpus de inclusão citoplasmática: estudo em diversas doenças e revisão da literatura. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 54, n. 2, p. 245–259, jun. 1996.

SERRANO-SAIZ, E. et al. Modular Organization of *Cis* -regulatory Control Information of Neurotransmitter Pathway Genes in *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v. 215, n. 3, p. 665–681, 1 jul. 2020.

SHARIFI-RAD, M. et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review: Carvacrol and Human Health. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 9, p. 1675–1687, set. 2018.

SIEBURTH, D. et al. Systematic analysis of genes required for synapse structure and function. **Nature**, v. 436, n. 7050, p. 510–517, 28 jul. 2005.

SILVA, H. N. P. D. et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia origanoides* in Tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. e20181059, 2019a.

SILVA, M. E. T. D. et al. Extraction, Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia origanoides* Kunth from Northeast Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210480, 2022.

SILVA, S. G. et al. Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. **PLOS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0213393, 8 mar. 2019b.

SILVA-TRUJILLO, L. et al. Essential Oils from Colombian Plants: Antiviral Potential against Dengue Virus Based on Chemical Composition, In Vitro and In Silico Analyses. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6844, 12 out. 2022.

SIMAMORA, A. et al. Antioxidant Activity, Enzyme Inhibition Potentials, and Phytochemical Profiling of *Premna serratifolia* L. Leaf Extracts. **International Journal of Food Science**, v. 2020, p. 1–11, 24 set. 2020.

SMITH, D. G.; CAPPAL, R.; BARNHAM, K. J. The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid  $\beta$  peptide. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1768, n. 8, p. 1976–1990, ago. 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002.

SOMBRA, K. E. S. et al. Selectivity of essential oils to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 53, 2022.

SOMMANO, S. R. et al. The Cannabis Terpenes. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5792, 8 dez. 2020.

SOUSA, F. D. C. A. et al. Atividade antioxidante in vitro de *Lippia origanoides* H.B.K. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e2810816716, 18 jul. 2021.

SOUTO DA SILVA, N. I. et al. Effect of *Lippia alba* hay as phytogetic feed additive on the lactation performance, milk composition, and rumen and blood parameters of Alpine goats. **Small Ruminant Research**, v. 215, p. 106767, out. 2022.

SOUZA, A. V. D.; VIEIRA, M. R. D. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 22 fev. 2018.

SOUZA, J. D.; GOTTFRIED, C. Muscle injury: Review of experimental models. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 23, n. 6, p. 1253–1260, dez. 2013.

SOUZA, L. M. et al. Essential oil composition in natural population of *Lippia origanoides* (Verbenaceae) during dry and rainy seasons. **Revista de Biología Tropical**, v. 67, n. 1, 31 jan. 2019.

SPYRIDOPOULOU, K. et al. Antitumor Potential of *Lippia citriodora* Essential Oil in Breast Tumor-Bearing Mice. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 875, 30 maio 2021.

SRIVASTAVA, N. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Artemisia maderaspatana* essential oil. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 11, p. 1677–1683, 2 nov. 2015.

SRIVASTAVA, S.; AHMAD, R.; KHARE, S. K. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 216, p. 113320, abr. 2021.

STARICH, T. A.; HERMAN, R. K.; SHAW, J. E. Molecular and genetic analysis of unc-7, a *Caenorhabditis elegans* gene required for coordinated locomotion. **Genetics**, v. 133, n. 3, p. 527–541, 1 mar. 1993.

SULSTON, J. E.; HORVITZ, H. R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. **Developmental Biology**, v. 56, n. 1, p. 110–156, mar. 1977.

TAHA, M. et al. Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent. **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 3, p. 101401, maio 2021.

TEIXEIRA, M. L. et al. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 143–153, 4 mar. 2023.

TELES, A. M. et al. *Aniba rosaeodora* (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 24, 30 dez. 2020.

TISSENBAUM, H. A. Using *C. elegans* for aging research. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 59, n. sup1, p. 59–63, 30 jan. 2015.

TIWARI, S. et al. Nanoencapsulated *Lippia origanoides* essential oil: physiochemical characterisation and assessment of its bio-efficacy against fungal and aflatoxin contamination as novel green preservative. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 57, n. 4, p. 2216–2225, abr. 2022.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 999–1010, 31 maio 2016.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020a.

TOUMA, J. et al. The Chemical Compositions of Essential Oils Derived from *Cryptocarya alba* and *Laurelia sempervirens* Possess Antioxidant, Antibacterial and Antitumoral Activity Potential. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5600, 28 nov. 2020b.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021a.

TRINDADE, S. C. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021b.

TROILO, D. et al. IMI – Report on Experimental Models of Emmetropization and Myopia. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 60, n. 3, p. M31, 28 fev. 2019.

TRUJILLO-MAYOL, I. et al. Western Dietary Pattern Antioxidant Intakes and Oxidative Stress: Importance During the SARS-CoV-2/COVID-19 Pandemic. **Advances in Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 670–681, maio 2021.

UDDIN, MD. S. et al. Nootropic and Anti-Alzheimer's Actions of Medicinal Plants: Molecular Insight into Therapeutic Potential to Alleviate Alzheimer's Neuropathology. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 7, p. 4925–4944, jul. 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINA GERAIS et al. Seasonal variation of essential oil of germplasm of *Lippia origanoides* Kunth. (Verbenaceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 21, n. 6, p. 716–724, 30 nov. 2022.

VAHDATI NIA, B. et al. Meta Analysis of Human AlzGene Database: Benefits and Limitations of Using *C. elegans* for the Study of Alzheimer’s Disease and Co-morbid Conditions. **Frontiers in Genetics**, v. 8, p. 55, 12 maio 2017.

VAN PELT, K. M.; TRUTTMANN, M. C. *Caenorhabditis elegans* as a model system for studying aging-associated neurodegenerative diseases. **Translational Medicine of Aging**, v. 4, p. 60–72, 2020.

VASHLISHAN, A. B. et al. An RNAi Screen Identifies Genes that Regulate GABA Synapses. **Neuron**, v. 58, n. 3, p. 346–361, maio 2008.

VEGA-VELA, N. E.; DELGADO-ÁVILA, W. A.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. 2013.

VIJAYAKUMAR, S. et al. Novel ligand-based docking; molecular dynamic simulations; and absorption, distribution, metabolism, and excretion approach to analyzing potential acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer’s disease. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 8, n. 6, p. 413–420, dez. 2018.

VILELA, D. A. D. et al. *Lippia alnifolia* essential oil induces relaxation on Guinea-pig trachea by multiple pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, p. 112162, jan. 2020.

WAGNER, L. S. et al. Insecticidal, fungicidal, phytotoxic activity and chemical composition of *Lavandula dentata* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102092, ago. 2021.

WANG, C. et al. **A neurotransmitter atlas of the nervous system of *C. elegans* males and hermaphrodites.** , 20 mar. 2024. Disponível em: <<https://elifesciences.org/reviewed-preprints/95402v1>>. Acesso em: 2 maio. 2024

WANI, A. R. et al. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, p. 104620, mar. 2021.

World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. [s.d.].

WU, Z. et al. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2 ago. 2019.

XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; SPINOSA, H. D. S. Toxicologia do praguicida aldicarb (“chumbinho”): aspectos gerais, clínicos e terapêuticos em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1206–1211, ago. 2007.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. COVID-19 and Alzheimer’s disease: how one crisis worsens the other. **Translational Neurodegeneration**, v. 10, n. 1, p. 15, dez. 2021.

XIA, X.; WANG, Y.; ZHENG, J. C. Extracellular vesicles, from the pathogenesis to the therapy of neurodegenerative diseases. **Translational Neurodegeneration**, v. 11, n. 1, p. 53, 12 dez. 2022.

XIE, J.; VAN HOECKE, L.; VANDENBROUCKE, R. E. The Impact of Systemic Inflammation on Alzheimer's Disease Pathology. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 796867, 6 jan. 2022.

XU, X. et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**, v. 353, p. 129488, ago. 2021.

ZAPATA-ZAPATA, C. et al. In Vitro Activity of Essential Oils Distilled from Colombian Plants against *Candida auris* and Other *Candida* Species with Different Antifungal Susceptibility Profiles. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6837, 12 out. 2022.

ZHANG, C. et al. Oxidative stress: A common pathological state in a high-risk population for osteoporosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 163, p. 114834, jul. 2023.

ZHANG, L.; GU, B.; WANG, Y. Clove essential oil confers antioxidant activity and lifespan extension in *C. elegans* via the DAF-16/FOXO transcription factor. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 242, p. 108938, abr. 2021.

ZHANG, Y. et al. Comparative genomics and functional study of lipid metabolic genes in *Caenorhabditis elegans*. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 164, dez. 2013.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Larvicidal activity of two Algerian Verbenaceae essential oils against *Culex pipiens*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2–4, p. 370–373, set. 2011.