



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**



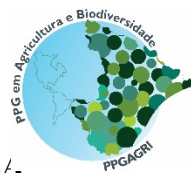
APROVEITAMENTO DA ÁGUA RESIDUAL DO PROCESSO DE HIDRODESTILAÇÃO DE *LANTANA CAMARA L.*

CAROLINE ALVES SOARES

2021



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**



CAROLINE ALVES SOARES

**APROVEITAMENTO DA ÁGUA RESIDUAL DO PROCESSO DE
HIDRODESTILAÇÃO DE *Lantana camara* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientadora
Prof^a. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S676a Soares, Caroline Alves.
Aproveitamento da água residual do processo de
hidrodestilação de *Lantana camara* L. / Caroline Alves Soares;
orientadora Maria de Fátima Arrigoni-Blank. – São Cristóvão, SE,
2021.
43 f. : il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) –
Universidade Federal de Sergipe, 2021.

1. Águas residuais. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Botânica.
4. Resíduos industriais. I. *Lantana camara* L. II. Arrigoni-Blank, Maria
de Fátima, orient. II. Título.

CDU 628.168

CAROLINE ALVES SOARES

**APROVEITAMENTO DA ÁGUA RESIDUAL DO PROCESSO DE
HIDRODESTILAÇÃO DE *Lantana camara* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 29 de julho de 2021.

Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank
PPGAGRI/UFS

Prof^a. Dra. Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho
UFRPE



Prof^a. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank
UFS
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*Dedico aos meus pais, Maria e José, a minha
avó, Magnolia, por serem meu porto-seguro e
meu exemplo. Sou o resultado da confiança e
força de cada um de vocês.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pelo seu infinito amor, pela proteção, pelas conquistas obtidas, e a Mãe Rainha, pela força concedida, por me amparar, ensinando-me a superar as dificuldades e mostrando-me o caminho nos momentos de insegurança.

Ao meu pai, José, e a minha amada mãe, Maria, por tranquilizar meu coração, por todo incentivo, dedicação e amor. A minha amada vizinha, Magnolia, que sempre me apoia e incentiva. Ao meu sobrinho, Brayan, por toda alegria que traz à minha vida, exceto quando está reclamando por motivos de jogo.

A minha segunda família, Arlete, madrinha, José, padrinho, e irmãos, Vinicius e a Aline, em especial, um anjo que Deus colocou na minha vida que até nos meus momentos de angústia ela consegue tirar o que tem de melhor em mim.

A minha orientadora, Dr^a. Maria de Fátima Arrigoni-Blank, por transmitir seus conhecimentos e pelo exemplo de profissionalismo. Sou muito agradecida de ter uma pessoa tão dedicada e competente como orientadora!

À professora Roberta Miranda por ter me auxiliado no desenvolvimento desse trabalho. Meu muito obrigada pela disposição em esclarecer minhas dúvidas e por todas as sugestões.

Ao professor Ricardo por todo auxílio e sugestões.

Ao professor Arie e a todos do grupo GPMACO, pelo apoio e colaboração direta no trabalho, sem contar todas as confraternizações.

Ao grupo de pesquisa LCTMV-Laboratório Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal. Agradeço por todo apoio, descontração e amizade. Foram muitos anos de aprendizados. Meu muito obrigada!

A todos do laboratório de Enzimologia, em especial Tamiris que foi imprescindível para o desenvolvimento desse trabalho, me ensinou muito nos últimos meses.

Ao meu namorado, Luis Fernando, por sempre me apoiar e incentivar. Você tornou essa trajetória mais leve e divertida.

Aos amigos que ganhei durante a graduação, meus presentinhos da UFS, Lenise, Matheus e Milenna. Sempre seremos o quarteto fantástico.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Agradeço a todos aqueles que aqui não foram nomeados, mas de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho, para minha formação e para o meu desenvolvimento pessoal.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.....	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. <i>Lantana camara</i>	3
2.1.1 Descrição botânica e sistemática.....	3
2.2 Potencialidades da espécie.....	4
2.2.1 Uso ornamental	4
2.2.2 Propriedades bioativas	4
2.3 Resíduos da indústria de óleos essenciais.....	5
2.4 Tripanossomatídeo de plantas: <i>Phytomonas serpens</i>	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
4. ARTIGO: Atividade anti- <i>Phytomonas</i> da água residual da hidrodestilação de folhas de <i>Lantana camara</i> L.	17
Resumo	17
Abstract.....	17
4.1. Introdução	18
4.2. Material e Métodos	19
4.2.1. Material vegetal.....	19
4.2.2. Obtenção dos parasitos.....	19
4.2.3. Viabilidade celular de <i>Phytomonas serpens</i> expostas aos resíduos de acessos de <i>Lantana camara</i> L.....	19
4.2.4. Curva de crescimento de <i>Phytomonas serpens</i> tratadas com resíduo selecionado.....	20
4.2.5. Efeito do RL nas células de <i>Phytomonas serpens</i>	20
4.2.5.1 Integridade da membrana plasmática	20
4.2.5.2. Potencial de membrana mitocondrial	20
4.2.5.3 Espécies reativas de oxigênio.....	20
4.2.6. Perfil químico qualitativo do resíduo liofilizado (RL)	21
4.2.7. Análise estatística.....	21
4.3. Resultados	21
4.3.1. Ação do resíduo liofilizado dos acessos de <i>Lantana camara</i> L. sobre a viabilidade celular de <i>Phytomonas serpens</i>	21
4.3.2. Ação do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de <i>Lantana camara</i> L. sobre o crescimento de <i>Phytomonas serpens</i>	22
4.3.3. Avaliação da integridade da membrana celular de promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i>	23
4.3.4. Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio de promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i>	23
4.3.5. Avaliação do potencial mitocondrial de promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i>	23
4.3.6. Perfil químico qualitativo do resíduo	24
4.4. Discussão	25
4.5. Conclusões	27
4.6. Referências Bibliográficas	27

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	<i>Lantana camara</i> . (A) Ramos, inflorescência e frutos. (B) Banco Ativo de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe.....	3
 ARTIGO		
Figura		Página
1	Efeito do resíduo liofilizado de quatro acessos de <i>Lantana camara</i> L. sobre formas promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i> . Parasitos (1×10^5 células/mL) foram tratados com 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 25,0; 50,0 e 100 $\mu\text{g/mL}$ durante 48 horas e a viabilidade avaliada pelo teste colorimétrico da resazurina. (A) Viabilidade celular. (B) Valores (IC_{50}) do resíduo liofilizado. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes.....	22
2	Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de <i>Lantana camara</i> L. sobre o crescimento de promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i> . Os parasitos (1×10^5 células/mL) foram tratados com 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100 $\mu\text{g/mL}$ do resíduo liofilizado durante 72 horas, sendo realizada a contagem direta a cada 24h. (A) Curva do crescimento celular. (B) Porcentagem de inibição. Controle igual a células não tratadas. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes.....	22
3	Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de <i>Lantana camara</i> L. sobre a produção de espécies reativas de oxigênio em promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i> . Os parasitos (5×10^5 células/mL) foram tratados com 60, 120 e 180 $\mu\text{g/mL}$ do resíduo liofilizado por 48 horas. Os níveis de EROS foram avaliados espectrofluoretricamente utilizando a sonda H_2DCFDA . Células não tratadas representam o controle negativo (CN) e células incubadas com H_2O_2 (750 μM , 30 min) correspondem ao controle positivo (CP). Os dados de fluorescência foram relativizados com controle negativo. Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, (*) $P < 0,05$, (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (ns) não significativo.....	23
4	Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de <i>Lantana camara</i> L. sobre o potencial mitocondrial de promastigotas de <i>Phytomonas serpens</i> . Os parasitos (5×10^5 células/mL) foram tratados com 60, 120 e 180 $\mu\text{g/mL}$ do resíduo liofilizado por 48 horas e corados com Rodamina123 e avaliadas por citometria de fluxo. Células não tratadas representam o controle negativo (CN) e células incubadas com CCCP correspondem ao controle positivo (CP). (A) Medianas da fluorescência relativizada ao controle negativo. (B) Índice de variação. Os resultados foram expressos em porcentagem de fluorescência relativa $\pm$ erro padrão. (*) $P < 0,05$ indica diferença estatística em relação ao controle não tratado e (ns), não significativo.	24
5	Triagem das classes de compostos de <i>Lantana camara</i> . (A) Perfil químico do resíduo liofilizado do acesso LAC-38. Ácidos fenólicos (Pico 1 - 6), flavonoides (Pico 11 - 17), Não claro (Pico 7 -10). (B) Classes de compostos detectadas no resíduo liofilizado do acesso LAC-38 (-) Ausência (+) Presença	24

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Propriedades biológicas atribuídas à <i>Lantana camara</i>	5

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

UFS – Universidade Federal de Sergipe
OE – Óleo essencial
IPP – Isopentenil difosfato
MEP – Metileritriol fosfato
OPP – Oxigênio pirofosfato
GPP – Geranil difosfato
DMAPP – Difosfato de dimetilalilo
FPP – Farnesil difosfato
ACETIL-COA - Acetilcoenzima A
IC₅₀ – Concentração necessária para inibir 50%
B.O.D – Demanda Bioquímica de oxigênio
CCCP – Carbonilcianeto 4-clorofenilhidrazona
H₂DCFA – 2', 7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato
H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio
IV – Índice de variação
PBS – Tampão fosfato salino
Rh123 – Rhodamine 123
EROS – Espécies reativas a oxigênio
RLs – Resíduos liofilizados
HPLC – Cromatógrafo líquido analítico
($\Delta\psi_m$) – Despolarização do potencial mitocondrial
ANAVA – Análise de variância
BAG – Banco Ativo de Germoplasma
SisGen – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
 μg – Micrograma
 μL – Microlitro
min – Minutos
L – Litros
g – Gramas
% - Porcentagem

RESUMO

SOARES, Caroline Alves. **Aproveitamento da água residual do processo de hidrodestilação de *Lantana camara* L.** São Cristóvão: UFS, 2021. 43p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

Lantana camara L., comumente conhecida no Brasil como cambará, é um arbusto aromático e medicinal que possui ação antibacteriana, antifúngica, antiprotzoária, inseticida, antioxidante, analgésica e anti-inflamatória. Suas propriedades terapêuticas estão relacionadas aos compostos ativos presentes no seu óleo essencial. Após o processo de extração por hidrodestilação, devido ao baixo rendimento de óleo essencial dessa espécie, dá-se a formação exacerbada de resíduos. Embora esses resíduos sejam descartados, eles podem apresentar ricas moléculas biologicamente ativas, as quais poderão ser úteis na forma de insumo para outros processos que demandem esses compostos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antiprotzoária sobre *Phytomonas serpens* do resíduo da hidrodestilação de folhas de *L. camara*. O perfil químico da amostra coletada, após a extração do óleo essencial das folhas de cambará, foi determinado por HPLC. Também foi avaliado o efeito do resíduo na integridade da membrana de *P. serpens*, assim como os níveis de produção de espécies reativas a oxigênio (EROs) e da despolarização do potencial mitocondrial. A viabilidade celular do parasito diminuiu conforme as concentrações dos resíduos liofilizados (RLs) aumentaram. Os valores de IC₅₀ obtidos para os quatros RLs de *L. camara* foram: 13,68 µg/mL (RL038); 17,50 µg/mL (RL017); 35,16 µg/mL (RL025); 43,69 µg/mL (RL033). O resíduo liofilizado do acesso LAC-038 (RL038) afetou a proliferação de *P. serpens* em todas as concentrações avaliadas, sendo que as concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL do resíduo reduziram de forma acentuada a densidade celular das formas promastigotas. As análises de citometria de fluxo e espectrofluorimetria demonstraram que o RL038, nas concentrações avaliadas, não afetou a integridade da membrana plasmática. Os níveis de EROs aumentaram em aproximadamente 2x e 3x nas concentrações de 120 µl/mL e 180 µl/mL do RL038, respectivamente. Células tratadas com as mesmas concentrações do resíduo mostraram redução no potencial mitocondrial, em comparação com as células não tratadas. Essas concentrações reduziram a fluorescência em 44,6% (IV= -0,446) e 46,8% (IV= -0,468), respectivamente. Essa redução não diferiu estatisticamente do controle positivo que foi de 56,0% (IV= -0,560). E a partir da cromatografia líquida analítica do resíduo foi possível observar a presença de 17 picos que posteriormente foram classificados como ácidos fenólicos e flavonoides. Concluiu-se que os resíduos da hidrodestilação das folhas de *Lantana camara* podem ser provedores de moléculas eficientes para a formulação de bioprodutos para o controle de parasitas como a *P. serpens*.

Palavras-chave: Verbenaceae, atividade antiprotzoária, resíduo da hidrodestilação, efluentes, resíduo liofilizado.

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Orientadora).

ABSTRACT

SOARES, Caroline Alves. **Use of waste water from the hydrodistillation process of *Lantana camara* L.** São Cristóvão: UFS, 2021. 43p. (Thesis - Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Lantana camara L., commonly known in Brazil as cambará, is an aromatic and medicinal shrub that has antibacterial, antifungal, antiprotozoal, insecticide, antioxidant, analgesic, and anti-inflammatory action. Its therapeutic properties are related to the active compounds present in its essential oil. After the extraction process by hydrodistillation, an exacerbated quantity of residues is formed, due to the low yield of essential oil in this species. These residues are generally discarded, but they may have rich biologically active molecules, which may be useful as an input for other processes that require these compounds. The aim of the present study was to evaluate the antiprotozoal activity of the residue from the hydrodistillation of *L. camara* leaves on *Phytomonas serpens*. The chemical profile of the sample collected after the extraction of essential oils from the leaves of cambará was determined by HPLC, and in addition, the effect of the residue on the integrity of the cell membrane of *P. serpens* was evaluated, as well as the levels of production of reactive oxygen species (ROS) and the depolarization of the mitochondrial potential. The cell viability of the parasite decreased as the concentrations of lyophilized residues (LR) increased. The IC₅₀ values obtained for the four *L. camara* RLs were 13.68 µg/mL (LR038), 17.50 µg/mL (LR017), 35.16 µg/mL (LR025), and 43.69 µg/mL (LR033). The lyophilized residue from accession LAC-038 (LR038) affected the proliferation of *P. serpens* at all the concentrations evaluated, and the concentrations of 50 µg/mL and 100 µg/mL of the residue markedly reduced the cell density of the promastigote forms. Flow cytometry and spectrofluorimetry analyses showed that LR038, at the concentrations evaluated, did not affect the integrity of the plasma membrane. ROS levels increased by approximately 2x at LR038 concentrations of 120 µL/mL and 3x at concentrations of 180 µL/mL. Cells treated with the same residue concentrations showed a reduction in mitochondrial potential compared to untreated cells. These concentrations reduced fluorescence by 44.6% (IV = -0.446) and 46.8% (IV = -0.468), respectively. This reduction did not differ statistically from the positive control, which was 56.0% (IV = -0.560). Analytical liquid chromatography of the residue revealed 17 peaks that were later classified as phenolic acids and flavonoids. This indicated that the residues from the hydrodistillation of *Lantana camara* leaves can be efficient molecule providers for formulation of bioproducts for the control of parasites such as *P. serpens*.

Keywords: Verbenaceae, antiprotozoal activity, hydrodistillation residue, effluents, lyophilized residue

* Supervising Committee: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Supervisor)

1. INTRODUÇÃO GERAL

O uso de produtos naturais na área alimentar, de cosméticos e medicinal é crescente, uma vez que existe uma incessante busca da sociedade por um estilo de vida mais saudável, assim como uma maior preocupação ambiental. A opção pelo natural nos últimos anos levou a um aumento da utilização de plantas aromáticas e medicinais (NIETO, 2017). Nessa circunstância, um bom exemplo é a espécie *Lantana camara* L., comumente conhecida no Brasil como chumbinho ou cambará. É um subarbusto lenhoso de arquitetura indeterminada, onde suas folhas, cascas e raízes são utilizadas no tratamento de diversas doenças, como febre biliosa, cortes, catarro, eczema, dores de cabeça, palpitações, malária, reumatismo, inchaço, tétano, tumores, úlceras, entre outras doenças (SOUSA; COSTA, 2012), o que faz dessa espécie uma poderosa ferramenta medicinal no Brasil.

Além do uso na medicina tradicional, diferentes estudos científicos confirmam que os óleos essenciais e extratos de *L. camara* possuem um inesgotável complexo de moléculas ativas responsáveis por diferentes atividades biológicas, especificamente: antifúngica, antimicrobiana, antibacteriana, inseticida, anti-helmíntica, antipirética, cicatrizante, além de colaborar como recurso terapêutico no tratamento de doenças como malária e leishmaniose, ou até mesmo de enfermidades relacionadas ao sistema nervoso central dos seres humanos (JAGTAP et al., 2018; VED et al., 2018; SANTOS et al., 2019; DOUGNON; ITO, 2020). Em um estudo recente, demonstrou-se, pela primeira vez, a atividade tripanocida do óleo essencial de *L. camara* em *Phytomonas serpens* (PEREIRA et al., 2021), assim revelando potenciais usos dessa espécie.

Embora tenha muitas potencialidades, a concentração do óleo essencial nas folhas de *L. camara* é baixa (geralmente 0,2%), sendo que, por arraste a vapor, 500 kg de biomassa rendem cerca de 200 mg de óleo essencial e, por hidrodestilação, a espécie apresenta um teor médio variando de 0,1 a 0,5% (NEGI et al., 2019; PEREIRA et al., 2020). O mesmo ocorre em muitas espécies de plantas, onde a maior parte da matéria-prima vegetal permanece sem uso após a hidrodestilação, produzindo uma quantidade exacerbada de resíduos. Na prática, para obter um mililitro de óleo essencial requer um consumo de 0,5 a 1L de água (WU et al., 2015), e no final do processo de extração, a água residual é totalmente descarregada no ambiente sem o devido tratamento.

A grande quantidade de efluentes gerados após o processo de hidrodestilação não possui aplicabilidade. Entretanto é possível que esta água seja rica em compostos solúveis e não voláteis biologicamente relevantes, tornando a água residual da produção de óleos essenciais um valioso produto e com potencial uso industrial (GHARRED et al., 2021).

Os tripanossomatídeos na sua maioria são parasitas de animais, com exceção do gênero *Phytomonas*, cujos representantes são parasitas vegetais (MASLOV et al., 2019). Algumas espécies desses protozoários são causadoras de doenças graves em grandes culturas de interesse econômico, tais como a *Phytomonas staheli*, causadora da murcha letal aguda em coqueiros (*Cocos nucifera*) e dendezeiros (*Elaeis guineensis*), e *Phytomonas leptovorum*, agente patogênico da necrose no floema do café (Arábica e Libéria) (JASKOWSKA et al., 2015). Esses são importantes exemplos de patógenos de plantas capazes de oferecer riscos econômicos em países tropicais.

Outro representante dos tripanossomatídeos que afetam as plantas é a *Phytomonas serpens* que acometem os tomateiros (*Solanum lycopersicum*), provocando manchas amarelas que resultam em frutos de menor valor comercial (SCHWELM et al., 2018). Esse organismo também é um importante modelo biológico que auxilia no entendimento de membros patogênicos que acometem mamíferos e plantas, além de contribuir no entendimento dos mecanismos patogênicos e das manifestações das doenças em plantas (JASKOWSKA et al., 2015), e assim como no desenvolvimento de novas formas de tratamento para doenças em seres humanos como a leishmaniose e tripanossomíase (SANTOS JUNIOR et al., 2018).

Tendo em vista a importância comercial das culturas devastadas por espécies de *Phytomonas* e o potencial de compostos do metabolismo secundário de *L. camara* para o controle da proliferação desses fitopatógenos, como também a necessidade de contribuir para destinação correta dos resíduos gerados pela indústria de óleos essenciais, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antiprotozoária da água residual do processo de hidrodestilação de folhas de *Lantana camara* L. sobre *Phytomonas serpens*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Lantana camara*

2.1.1 Descrição botânica e sistemática

O gênero *Lantana*, compreendido pela família Verbenaceae, possui cerca de 129 espécies arbustivas e subarbustivas, com até 3 m de altura e arquiteturas variadas, as quais ocorrem principalmente em regiões tropicais das Américas do Sul e Central, África e Ásia. Esse gênero é de difícil descrição taxonômica, pois suas espécies possuem características instáveis e hibridação generalizada (GHISALBERTI, 2000). Algumas dessas espécies já não condizem com a descrição realizada por Linnaeus em 1753 em *Species Plantarum*, a exemplo de *Lantana camara* L., a qual sofreu forte pressão de seleção artificial ao longo dos anos (SANDERS, 2006).

A espécie *L. camara* L. (Figura 1A) (Divisão: Magnoliofita; Classe: Magnoliopsida; Ordem: Lamiales; e Família: Verbenaceae) comumente conhecida no Brasil como chumbinho ou cambará, é uma das mais populares do gênero *Lantana*. Ocorre em praticamente todas as regiões do planeta, exceto em locais de frio extremo, e é possível encontrar espécimes dessa planta crescendo exuberantemente em altitudes de até 2000 m (GONCALVES et al., 2014). É um subarbusto lenhoso e suas folhas são simples e opostas, possuem superfície rugosa e bordas dentadas com ápice agudo, assim como odor forte quando esmagadas e sabor levemente mentolado. Suas pequenas flores tubulares possuem quatro pétalas soldadas e podem apresentar diferentes cores como vermelho, amarelo, laranja, rosa e branco, elas estão dispostas em inflorescências do tipo umbela e surgem nas regiões terminais dos ramos. Os frutos do tipo drupas carnosas, possuem de 1 a 2 sementes e medem de 3-6 mm, quando maduros apresentam coloração roxo escuro. E os ramos são quadrangulares e geralmente possuem acúleos em toda a extensão do caule (PATHAN et al., 2018).

Em Sergipe, Brasil, foi implantada no ano de 2016 a coleção de *L. camara* do Banco Ativo de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe (Figura 1B), onde foi conduzido um estudo que evidencia as diferenças fenotípicas e produtivas de plantas de cambará dessa região. Características morfológicas, como exemplo o tamanho e largura das plantas (de 0,85 a 2,14 m e 0,99 a 2,15 m, respectivamente) e características agrônômicas como o rendimento de massa seca e teor de óleo essencial (de 80 a 649,04 g planta⁻¹ e 0,13 a 0,26%, respectivamente), foram descritas para subsidiar programas de melhoramento que poderão dar origem a novos registros de cultivares de *L. camara* (PEREIRA et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2020).



Figura 1. *Lantana camara*. (A) Ramos, inflorescência e frutos. (B) Banco Ativo de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe.

2.2 Potencialidades da espécie

2.2.1 Uso ornamental

Nativa das Américas Central e Sul, a *L. camara* foi popularizada em diversos países devido à beleza de suas flores, quando ao final do século XVII exploradores introduziram essa espécie em regiões da Europa e mais tarde na América do Norte. Aos poucos a espécie foi sendo incorporada aos jardins e passou a ser amplamente comercializada por viveiros de plantas (ROSS, 2007). Suas inflorescências podem apresentar diferentes tamanhos e cores mistas, o que serve de forte atrativo para diferentes espécies de insetos e pequenas aves, fazendo da *L. camara* uma escolha recorrente na composição paisagística de diversos ambientes (MAHARAJ; BOURNE, 2017).

A planta que embelezava jardins também trouxe consequências inesperadas e severas a diversos ecossistemas, ao se tornar uma das plantas mais infestantes do mundo devido a sua capacidade adaptativa e de dispersão (LOWE et al., 2004). Na Flórida, uma das principais regiões produtoras de *L. camara*, viveiristas foram aconselhados pelo Conselho de Plantas Exóticas e de Pragas da Flórida (FLEPPC) a encerrar a produção de *L. camara*, tendo em vista os riscos de alteração dos ecossistemas pela invasão dessa espécie, o que impactaria a arrecadação de 21 milhões de dólares e os empregos diretos de cerca de 300 funcionários (WIRTH et al., 2004).

Para evitar maiores impactos ocasionados pela infestação de *L. camara* e por sua importância econômica, a ciência fez um grande esforço para compreender os mecanismos de hibridação e a transferência de informações genéticas durante os cruzamentos entre cultivares dessa espécie (CZARNECKI; DENG, 2020). A partir desses estudos, foi possível produzir cultivares estéreis, as quais eliminam o risco de degradação de ambientes nativos e protegem o valor econômico da espécie (PARRISH et al., 2021).

2.2.2 Propriedades bioativas

Plantas de *L. camara* são relatadas em diversos países como terapêuticas no tratamento de diferentes doenças (GHISALBERTI, 2000). Em Rondônia – Brasil, a infusão das folhas de cambará é empregada no tratamento de resfriados e gripes (MAIA et al., 2020). Na medicina tradicional indiana essa planta é relatada no tratamento de doenças graves, como cânceres e tumores. A infusão das folhas e flores são utilizadas para curar febres e dores de estômago. Nas Américas Central e Sul o uso das folhas foi indicado para o tratamento de feridas, sarampo, catapora, assim como febres, resfriados, asma, reumatismo e hipertensão. Em países da África Ocidental, a infusão de diferentes partes da planta foi utilizada para tratar bronquite e as raízes misturadas ao leite para tratar dores de estômago em crianças (KALITA et al., 2012). Outras doenças como malária, hanseníase, sarna, úlceras, além de propriedades cardiotônica, vermífuga, antiviral antipiréticas, antiespasmódicas e cicatrizantes são relacionadas ao uso medicinal da espécie, no entanto a utilização indiscriminada e em doses elevadas poderá trazer problemas à saúde, devido à presença de compostos nocivos (PATOLE et al., 2020).

A *L. camara* é bastante estudada quanto às suas propriedades biológicas, revelando um grande potencial para o desenvolvimento de produtos botânicos e drogas capazes de tratar ou mesmo curar importantes problemas e enfermidades que acometem seres humanos (SHARMA et al., 2007). A vasta potencialidade de usos para *L. camara* está diretamente relacionada à variedade de constituintes químicos, os quais podem pertencer às classes dos flavonoides, fenilpropanoides, terpenoides, glicosídeos feniletanoides, glicosídeos iridoides e esteroides e furanonaftoquinonas (SOUSA; COSTA, 2012). A seguir são demonstradas algumas das propriedades atribuídas a essa espécie (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades biológicas atribuídas à *Lantana camara* L.

Propriedades biológicas	Organismos estudados	Parte utilizada	Referências
Antifúngica	<i>Alternaria</i> sp.	Extrato aquoso e etanólico	Srivastava e Singh (2011)
Bactericida	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Extrato etanólico das folhas	Lourenço et al. (2021)
Antimicrobiana	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporum gypseum</i> e <i>Aspergillus flavus</i>	Extrato etanólico e metanólico	Ezebo et al. (2021)
Antifúngica	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Extrato etanólico	Khalifah et al. (2021)
Bactericida	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Bacillus subtilis</i> .	Extrato etanólico	Cabrido e Demayo (2018)
Leishmanicida	<i>Leishmania mexicana</i> e <i>L. amazonensis</i>	Extratos orgânicos	Delgado-Altamirano et al. (2019)
Antifúngica	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Extrato metanólico	Bashir et al. (2019)
Analgesica	Ratos	Extrato etanólico das flores	Punasiya, Choudhary e Pillai (2017)
Mutagênico e citotóxico	Camundongos	Óleo essencial	Figueira et al. (2019)
Antidiarreica	Ratos	Extrato aquoso dos ramos	Tadesse et al. (2017)
Inseticida	Larvas e adultos de <i>Aedes aegypti</i>	Óleos essenciais	Chellappandiana et al. (2018)
Antituberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> e <i>Mtb H37Rv</i>	Extrato metanólico	Nirmal et al. (2020)
Sedativa	Camundongos	Óleo essencial	Dougnon e Ito (2020)
Anticâncer e antiangiogênica	Células cancerosas (MCF - 7, HCT - 116 e HeLa) e células endoteliais (EA.hy926)	Alcaloides isolados do extrato metanólico das folhas	Al-Hakeim et al. (2021)
Herbicida	<i>Avena fatua</i> , <i>Euphorbia helioscopia</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Phalaris minor</i> , <i>Rumex dentatus</i> .	Extrato metanólico das flores	Anwar et al. (2021)

2.3 Resíduos da indústria de óleos essenciais

Procedente do metabolismo celular dos vegetais, os óleos essenciais (OEs) são misturas ricas em compostos aromáticos e que possuem diversas aplicações. Atualmente são utilizados como ingredientes da produção de bebidas, alimentos, fragrâncias, cosméticos e fármacos, além de serem considerados a principal ferramenta da aromaterapia (SHANKAR et al., 2021).

O mercado global de óleos essenciais movimentou 18,62 bilhões de dólares em 2020 e estima-se um forte crescimento para os próximos anos, podendo atingir o valor de 33,26

bilhões de dólares até 2027, com estimativa de comercialização de 473,31 mil toneladas de OE (GRAND VIEW RESEARCH, 2021). No Brasil, Bizzo et al. (2009) descreveram que a carência de matérias-primas durante e após a Segunda Guerra Mundial foi a força motriz para expansão da atividade, com a produção dos OEs de sassafrás, pau-rosa, menta e cítricos. Entre maio de 2020 e maio 2021, a exportação brasileira dos óleos essenciais, substâncias de perfume e sabor, gerou 34,37 milhões de dólares com a comercialização desses produtos, demonstrando a relevância da cadeia (COMEX, 2021).

Os óleos essenciais são constituídos principalmente de terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos). Esses são classificados de acordo com o número de unidades pentacarbonadas, sendo os mais abundantes os monoterpenos (10 carbonos), com duas unidades de isopreno, e os sesquiterpenos (15 carbonos), com três unidades de isopreno. Esses terpenoides são biossintetizados a partir de unidades de isopentenil-difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil-difosfato (DMAPP), e podem ser produzidos em diferentes organelas da célula vegetal, por duas rotas metabólicas: via mevalonato (MVA) e a via metileritritol fosfato (MEP). Na via citosólica ou via MVA, a condensação de duas moléculas de acetil-CoA origina uma molécula de acetoacetil-CoA que condensada com uma terceira molécula de acetil-CoA formando o 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Posteriormente é reduzido a MVA a partir da enzima HMG-CoA redutase. Em seguida, o MVA é fosforilado pelas enzimas MVA quinase e fosfomevalonato quinase, produzindo o mevalonato-5-difosfato (MVAPP). O IPP e o DMAPP são então sintetizados a partir da ação enzimática do MVAPP descarboxilase sobre o MVAPP (DEWICK, 2009).

Na via plastídica ou metileritritol fosfato, ocorre a condensação de uma molécula de gliceraldeído-3-fosfato com uma molécula de piruvato originando uma molécula de 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXS), que é reduzida a 2C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP) pela enzima DXP redutoisomerase. Em seguida MEP é convertido a 2C-metil-D-eritritol-2,4-ciclodifosfato (ME-cPP) através de ações enzimáticas promovidas por 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol (CDP-ME) sintase, CDP-ME quinase e ME-cPP sintase. Posteriormente, ME-cPP é convertido a IPP e DMAPP através das enzimas 1-hidroxi-2C-metil-2-(E)-butenil-4-difosfato (HMBPP) sintase e a HMBPP redutase (DEWICK, 2009).

Os óleos essenciais podem ser extraídos do material vegetal por diversos métodos. A escolha do melhor método a ser utilizado dependerá da espécie de interesse, da parte da planta que será utilizada e da estrutura disponível. A extração é um procedimento unitário que tem por finalidade separar determinadas substâncias a partir de diferentes matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos químicos, físicos ou mecânicos, onde se reserva uma das fases (o produto) e rejeita outra (o resíduo) (ANDREO; JORGE, 2006).

O método de extração por arraste a vapor é o mais utilizado a nível industrial. O processo consiste em submeter o material vegetal à ação do vapor d'água para obtenção dos OEs. Neste método, o vapor atravessa a biomassa vegetal quebrando as estruturas celulares das plantas e levando consigo o OE contido no interior dos tecidos. Por proporcionar maior rendimento de OE, a extração por arraste a vapor é considerada mais eficiente quando comparada à hidrodestilação (VALENTIM; SOARES, 2018). Embora seja mais eficaz, a extração por arraste a vapor tem, no entanto, vários inconvenientes como: grande consumo energético, longo tempo de extração e a degradação dos compostos (BOŽOVIĆ et al., 2017).

No método de extração de OE por hidrodestilação, o sistema é formado por um condensador, decantador e a manta aquecedora. A técnica compreende na imersão completa da biomassa vegetal em água, seguido por ebulição. Em consequência do aquecimento, a água atinge seu ponto de ebulição formando uma mistura heterogênea de vapores de água e constituintes voláteis. Após a volatilização, essa mistura passa por um condensador e decanta. Como a água e o óleo são imiscíveis, formam-se duas fases (óleo e água), da qual o OE é facilmente coletado, devendo ser mantido em frasco âmbar e em local abrigado de temperaturas elevadas e luminosidade (CARVALHO et al., 2020).

Embora exista uma crescente demanda por OE (ALIGHIRI et al., 2017), um dos pontos críticos enfrentados na obtenção desses produtos são os resíduos, pois o rendimento desses produtos em muitas espécies de plantas é baixo e a maior parte da matéria-prima vegetal permanece sem uso após a hidrodestilação. Na prática, para obter um mililitro de OE requer um consumo de 0,5 a 1L de água (WU et al., 2015), e no final do processo de extração, a água residual é totalmente descarregada no meio ambiente sem o devido tratamento. Em escala industrial, os resíduos acumulados em destilarias de óleos essenciais podem ser comparados ao volume de resíduos produzidos em uma indústria têxtil (GHARRED et al., 2021).

Diante desse cenário e da incessante busca da sociedade por produtos ecologicamente corretos, as indústrias têm se empenhado cada vez mais no desenvolvimento de tecnologias mais limpas, seguindo parâmetros que visam reduzir os impactos gerados pela produção elevada de resíduos. Para que isso ocorra, as indústrias focam na permuta industrial, utilizando resíduos de um processo como insumo para outro processo, assim contribuem para aumentar a sustentabilidade dos recursos e redução dos danos ambientais (GHARRED et al., 2021).

Nas destilarias de OEs, os resíduos podem ser aproveitados de diferentes maneiras, especialmente como fonte de compostos úteis em outras cadeias produtivas, a exemplo do ácido rosmarínico, um importante antioxidante natural que pode ser obtido a partir do resíduo líquido proveniente do processo de hidrodestilação das folhas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (WOLLINGER et al., 2016). Sánchez-Vioque et al. (2015) relataram que os resíduos sólidos da hidrodestilação de *R. officinalis* possuem efeito deterrente sobre insetos-praga. Assim como Mahmoudi et al. (2020) relataram que folhas hidrodestiladas de manjerição (*Ocimum basilicum*) apresentam boa atividade repelente contra pragas de grãos armazenados, *Tribolium castaneum*. Em outro estudo, Gavarić et al. (2015) demonstraram que os resíduos sólidos das folhas de tomilho (*Thymus vulgaris*) podem ser utilizados como fonte de compostos fenólicos biologicamente ativos e apresentam efeito antioxidante e hepatoprotetor comparável ao extrato de folha de tomilho oficialmente preparado. Além disso, podem ser utilizados para elaboração de fitoterápicos ou na indústria alimentícia e farmacêutica.

Estudos demonstram que os compostos provenientes dos resíduos aquosos da hidrodestilação também são importantes fontes de moléculas. GHARRED et al. (2021) relataram que o efluente do processo de extração do OE de *Dittrichia graveolens* apresentou atividades antioxidantes, antibacterianas, anti-inflamatórias e não citotóxica contra fibroblastos de pele saudável. Assim como o resíduo liofilizado da erva de bergamota (*Monarda fistulosa*) que apresentou ação anti-inflamatória e analgésica atribuídas ao produto da cocção das folhas (SHANAIDA et al., 2021). Além disso, Cancini et al. (2020) relataram o potencial tripanocida dos extratos de *Piper crassinervium* e *Piper amalago*. Sankara et al. (2020) relataram que o resíduo aquoso da hidrodestilação de *Eucalyptus camaldulensis* pode fornecer compostos bioativos interessantes como novos agentes anticupins na proteção de plantas.

Dessa maneira, esse campo científico e prático de utilizar resíduos hidrodestilados tem se expandido rapidamente, e as atividades biológicas são o alvo desses estudos, uma vez que é importante esclarecer a forma de exploração desses resíduos resultantes do processo de cocção das folhas, em termos econômicos e ecológicos.

2.4 Tripanossomatídeo de plantas: *Phytomonas serpens*

Os tripanossomatídeos pertencem ao Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Sub-filo Mastigophora, Classe Zoomastigophora, Ordem Kinetoplastida, Subordem Trypanosomatina e Família Trypanosomatidae que compreende vários gêneros (LEVINE et al., 1980).

Dentro dos gêneros temos organismos monoxênico que parasitam invertebrados (*Herpetomonas*, *Blastocrithidia*, *Leptomonas*, *Crithidia*), como também organismos com ciclo de vida heteroxênico, os quais alternam entre hospedeiros vertebrados e invertebrados (*Trypanosoma*, *Leishmania*, *Endotrypanum*), ou entre invertebrados e plantas (*Phytomonas*) (MASLOV et al., 2013; PODLIPAEV, 2000; SIMPSON et al., 2006).

No que diz respeito às características dos Trypanosomatídeos, pode-se citar o cinetoplasto, estrutura composta por cadeias de ácido dextrorribonucleico (DNA), que integra cópias do genoma mitocondrial e está situada no interior de uma mitocôndria única, como também a presença do flagelo, responsável pela motilidade do parasito, e as organelas de glicossomos (MCGHEE; COSGROVE, 1980; VICKERMAN, 1994).

Os tripanossomatídeos são microrganismos adaptados à vida em fluidos ricos em glicose, onde a sua maioria são parasitas de animais, com exceção do gênero *Phytomonas*, cujos representantes são parasitas vegetais (MASLOV et al., 2019).

Os primeiros parasitos encontrados em espécies vegetais foram isolados de uma planta laticífera (*Euphorbia pilulifera*) nas ilhas de Maurício em 1909. A princípio foi nomeado de *Leptomonas davidi*, e posteriormente reclassificado em um novo gênero, *Phytomonas*, por Donovan. No presente, o gênero *Phytomonas* possui cerca de 200 espécies, as quais podem ser encontradas em fluidos do xilema, floema, látex, frutos e sementes, que parasitam mais de 20 famílias de plantas. Contudo esses organismos podem ou não apresentar alguma patogenicidade para os vegetais (JASKOWSKA et al., 2015; MEDINA et al., 2015; SCHWELM et al., 2018).

Algumas espécies são causadoras de doenças graves em grandes culturas, *Phytomonas staheli*, causadora da murcha letal aguda, necrose em inflorescências e podridão do meristema apical em coqueiros (*Cocos nucifera*) e dendezeiros (*Elaeis guineensis*) que inicia com o apodrecimento das folhas e posteriormente avança para a lança e raízes. Em plantas de café também foram relatadas a presença de organismos patogênicos pertencentes ao gênero *Phytomonas*, classificados como *Phytomonas leptovasorum*, agente patogênico da necrose no floema do café (Arábica e Libéria). Acerca da patogenicidade de *Phytomonas* em plantas lactíferas, houve inicialmente uma controvérsia considerável, apesar disso, existem indícios que *Phytomonas francai*, parasita encontrado em ductos de látex, é o responsável por acometer o chochamento de raízes em mandioca (*Manihot esculenta*) (JASKOWSKA et al., 2015).

Assim como nos tripanossomatídeos que acometem mamíferos, os *Phytomonas* dependem de vetores para garantir a continuidade do ciclo de vida da espécie (ALVES et al., 2013). Os principais vetores relacionados a esses microrganismos são insetos fitófagos sugadores das famílias, Coreidae, Lygaeidae, Pyrrhocoridae e Pentatomidae. A infecção ocorre no momento em que os insetos ingerem um tecido vegetal contaminado com protozoários flagelados na forma promastigota. Esses parasitas atingem o trato intestinal, posteriormente migram pela hemocele, alcançando as glândulas salivares, assim os insetos infectados transmitem os parasitos para outras plantas via saliva, dando continuidade ao ciclo biológico (LOPES et al., 2010). É importante ressaltar que ainda não existe nenhum tipo de controle curativo para os tripanossomatídeos de plantas. O que se recomenda é a erradicação de plantas que apresentam sintomas das doenças relacionadas às espécies de *Phytomonas* sp. causadoras de danos, além do controle de insetos vetores (JASKOWSKA et al., 2015).

Outro representante dos tripanossomatídeos que afetam as plantas é a *Phytomonas Serpens*. Embora esses parasitas não desencadeiem uma grave doença sistêmica, afetam tomateiros (*Solanum lycopersicum*), provocando manchas amarelas que resultam em frutos de menor valor comercial (SCHWELM et al., 2018). Por outro lado, esse organismo é um importante modelo biológico que auxilia no entendimento de membros patogênicos, pertencentes à família Trypanosomatidae, que acometem plantas e mamíferos, e devido a sua biologia simplificada, auxilia na compreensão dos mecanismos de patogenicidade e das manifestações das doenças em plantas (JASKOWSKA et al., 2015), além de contribuir para o

desenvolvimento de novas formas de tratamento para doenças em seres humanos como a leishmaniose e tripanossomíase (SANTOS JUNIOR et al., 2018).

A *Phytomonas serpens* foi relatada por Gibbs em 1957, quando o pesquisador investigava a seiva dos tomateiros e encontrou organismos com elevado grau de polimorfismo, que se desenvolvem no trato digestivo de insetos e possuem flagelo. A princípio esse organismo foi nomeado de *Leptomonas serpens*, e posteriormente reclassificado em *Phytomonas serpens*, por Podlipaev (GIBBS, 1957; JANKEVICIUS et al., 1989). No que diz respeito às particularidades desses parasitos, a *P. serpens* possui o menor genoma, é de simples isolamento, são aptos a ingerir polissacarídeos vegetais, e são dependentes da glicólise realizada nos glicossomos presentes no corpo celular desses organismos para obter energia, pois não apresentam ciclo de Krebs funcional e algumas subunidades dos citocromos. A *P. serpens* também apresenta especificidade por habitar apenas frutos, em especial tomates maduros, uma vez que os frutos verdes possuem uma elevada concentração de tomatina, composto capaz de romper a membrana plasmática, causando a morte do parasita. (MEDINA et al., 2015; VIEIRA-BERNARDO et al., 2017; EVANGELISTA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; MASLOV et al., 2019; SCHWELM et al., 2018).

Estudos comprovam que os compostos provenientes de plantas são importantes moléculas com atividade antimicrobiana sobre formas promastigotas de *P. serpens*. Silva et al. (2019) relataram que o uso do óleo essencial de *Varronia curassavica* inibiu o crescimento de *P. serpens*, chegando a reduzir cerca de 75% da proliferação celular dos parasitas tratados, além de modificar a morfologia e fisiologia, causando perda da integralidade da membrana celular, alterando o formato das células e o potencial mitocondrial, assim como Pereira et al. (2021) comprovaram atividade tripanocida do óleo essencial das folhas de *L. camara* L. sobre formas promastigotas de *P. serpens* gibbs, sugerindo que o OE de *L. camara* L. é uma fonte promissora de novas substâncias capazes de compor produtos com atividade antiprotozoária.

Nesse sentido, os extratos resultantes de plantas também podem ser utilizados como agentes antimicrobianos (PEREIRA et al., 2018). Cancini et al. (2020) avaliaram o potencial tripanocida do resíduo aquoso liofilizado de folhas de espécies de pimenteiras que posteriormente foram submetidos à extração direta com clorofórmio. O estudo evidenciou que os extratos de *Piper crassinervium* e *Piper amalago* inibiram a proliferação das células de *Phytomonas serpens* com os seguintes valores de IC₅₀: 16,5 µg/mL na fase clorofórmica e 18 µg/mL na fase aquosa, respectivamente. Outro parâmetro analisado foi a citotoxicidade dos resíduos secos em células de mamíferos LLCMK₂, sendo que todos os resíduos da fase clorofórmica apresentaram toxicidade moderada, enquanto os resíduos aquosos obtiveram baixa toxicidade. Da mesma forma, a microscopia eletrônica de varredura exibiu os danos presentes na membrana celular dos protozoários, assim indicando que os extratos podem ser provedores de moléculas eficientes para a formulação de bioprodutos para o controle do parasita.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HAKEIM, H. K.; AL-ZABIBAH, R. S.; ALZIHARI, H. F.; ALMENSOORI, A. K.; AL-ZUBAIDI, H. A.; HASSAN, L. E. A. H. Anticancer And Antiangiogenic Activities Of Alkaloids Isolated From *Lantana Camara* By Adsorption On The Magnetic Nanoparticles. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 7, n. 1, p. 11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33640/2405-609X.2577>
- ALIGHIRI, D.; EDEN, W. T.; SUPARDI, K. I.; PURWINARKO, A. Potential Development Essential Oil Production of Central Java, Indonesia. **Journal of Physics: Conference Series**. In: The 3rd International Conference on Mathematics, Science and Education 2016, v. 824, p. 12-21, 2017. DOI: [10.1088/1742-6596/824/1/012021](https://doi.org/10.1088/1742-6596/824/1/012021)
- ALVES, E. S. T. L.; VASCONCELLOS, L. R. C.; LOPES, A. H.; SOUTO-PADRÓN, T. The Immune Response of Hemocytes of the Insect *Oncopeltus fasciatus* against the Flagellate *Phytomonas serpens*. **PLoS One**, v. 8, p. e72076, 2013. DOI: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0072076>
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ANWAR, T.; QURESHI, H.; MAHNASHI, M. H.; KABIR, F.; PARVEEN, N.; AHMED, D.; AFZAL, U.; BATOOL, S.; AWAIS, M.; ALYAMI, S. A.; ALHAIDER, H. A. Bioherbicidal ability and weed management of allelopathic methyl esters from *Lantana camara*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.026>
- BASHIR, S.; JABEEN, K.; IQBAL, S.; JAVED, S.; NAEEM, A. *Lantana camara*: Phytochemical analysis and antifungal prospective. **Planta Daninha**, v. 37, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100137>
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>
- BOŽOVIĆ, M.; NAVARRA, A.; GARZOLI, S.; PEPI, F.; RAGNO, R. Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. **Natural Product Research**, v. 31, n. 20, p. 2387-2396, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1309534>
- CABRIDO, C.; DEMAYO, C. G. Antimicrobial and cellular metabolic effects of the ethanolic extract of the dallas red variety of *Lantana camara*. **Pharmacophore**, v. 9, n. 1, p. 10-18, 2018.
- CANCINI, N. D. S.; BERALDO-BORRAZZO, J.; MENEZES, J. L. D.; CORTEZ, D. A. G.; VALDEZ, R. H.; GARCIA, F. P.; ABREU FILHO, B. A. D. Activity of Piperaceae extracts and fractions in the control of *Phytomonas serpens*. **Ciência Rural**, v. 50, n. 10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200343>
- CARVALHO, L. M. S.; DO NASCIMENTO, B. R. V.; FERREIRA, A. C. G.; DE FREITAS HIDALGO, A.; PEREIRA, A. M.; SOUZA, L. D. S. S. Experimental optimization and yield evaluation of the essential oil extraction process of the *Otacanthus azureus* plant. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19139-19150, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-180>

CHELLAPPANDIANA, M.; VASANTHA-SRINIVASANA, P.; SENTHIL-NATHANA, S.; KARTHIA, S.; THANIGAIVELA, A.; PONSANKARA, A.; KALAIVANIB, K.; HUNTER, W. B. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. **Environment International**, v. 113, p 214-230, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.12.038>

Comércio Exterior. MDIC – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Balança Comercial e Estatísticas de Comércio Exterior**. Disponível em: <https://www.gov.br/produtividade-e-comercio-exterior/pt-br/assuntos/comercio-exterior/estatisticas> Acesso em: 12 de jul. de 2021.

CZARNECKI, D. M.; DENG, Z. Assessment of the female fertility of 26 commercial *Lantana camara* cultivars and six experimental lines. **HortScience**, v. 55, n. 5, p. 709-715, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14963-20>

DELGADO-ALTAMIRANO, R.; LÓPEZ-PALMA, R. I.; MONZOTE, L.; DELGADO-DOMÍNGUEZ, J.; BECKER, I.; RIVERO-CRUZ, J. F.; ROJAS-MOLINA, A. Chemical constituents with leishmanicidal activity from a pink-yellow cultivar of *Lantana camara* var. *aculeata* (L.) collected in Central Mexico. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 4, p. 872, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20040872>

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3. ed. Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 2009.

DOUGNON, G.; ITO, M. Sedative effects of the essential oil from the leaves of *Lantana camara* occurring in the Republic of Benin via inhalation in mice. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 159-169, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01358-9>

EVANGELISTA, A. F.; KAVATI, E. A.; JANKEVICIUS, J. V.; MENOLLI, R. A. Behavior of α -tomatine and tomatidine against several genera of trypanosomatids from insects and plants and *Trypanosoma cruzi*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.40, p. e41853-e41853, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v40i1.41853>

EZEBO, R. O.; OKONKWO, C. C.; OZOH, C. N.; NWANKWO, C. A.; NWAFOR, E. C.; ESIMAI, B. G.; OBIENYEM, J. N. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Ethanol and Methanol Extracts of *Lantana camara* Leaf. **World News of Natural Sciences**, v. 37, p. 151-163, 2021.

FIGUEIRA, A. C. G.; DE SOUSA, M. A. M.; SAMPAIO, L. R.; DE JESUS, H. V.; MAIA, A. P. V. M.; LEMES, S. R.; LEMES, S. R.; MANSO, J. A. X.; MARINS DE CAMPOS, C. B.; RODRIGUES, L. H. N. S.; FORTES, J. S.; DUARTE, S. S. M.; DE SOUSA, D. F.; DA SILVA, C. C.; DE MELO REIS, P. R. Efeitos mutagênicos e citotóxicos do óleo essencial de *Lantana camara* usando Teste do Micronúcleo em medula óssea de camundongos. **Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, v. 46, n. 1, p. 24-32, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.18224/evs.v46i1.6520>

GAVARIĆ, N.; KLADAR, N.; MIŠAN, A.; NIKOLIĆ, A.; SAMOJLIK, I.; MIMICA-DUKIĆ, N.; BOŽIN, B. Postdistillation waste material of thyme (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae) as a potential source of biologically active compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p.457-464, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.070>

GHARRED, N.; BAAKA, N.; BETTACHE, N.; HAMDI, A.; DBEIBIA, A.; DHAOUADI, H.; DRIDI-DHAOUADI, S. Wastewater to Ecological dyeing process and bioactive compounds resources: case study of *Dittrichia graveolens* hydrodistillation aqueous residue. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-13, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01375-4>

GHISALBERTI, E. L. *Lantana camara* L. (verbenaceae). **Fitoterapia**, v. 71, n. 5, p. 467-486, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00202-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00202-1)

GIBBS, A. J. *Leptomonas serpens* nsp. parasitic in the digestive tract and salivary glands of *Nezara-viridula* (Pentatomidae) and in the sap of *Solanum-lycopersicum* (tomato) and other plants. **Parasitology**, v. 47, n. 3-4, p. 297-303, 1957.

GONCALVES, E.; HERRERA, I.; DUARTE, M.; BUSTAMANTE, R.O.; LAMPO, M.; VELÁSQUEZ, G.; SHARMA, G.P.; GARCÍA-RANGEL, S. Global Invasion of *Lantana camara*: Has the Climatic Niche Been Conserved across Continents? **PLoS One**, v. 9, n.10, e111468., 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111468>

GRAND VIEW RESEARCH, Inc. **Essential Oils Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Food & Beverages, Spa & Relaxation), By Product (Orange, Peppermint), By Sales Channel, And Segment Forecasts, 2020 – 2027**, p. 153, 2020. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/essential-oils-market>. Acesso em: 22 de fev. de 2021.

JAGTAP, S.; KATARIYA, T.; PHARATE, M.; NAJAN, A. A review on medicinal properties of *Lantana camara* Linn. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 9, p. 288-294, 2018. DOI: [10.20959/wjpps20189-12195](https://doi.org/10.20959/wjpps20189-12195)

JANKEVICIUS, J. V.; JANKEVFCIUS, S. I.; CAMPANER, M.; CONCHON, I.; MAEDA, L. A.; TELXEIRA, M. M.; FREYMULIER, E.; CAMARGO, E. P. Life cycle and culturing of *Phytomonas serpens* (Gibbs), a trypanosomatid parasite of tomatoes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 36, n. 3, p. 265-271, 1989.

JASKOWSKA, E.; BUTLER, C.; PRESTON, G.; KELLY, S. *Phytomonas*: trypanosomatids adapted to plant environments. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 1, p. e1004484, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004927>

KALITA, S.; KUMAR, G.; KARTHIK, L.; RAO, K. V. B. A Review on Medicinal Properties of *Lantana camara* Linn. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 5, n. 6, p. 711, 2012.

KHALIFAH, U.; AMIN, N.; JUNAID, M. In vitro test for inhibition of betel (Piper betle L.) and tembelekan (*Lantana camara*) extracts to anthracnose disease (*Colletotrichum acutatum*) in cayenne chili (*Capsicum frutescens*). **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 807, n. 2, p. 022095, 2021. DOI: [10.1088/1755-1315/807/2/022095](https://doi.org/10.1088/1755-1315/807/2/022095)

LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F. G. A Newly Revised Classification of the Protozoa. **The Journal of Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37-58, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1980.tb04228.x>

LOPES, A. H.; SOUTO-PADRÓN, T.; DIAS, F. A.; GOMES, M. T.; RODRIGUES, G. C.; ZIMMERMANN, L. T.; ALVES E SILVA, T. L.; VERMELHO, A. B. Trypanosomatids: odd organisms, devastating diseases. **Open Parasitology Journal**, v. 4, p. 30-59, 2010. DOI: [10.2174 / 1874421401004010030](https://doi.org/10.2174/1874421401004010030)

LOURENÇO, B.; KIZA, A.; JOÃO, A. A.; NICONTE, C. F. O.; VINTUAR, P. A.; GWEMBE, E. A. P.; CUINICA, L. G. Phytochemical analysis and antibacterial activity of extract from *lantana camara* l. leaves. **Research Square**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-151542/v2>

LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S.; DE POORTER, M. **100 of the World's Worst Invasive Alien Species A selection from the Global Invasive Species Database**. Published by The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 12pp. First published as special lift-out in Aliens 12, December 2000. Updated and reprinted version: November 2004.

MAHARAJ, G.; BOURNE, G. R. Honest signalling and the billboard effect: how heliconiid pollinators respond to the trichromatic colour changing *Lantana camara* L.(Verbenaceae). **Journal of Pollination Ecology**, v. 20, n. 5, p. 40-50, 2017.

MAHMOUDI, H.; MARZOUKI, M.; M'RABET, Y.; MEZNI, M.; OUAZZOU, A.A.; HOSNI, K. Enzyme pretreatment improves the recovery of bioactive phytochemicals from sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves and their hydrodistilled residue by-products, and potentiates their biological activities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 8, p.6451-6460, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.003>

MAIA, A. C.; QUEIROZ, T. D. S.; DE OLIVEIRA, A. E.; MATOS, M. V.; ARCANJO-SILVA, S. Fitoterapia Familiar no Assentamento Madre Cristina (Ariquemes, Rondônia). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89780-89798, 2020. DOI: [tps://doi.org/10.34117/bjdv6n11-406](https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-406)

MASLOV, D. A.; OPPERDOES, F. R.; KOSTYGOV, A. Y.; HASHIMI, H.; LUKEŠ, J.; YURCHENKO, V. Recent advances in trypanosomatid research: genome organization, expression, metabolism, taxonomy and evolution. **Parasitology**, v. 146, n. 1, p. 1-27, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182018000951>

MASLOV, D. A.; VOTÝPKA, J.; YURCHENKO, V.; LUKES, J. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: All that is hidden shall be revealed. **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 43–52, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.11.001>

MCGHEE, R. B.; COSGROVE, W. B. Biology and physiology of the lower Trypanosomatidae. **Microbiological Reviews**, v. 44, n. 1, p. 140–173, 1980.

MEDINA, J. M.; RODRIGUES, J. C. F.; MOREIRA, O. C.; ATELLA, G.; SOUZA, W.; BARRABIN, H. Mechanisms of growth inhibition of *Phytomonas serpens* by the alkaloids tomatine and tomatidine. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 1, p. 48-55, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760140097>

NASCIMENTO, L. F A.; BLANK, A. F.; DE SÁ FILHO, J. C. F.; PEREIRA, K. L. G.; DE CASTRO NIZIO, D. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; DE SOUZA, V. T. Morphoagronomic characterization of *Lantana camara* L. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v36n4a2020-48080>

- NEGI, G. C.; SHARMA, S.; VISHVAKARMA, S. C.; SAMANT, S. S.; MAIKHURI, R. K.; PRASAD, R. C.; PALNI, L. M. Ecologia e uso de *Lantana camara* na Índia. **The Botanical Review**, v. 85, n. 2, p. 109-130, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12229-019-09209-8>
- NIETO, G. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 63, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>
- NIRMAL, C. R.; EBENEZER, R. S.; KANNAN, P.; BALASUBRAMANIAN, M.; THIRUNAVUKKARASU, I.; MONDAL, R.; DUSTHACKEER, A. Anti-tuberculosis activity of bio-active compounds from *Lantana camara* L., *Euphorbia hirta* L., *Mukia maderaspatana* (L.) M. Roem, and *Abutilon indicum* (L.). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 35, p. 101105, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101105>
- OLIVEIRA, S. S. C.; GONÇALVES, I. C.; ENNES-VIDAL, V.; LOPES, A. H. C. S.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; D'ÁVILLA-LEVY, C. M.; SANTOS, A. L. S.; BRANQUINHA, M. H. *In vitro* selection of *Phytomonas serpens* cells resistant to the calpain inhibitor MDL28170: alterations in fitness and expression of the major peptidases and efflux pumps. **Parasitology**, v. 145, n. 3, p. 355-370, 2018. DOI: [10.1017/S0031182017001561](https://doi.org/10.1017/S0031182017001561)
- PARRISH, S. B.; QIAN, R.; DENG, Z. Genome Size and Karyotype Studies in Five Species of *Lantana* (Verbenaceae). **HortScience**, v. 1, p. 1-5, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15603-20>
- PATHAN, J. K.; GAUTAM, G.; GUPTA, A. K. Ethnobotany and Phytopharmacology of *Hemidesmus indicus* L. Stem & Leaves and *Lantana camara* L. Stem & Flowers. **International Journal of Current Trends in Science and Technology**, v. 8, n. 07, p. 20235-20244, 2018.
- PATOLE, M.; PATIL, V.; PATIL, S. A Review on Phytochemistry and Medicinal Properties of *Lantana Camara* Linn. **Journal of Seybold Report**, v. 1533, p. 9211, 2020.
- PEREIRA, A. O.; AVILA, J. M.; DO CARMO, G.; SIQUEIRA, F. S.; CAMPOS, M. M.; BACK, D. F.; DALCOL, I. I. Chemical composition, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Aristolochia triangularis* Cham. from Brazil. **Industrial Crops Products**, v.121, p.461-467, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.052>
- PEREIRA, K. L. G.; NIZIO, D. A. C.; LIMA, P. C. N.; FERNANDES, R. P. M.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SÁ FILHO, C. F.; NASCIMENTO, L. F. de A.; SOUZA, V. T. Seasonal variance in the Chemical composition of essential oils from *Lantana camara* accessions and their tripanocida do óleo essencial sobre *Phytomonas serpens*. **Boletim Latino Americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, 2021
- PEREIRA, K. L. G.; NOGUEIRA, P. C. D. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; NIZIO, D. A. C.; SILVA, D. C.; PINTO, J. A. O.; BLANK, A. F. Chemical diversity of essential oils of *Lantana camara* L. native populations. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 1, p. 32-47, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1661879>
- PODLIPAEV, S. A. Insect Trypanosomatids: The Need to Know More. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 517-522, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762000000400013>

PUNASIYA, R.; CHOUDHARY, J.; PILLAI, S. Analgesic activity of ethanolic extract of flower of *Lantana camara*. **Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology**, v. 9, n. 4, p. 180-182, 2017. DOI: [10.5958 / 0975-4377.2017.00029.5](https://doi.org/10.5958/0975-4377.2017.00029.5)

ROSS, I. A. **Medicinal plants of the world, volume 3: Chemical constituents, traditional and modern medicinal uses**. Springer Science & Business Media, 2007.

SANDERS, R. W. Taxonomy of *Lantana* sect. *Lantana* (Verbenaceae): I. Correct application of *Lantana camara* and associated names. **Sida, Contributions to Botany**, p. 381-421, 2006.

SANKARA, A.; OUÉDRAOGO, J. C. W.; PIGNOLET, L.; THÉVENON, M. F.; BONZI-COULIBALY, Y. Chemical profiles and anti-termite activity of hydrodistillation residues from three aromatic plants acclimated in Burkina Faso. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 8, p. 245-256, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v12n8p245>

SANTOS JÚNIOR, A. D. C. M.; RICART, C. A. O.; PONTES, A. H.; FONTES, W.; SOUZA, A. R. D.; CASTRO, M. S.; DE LIMA, B. D. Proteome analysis of *Phytomonas serpens*, a phytoparasite of medical interest. **PloS one**, v. 13, n. 10, p. e0204818, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204818>

SANTOS, R. C.; DE MELO, A. A.; CHAGAS, E. A.; FERNÁNDEZ, I. M.; TAKAHASHI, A.; FERRAZ, V. P. 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**, p. 1-7, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1555102>

SCHWELM, A.; BADSTÖBER, J.; BULMAN, S.; DESOIGNIES, N.; ETEMADI, M.; FALLOON, R. E.; NEUHAUSER, S. Not in your usual Top 10: protists that infect plants and algae. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 4, p. 1029-1044, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12580>

SHANAIDA, M.; HUDZ, N.; JASICKA-MISIAK, I.; WIECZOREK, P. P. Polyphenols and Pharmacological Screening of a *Monarda fistulosa* L. dry Extract Based on a Hydrodistilled Residue By-Product. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 406, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.563436>

SHANKAR, S.; PRASAD, S.; OWAIZ, M.; YADAV, S.; MANHAS, S.; YAQOOB, M. Essential Oils, Components And their applications: A review. **Plant Archives**, v. 21, n. 1, p. 2027-2033, 2021. DOI: <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331>

SHARMA, O. P.; SHARMA, S.; PATTABHI, V.; MAHATO, S. B.; SHARMA, P. D. review of the hepatotoxic plant *Lantana camara*. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 313-352, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408440601177863>

SILVA, K. P.; DE CARVALHO SANTOS, T. A.; MOUTINHO, B. L., DA SILVA, R. S.; DOS SANTOS PINTO, V.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M. Using *Varronia curassavica* (Cordiaceae) essential oil for the biocontrol of *Phytomonas serpens*. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111523, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111523>

SIMPSON, A. G. B.; STEVENS, J. R.; LUKES, J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 4, p. 168–174, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.02.006>

SOUSA, E. O.; COSTA, J. G.M. Genus *Lantana*: chemical aspects and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 22, n. 5, p. 1115-1180, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000058>

SRIVASTAVA, D.; SINGH, P. Antifungal potential of two common weeds against plant pathogenic fungi-*Alternaria* sps. **Asian Journal Experimental Biolical Sciences**. sci, v. 2, n. 3, p. 525-528, 2011.

TADESSE, E.; ENGIDAWORK, E.; NEDI, T.; MENGISTU, G. Evaluation of the anti-diarrheal activity of the aqueous stem extract of *Lantana camara* Linn (Verbenaceae) in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1696-1>

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; IZQUIERDO-MELERO, M. E.; POLISSIOU, M.; ASTRAKA, K.; TARANTILIS, P. A.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; SANTANA-MÉRIDAS, O. Comparative chemistry and biological properties of the solid residues from hydrodistillation of Spanish populations of *Rosmarinus officinalis* L. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 2, p. 79, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3989/gya.1060142>

VALENTIM, J. A.; SOARES, E. C. Extração de Óleos Essenciais por Arraste a Vapor: Um Kit Experimental para o Ensino de Química. **Química Nova Escola**, v. 40, n. 4, p. 297-301, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160131>

VED, A.; ARSI, T.; PRAKASH, O.; GUPTA, A. A review on phytochemistry and pharmacological activity of *Lantana camara* Linn. **Int J Pharm Sci Res**, v. 9, n. 1, p. 37-43, 2018. DOI: [10.13040 / IJPSR.0975-8232.9 \(1\) .37-43](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(1).37-43)

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 8, p. 1317-1331, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90198-8](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90198-8)

VIEIRA-BERNARDO, R.; GOMES-VIEIRA, A. L.; CARVALHO-KELLY, L. F.; RUSSO-ABRAHAO, T.; MEYER-FERNANDES, J. R. The biochemical characterization of two phosphate transport systems in *Phytomonas serpens*. **Experimental Parasitology**, v. 173, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.12.007>

WIRTH, F. F.; DAVIS, K. J.; WILSON, S. B. Florida nursery sales and economic impacts of 14 potentially invasive landscape plant species. **Journal of Environmental Horticulture**, v. 22, n. 1, p. 12-16, 2004. DOI: <https://doi.org/10.24266/0738-2898-22.1.12>

WOLLINGER, A.; PERRIN, E.; CHAHBOUN, J.; JEANNOT, V.; TOURAUD, D.; KUNZ, W. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 6, p. 754-765, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2015.12.014>

WU, C.; WANG, F.; LIU, J.; ZOU, Y.; CHEN, X. A comparison of volatile fractions obtained from *Lonicera macranthoides* via different extraction processes: ultrasound, microwave, Soxhlet extraction, hydrodistillation, and cold maceration. **Integrative Medicine Research**, v. 4, n. 3, p. 171-177, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imr.2015.06.001>

4. ARTIGO

ATIVIDADE ANTI-*PHYTOMONAS* DA ÁGUA RESIDUAL DA HIDRODESTILAÇÃO DE FOLHAS DE *Lantana camara* L.

RESUMO

Em escala industrial, os resíduos acumulados em destilarias de óleos essenciais podem ser comparados ao volume de resíduos produzidos em uma indústria têxtil. Embora esses resíduos sejam descartados, eles possuem moléculas que apresentam diversas atividades biológicas, incluindo sua aplicação no controle de fitopatógenos. No presente estudo o perfil químico do resíduo da hidrodestilação de folhas de *Lantana camara* L. foi determinado por HPLC. Em adição, foi avaliado o efeito do resíduo sobre as células através da determinação da integridade da membrana plasmática, dos níveis de produção de espécies reativas a oxigênio (EROs), e da despolarização do potencial mitocondrial. A viabilidade e a densidade celular dos parasitos de *Phytomonas serpens* diminuíram significativamente após tratamento com concentrações crescentes do resíduo liofilizado. O resíduo liofilizado do acesso LAC-038 (RL038) reduziu em média 61,36% da viabilidade celular. Os níveis de EROs aumentaram em aproximadamente 2x e 3x nas concentrações de 120 µg/mL e 180 µg/mL do RL038, respectivamente. Foi observado que as mesmas concentrações modificaram o potencial mitocondrial, reduzindo a fluorescência em 44,6% e 46,8%, respectivamente. A partir da cromatografia líquida analítica do RL038 foi possível observar a presença de 17 picos que posteriormente foram classificados como ácidos fenólicos e flavonoides. O RL038 da hidrodestilação das folhas de *L. camara* é uma fonte de compostos biologicamente ativos com potencial antiprotozoário.

Palavras-chave: Resíduos da hidrodestilação; biorrefinaria, mecanismo de ação, EROS, potencial membrana mitocondrial.

Anti-Phytomonas activity of the lyophilized residue obtained from the distillation of *Lantana camara* L. essential oil

ABSTRACT

On an industrial scale, the residues accumulated in essential oil distilleries can be compared to the volume of residues produced in a textile industry. Although these residues are discarded, they have molecules that have different biological activities, including their application in the control of phytopathogens. In the present study, the chemical profile of the residue from the hydrodistillation of *Lantana camara* L. leaves was determined by HPLC. In addition, the effect of the residue on cells was evaluated by determining the integrity of the plasma membrane, the levels of production of reactive oxygen species (ROS), and the depolarization of the mitochondrial potential. The viability and cell density of *P. serpens* parasites significantly decreased after treatment with increasing concentrations of the lyophilized residue. RL038 reduced on average 61.36% of cell viability. ROS levels increased by approximately 2x and 3x at RL038 concentrations of 120 µg/mL and 180 µg/mL, respectively. It was observed that the same concentrations modified the mitochondrial potential, reducing fluorescence by 44.6% and 46.8%, respectively. From the analytical liquid chromatography of RL038 it was possible to observe the presence of 17 peaks that were later classified as phenolic acids and flavonoids. RL038 from the hydrodistillation of *Lantana camara* L. leaves is a source of biologically active compounds with antiprotozoan potential.

Keywords: Residues from hydrodistillation; biorefinery, mechanism of action, ROS, mitochondrial membrane potential

4.1. Introdução

Os óleos essenciais são misturas ricas em compostos aromáticos que possuem diversas aplicações. Atualmente são utilizados como ingredientes da produção de bebidas, alimentos, fragrâncias, cosméticos e fármacos, além de serem considerados a principal ferramenta da aromaterapia, segmento da medicina, na qual o tratamento dos pacientes ocorre com o auxílio desses óleos (Shankar et al., 2021). Embora exista uma crescente demanda por esses produtos (Alighiri et al., 2017), o rendimento de óleo essencial em muitas espécies de plantas é baixo, e resulta em grande volume de resíduos durante a destilação (Napoli et al., 2020). Em escala industrial, os resíduos acumulados em destilarias de óleos essenciais podem ser comparados ao volume de resíduos produzidos em uma indústria têxtil (Gharred et al., 2021) e o descarte incorreto desses materiais podem provocar sérios danos ao ambiente.

O aproveitamento máximo das matérias-primas, a redução do gasto de energia e da produção de resíduos, assim como a sua transformação em novos produtos, faz parte do conceito de biorrefinaria. Na indústria de óleos essenciais os resíduos são geralmente descartados, porém deles podem ser extraídos vários compostos úteis em outras cadeias produtivas, a exemplo do ácido rosmarínico, um importante antioxidante natural que pode ser obtido a partir do resíduo líquido proveniente do processo de hidrodestilação das folhas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (Wollinger et al., 2016), e compostos fenólicos, extraídos do resíduo sólido da hidrodestilação de *R. officinalis*, os quais possuem efeito deterrente sobre insetos-praga (Sánchez-Vioque et al., 2015). Sankara et al. (2020) relataram que o resíduo da hidrodestilação de *Eucalyptus camaldulensis* pode fornecer compostos bioativos interessantes como novos agentes anticupins na proteção de plantas. Assim como, Mahmoudi et al. (2020) relataram que folhas hidrodestiladas de manjerição (*Ocimum basilicum*) apresentam boa atividade repelente contra pragas de grãos armazenados, *Tribolium castaneum*.

Lantana camara L. (Verbenaceae) é uma espécie aromática amplamente conhecida pelo mundo por seu uso ornamental. Na medicina tradicional é comum a utilização de suas folhas, ramos e raízes no tratamento de cortes, febres, dores de cabeça, palpitações, tétano, reumatismo, malária, úlceras, entre outros (Gindri e Coelho, 2020). Nessa espécie, são encontrados diversos compostos bioativos, como terpenoides, alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos e glicosídeos, aos quais foram atribuídas diversas atividades biológicas como anticancerígena e antiangiogênica (Al-Hakeim et al., 2021), anti-inflamatória (Wu et al., 2020), antituberculose (Nirmal et al., 2020) e sedativa (Dougnon e Ito, 2020), além de antifúngica (Bashir et al., 2019), herbicida (Qureshi, et al., 2019), nematocida (Bordoloi et al., 2021), inseticida (Ayalew, 2020) e tripanocida (Delgado-Altamirano et al., 2019).

Os tripanossomatídeos são microrganismos adaptados à vida em fluidos ricos em glicose, onde a sua maioria são parasitas de animais, com exceção do gênero *Phytomonas*, cujos representantes são parasitas vegetais (Maslov et al., 2019). Algumas espécies são causadoras de doenças graves em grandes culturas de interesse econômico. *Phytomonas staheli*, causadora da murcha letal aguda em coqueiros (*Cocos nucifera*) e dendezeiros (*Elaeis guineensis*) que inicia com o apodrecimento das folhas e posteriormente avança para a lança e raízes, e *Phytomonas leptovasorum*, agente patogênico da necrose no floema do café (Arábica e Libéria) (Jaskowska et al., 2015), são exemplos de importantes patógenos de plantas capazes de oferecer riscos econômicos em países tropicais.

Phytomonas serpens é um importante modelo biológico que auxilia no entendimento de membros patogênicos, pertencentes à família Trypanossomatidae, que acometem plantas e mamíferos, e devido a sua biologia simplificada auxilia na compreensão dos mecanismos de patogenicidade e das manifestações das doenças em plantas e animais (Jaskowska et al., 2015; Santos Júnior et al., 2018). Em um estudo recente, demonstrou-se, pela primeira vez, a

atividade tripanocida do óleo essencial de *L. camara* L. em *P. serpens* (Pereira et al., 2021), confirmando o potencial desse produto no tratamento das doenças economicamente importantes causadas por outras espécies de *Phytomonas*. Porém, o rendimento do óleo essencial de *L. camara* é baixo (geralmente 0,2%), sendo que, por arraste a vapor, 500 kg de biomassa rendem cerca de 200 mg de óleo essencial e, por hidrodestilação, a espécie apresenta um teor médio variando de 0,1 a 0,5% (Negi et al., 2019; Pereira et al., 2020). Por outro lado, o volume de resíduo gerado no processo de hidrodestilação do óleo essencial é alto e constitui uma fonte promissora de moléculas bioativas.

Assim, tendo em vista a importância comercial das culturas devastadas por espécies do gênero *Phytomonas* e o potencial de produtos do metabolismo de *L. camara* L. em controlar a proliferação desses fitopatógenos, o presente trabalho avaliou a ação de resíduos da hidrodestilação das folhas de *L. camara* L. sobre a viabilidade de *Phytomas serpens in vitro*, assim como seu efeito sobre a integridade da membrana plasmática e do potencial da membrana mitocondrial destes fitopatógenos.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Material vegetal

Foram selecionados quatro acessos de *Lantana camara* L., LAC-033, LAC-038, LAC-017 e o LAC-025, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe. A escolha dos acessos foi amparada por trabalhos anteriores, nos quais se determinou a caracterização química dos óleos essenciais das plantas do BAG (Pereira et al., 2021). O acesso ao material vegetal foi registrado sob o número de identificação A8CCB3B no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional (SisGen) de acordo com o artigo 4º da Portaria nº 8.772 / 2016 do Ministério do Meio Ambiente do Brasil.

As folhas foram coletadas e submetidas à hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado, utilizando amostras de 75g de folhas secas, com adição de 1,5L de água destilada, durante 140 minutos. O efluente, resultante da decocção das folhas, foi filtrado, separado em amostras de 200mL, e acondicionado em ultrafreezer a -80°C (Liotop UFR30, Liobras, São Carlos, SP) por 24 horas. Em seguida foram transferidas para um liofilizador (Liotop L101, Liobras), onde perduraram por cinco dias em temperatura de -54°C e pressão de 79 μmHg , até a sublimação completa da água contida nas amostras. Ao final desse processo foram obtidos os “Resíduos Liofilizados (RLs)” dos acessos, e daqui por diante denominados de RL038 (acesso LAC-038), RL017 (acesso LAC-017), RL025 (acesso LAC-025) e RL033 (acesso LAC-033).

4.2.2. Obtenção dos parasitos

Os parasitos de *Phytomonas serpens* (9T) foram obtidos da coleção de tripanossomatídeos da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. As formas promastigotas foram cultivadas em meio de cultura Schneider (Sigma-Aldrich®), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich®) e 1% de estreptomicina, a 26°C em incubadora BOD.

4.2.3. Viabilidade celular de *Phytomonas serpens* expostas aos resíduos de acessos de *Lantana camara* L.

Promastigotas foram cultivadas a 26°C em BOD, e em seguida 1×10^5 células foram depositadas em microplacas de 96 poços e tratadas por 48 horas com os quatro resíduos liofilizados (RLs) em diluição seriada nas concentrações de 100,0 a 1,5 $\mu\text{g/mL}$. O controle negativo foi constituído por células não tratadas e o controle positivo, por células tratadas pelo antibiótico Anfotericina B. Após 48 horas de tratamento, 50 μL de solução de resazurina (200 μM) foi adicionada a cada poço, e as placas foram incubadas no escuro por 30 minutos. Esse corante é um indicador de viabilidade celular, que quando adicionado à cultura entra nas

células e é reduzido pelas desidrogenases mitocondriais das células viáveis à resofurina, alterando a coloração do meio do azul para o rosa. A viabilidade celular foi medida por espectrofluorimetria em comprimento de onda de 555 nm de excitação e de 585 nm de emissão em leitor de microplacas (Synergy™ H1, BioTekHybrid Technology). A partir dos valores de viabilidade celular obtidos foi calculada a IC₅₀ (Concentração que inibe 50% das células). O resíduo liofilizado (RL) do acesso que apresentou o menor valor de IC₅₀ foi utilizado nos ensaios subsequentes.

4.2.4. Curva de crescimento de *Phytomonas serpens* tratadas com resíduo selecionado

As promastigotas (1×10^5 células/mL) foram tratadas ou não com o resíduo liofilizado (RL), que apresentou menor IC₅₀ nas concentrações de 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100 µg/mL, e em seguida foram incubadas em placas de 12 poços por 72 horas, em estufa B.O.D a 26°C. O número de células foi avaliado nos tempos de 24, 48 e 72 horas, pela contagem direta em câmara de Neubauer, em microscópio óptico na objetiva de 10X e os resultados foram utilizados para construir a curva de crescimento.

4.2.5. Efeito do RL nas células de *Phytomonas serpens*

O efeito do RL na integridade da membrana plasmática, no potencial de membrana mitocondrial e na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) foi avaliado em células de *P. serpens*. Em todas as avaliações as promastigotas (5×10^5 células/mL) foram tratadas durante 48 horas com diferentes concentrações do resíduo liofilizado (RL) selecionado. Em seguida foram usadas para os procedimentos específicos para cada avaliação conforme descrito a seguir.

4.2.5.1 Integridade da membrana plasmática

As células tratadas foram expostas ao iodeto de propídio (40 µg/mL) durante 15 minutos. A incorporação do iodeto de propídio, indicativo da perda da integridade da membrana, foi avaliada por citometria de fluxo utilizando o Citômetro Attune® Acoustic Focusing (Life Technologies). Um total de 10.000 eventos foram obtidos e analisados pelo programa Attune® Cytometer Software. A incorporação do iodeto de propídio foi também avaliada por fluoroescanometria, utilizando os comprimentos de onda de 488 nm de excitação e de 620 nm de emissão. Como controle negativo foi usado células não tratadas e o controle positivo por células aquecidas a 80°C por 10 minutos.

4.2.5.2. Potencial de membrana mitocondrial

Após os tratamentos as células foram lavadas duas vezes em PBS estéril (3000 rpm/ 10 minutos/ 4°C), e foram ressuspensas em 100 µL de PBS. Células tratadas com o RL foram expostas a 10 µg/mL de Rodamina 123 (Rh123, Sigma-Aldrich) na ausência de luz, durante 15 minutos. Após o período de tratamento, foram adicionados 400 µL de PBS e as modificações no potencial da membrana da mitocôndria foram avaliadas por citometria de fluxo utilizando o Citômetro Attune® Acoustic Focusing (Life Technologies). Um total de 10.000 eventos foram obtidos e estudados pelo programa Attune® Cytometer Software. Células não tratadas com RL foram utilizadas como controle negativo e células tratadas com 50 µM de Carbonilcianeto 4-clorofenilhidrazona (CCCP), como controle positivo. O índice de variação (IV) foi determinado pela equação $(MT - MC)/MC$, na qual MT corresponde à mediana de fluorescência da Rh123 das células tratadas com o RL, e MC à mediana de fluorescência das células não tratadas.

4.2.5.3 Espécies reativas de oxigênio

Após os tratamentos, um volume contendo 1×10^7 promastigotas foram lavados duas vezes em PBS estéril (3000 rpm/ 10 minutos/ 4°C) e posteriormente foram ressuspensas em 100 µL de PBS e transferidas para microplacas de 96 poços. Células tratadas com o RL foram

expostas a 20 μM de 2,7-diclorodihidrofluoresceína diacetato (H_2DCFDA) na ausência de luz, durante 30 minutos. A fluorescência produzida pela formação de DCF como resultado da interação do H_2DCFDA com o EROS produzido foi medida por espectrofluorimetria nos comprimentos de onda de 492 nm de excitação e de 527 nm de emissão utilizando leitor de microplacas Synergy™ H1 (BioTekHybrid Technology). Como controle negativo foram usadas células não tratadas e o controle positivo por células tratadas com 750 μM de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), durante 30 minutos.

4.2.6. Perfil químico qualitativo do resíduo liofilizado (RL)

A análise cromatográfica para obtenção do perfil químico qualitativo do resíduo liofilizado do acesso da coleção de *Lantana camara* L. com maior atividade antiprotozoária foi realizada em um cromatógrafo líquido analítico (HPLC) da marca Shimadzu (Quioto, Japão), modelo Prominence, constituído por módulo de comunicação CBM-20A, degaseificador DGU-20A3, sistema binário de bombas LC-20AT, injetor automático SIL-20AHT, detector espectrofotométrico com arranjo de diodos SPD-M20A e forno de colunas CTO-20A.

As amostras analisadas foram preparadas dissolvendo 10mg do RL em 1 mL de água ultrapura (10 mg/mL). Em seguida, cada amostra foi filtrada através de filtro seringa de 0,45 μm e transferida para o *vial* de análise. Para a separação dos compostos químicos presentes nas amostras foi utilizada uma coluna cromatográfica de fase estacionária C18 (250 x 4,6mm, 5 μm , 100 Å, Kinetex, Phenomenex) conectada a uma coluna de guarda de mesma fase estacionária, gradiente exploratório de eluição: 5 a 100% de B em 60 min, 100 a 100% de B em 10 min, 100 a 5% de B em 5 min, com 40 minutos de condicionamento da coluna a 5% de B. Foi empregado volume de injeção da amostra de 25 μL e temperatura da coluna de 30 °C. A fase móvel utilizada foi formada por uma mistura binária de metanol (B) e solução aquosa de ácido fórmico 0,5% (v/v) (A) na vazão de 1 mL/minuto. O comprimento de onda utilizado para a detecção dos compostos químicos foi de 254 nm.

4.2.7. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com auxílio do programa GraphPad Prism 7.01. Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão e as diferenças em relação aos controles não tratados foram consideradas significativas quando $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**) e $P < 0,001$ (***). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

4.3. Resultados

4.3.1. Ação do resíduo liofilizado dos acessos de *Lantana camara* L. sobre a viabilidade celular de *Phytomonas serpens*

Inicialmente foi realizado um screening da atividade antiprotozoária dos resíduos liofilizados (RL) de quatro acessos de *Lantana camara* L. sobre *Phytomonas serpens*. A viabilidade celular do parasito diminuiu conforme as concentrações dos RLs aumentaram (Figura 1A). Os valores de IC_{50} obtidos para os quatro RLs de *L. camara* L. foram: 13,68 $\mu\text{g/mL}$ (RL038); 17,50 $\mu\text{g/mL}$ (RL017); 35,16 $\mu\text{g/mL}$ (RL025); 43,69 $\mu\text{g/mL}$ (RL033), (Figura 1B). Embora os quatro RLs apresentem boa inibição da viabilidade dos parasitas o RL038 foi selecionado para os experimentos posteriores por apresentar menor IC_{50} .

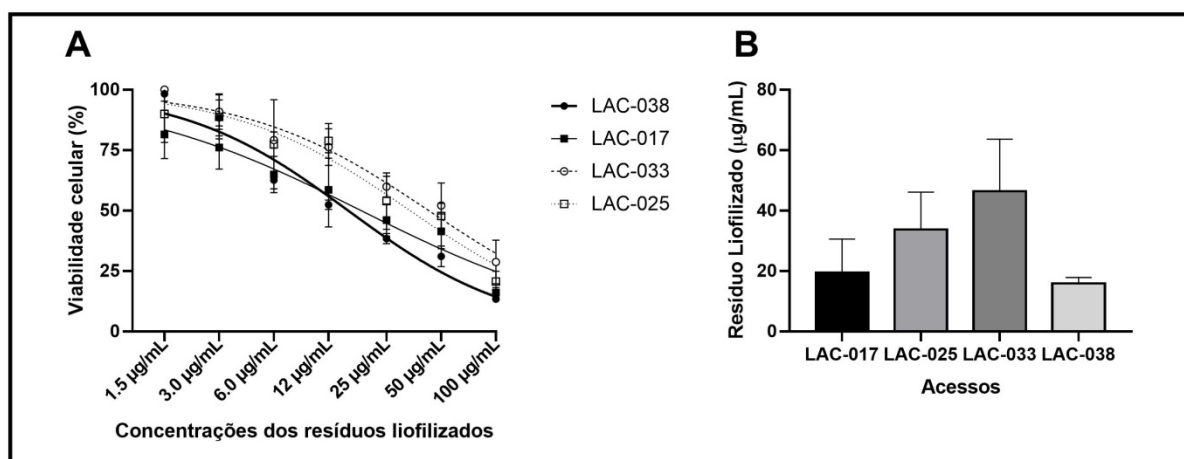


Figura 2. Efeito do resíduo liofilizado de quatro acessos de *Lantana camara* L. sobre formas promastigotas de *Phytomonas serpens*. Parasitos (1×10^5 células/mL) foram tratados com 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 25,0; 50,0 e 100 µg/mL durante 48 horas e a viabilidade avaliada pelo teste colorimétrico da resazurina. (A) Viabilidade celular. (B) Valores (IC_{50}) do resíduo liofilizado. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes.

4.3.2. Ação do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de *Lantana camara* L. sobre o crescimento de *Phytomonas serpens*

RL038 afetou a proliferação de *Phytomonas serpens* em todas as concentrações avaliadas, sendo as concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL do RL038 as que reduziram de forma acentuada a densidade celular das formas promastigotas (Figura 2A). Após 24 horas, a concentração de 50 µg/mL reduziu 47% do crescimento das células e a concentração de 100 µg/mL inibiu 59%. No tempo de 48 horas as mesmas concentrações reduziram 52% e 76% do crescimento dos promastigotas, respectivamente, e observando o período de 72 horas, ocorreu uma redução de 65% na densidade de células na concentração de 25 µg/mL do RL038, e uma inibição de 84% e 95% nas concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL, respectivamente (Figura 2B).

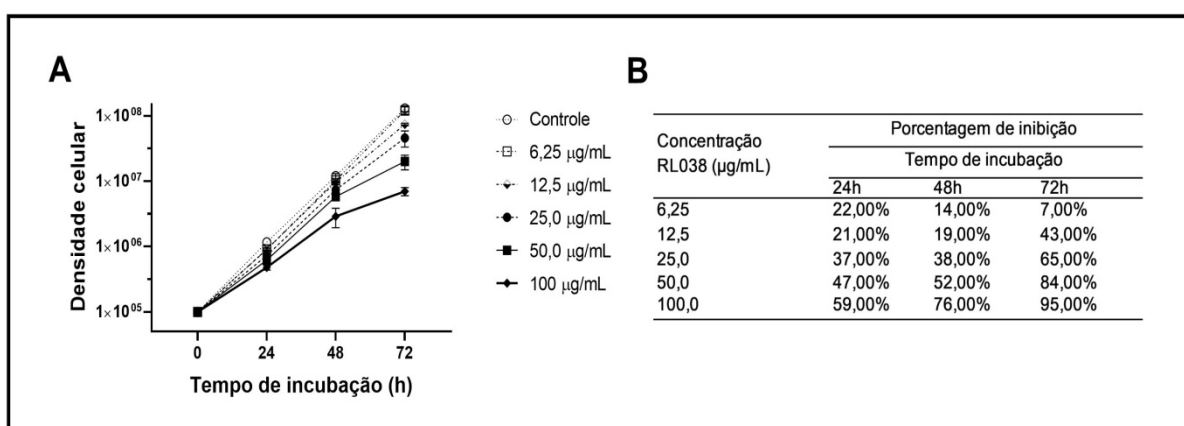


Figura 23. Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de *Lantana camara* L. sobre o crescimento de promastigotas de *Phytomonas serpens*. Os parasitos (1×10^5 células/mL) foram tratados com 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100 µg/mL do resíduo liofilizado durante 72 horas, sendo realizada a contagem direta a cada 24h. (A) Curva do crescimento celular. (B) Porcentagem de inibição. Controle igual a células não tratadas. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes.

4.3.3. Avaliação da integridade da membrana celular de promastigotas de *Phytomonas serpens*

Para determinação da integridade da membrana foi usada a sonda fluorescente iodeto de propídio (PI), um intercalante de DNA de elevado peso molecular que não penetra a célula com membrana intacta. As análises de citometria de fluxo e espectrofluorimetria demonstraram que o RL038, nas concentrações avaliadas, não afetou a integridade da membrana plasmática (dados não mostrados).

4.3.4. Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio de promastigotas de *Phytomonas serpens*

A produção de espécies reativas de oxigênio em promastigotas de *P. serpens* tratadas com 60, 120 e 180 µl/mL do RL038 foi avaliada utilizando a sonda fluorescente H₂DCFDA. Foi observado que nas duas maiores concentrações houve aumento significativo no acúmulo de EROs quando comparado com as células não tratadas ($P < 0,05$, $P < 0,01$) (Figura 3). O acúmulo de EROs foi de aproximadamente 2x e 3x nas concentrações de 120 µl/mL e 180 µl/mL, respectivamente.

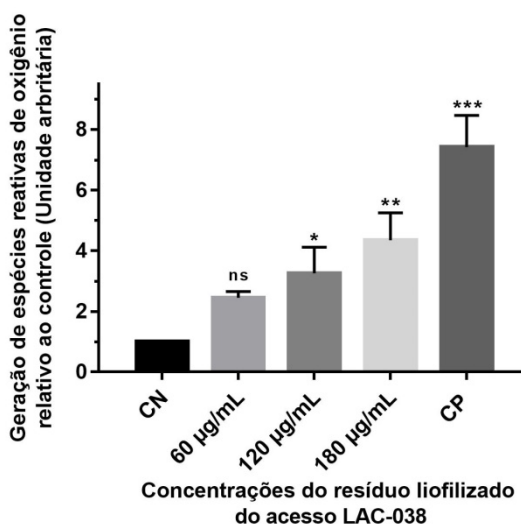


Figura 4. Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de *Lantana camara* L. sobre a produção de espécies reativas de oxigênio em promastigotas de *Phytomonas serpens*. Os parasitos (5×10^5 células/mL) foram tratados com 60, 120 e 180 µg/mL do resíduo liofilizado por 48 horas. Os níveis de EROS foram avaliados espectrofluoreticamente utilizando a sonda H₂DCFDA. Células não tratadas representam o controle negativo (CN) e células incubadas com H₂O₂ (750 µM, 30 min) correspondem ao controle positivo (CP). Os dados de fluorescência foram relativizados com controle negativo. Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão de três experimentos independentes. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, (*) $P < 0,05$, (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (ns) não significativo.

4.3.5. Avaliação do potencial mitocondrial de promastigotas de *Phytomonas serpens*

Promastigotas de *P. serpens* tratadas com 60, 120 e 180 µg/mL do RL038 foram coradas com Rodamina 123 e avaliadas por citometria de fluxo para verificar o efeito do resíduo liofilizado. Células tratadas com 120 e 180 µl/mL do RL038 reduziram o potencial mitocondrial em comparação com as células não tratadas. Os resultados do índice de variação (Figura 3B) mostraram redução na fluorescência nas concentrações de 120 µl/mL e 180 µl/mL. Essas concentrações reduziram a fluorescência em 44,6% (IV= -0,446) e 46,8% (IV= -0,468), respectivamente. Essa redução não diferiu estatisticamente da redução na fluorescência do controle positivo que foi de 56,0% (IV= -0,560). Esses resultados foram

confirmados pela análise estatística das medianas de fluorescência obtidas e relativizadas ao controle negativo ($P < 0,05$) (Figura 4A).

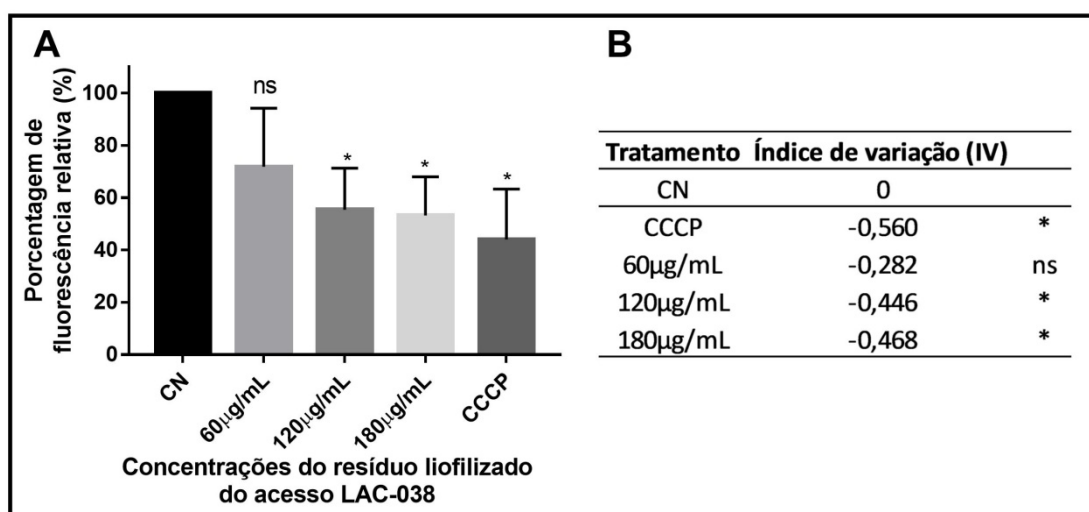


Figura 5. Efeito do resíduo liofilizado do acesso LAC-038 de *Lantana camara* L. sobre o potencial mitocondrial de promastigotas de *Phytomonas serpens*. Os parasitos (5×10^5 células/mL) foram tratados com 60, 120 e 180 µg/mL do resíduo liofilizado por 48 horas e corados com Rodamina123 e avaliados por citometria de fluxo. Células não tratadas representam o controle negativo (CN) e células incubadas com Carbonilcianeto 4-clorofenilhidrazona (CCCP) correspondem ao controle positivo (CP). (A) Medianas da fluorescência relativizada ao controle negativo. (B) Índice de variação. Os resultados foram expressos em porcentagem de fluorescência relativa $\pm$ erro padrão. (*) $P < 0,05$ indica diferença estatística em relação ao controle não tratado e (ns), não significativo.

4.3.6. Perfil químico qualitativo do resíduo

O perfil químico qualitativo do RL038 foi determinado por cromatografia líquida analítica (HPLC) (Figura 5A). Foi observada a presença de 17 picos e seus respectivos espectros ultravioletas, os quais foram utilizados para identificar as classes de metabólitos secundários presentes no RL038. Os resultados desta análise qualitativa indicaram a presença de ácidos fenólicos e flavonoides (Figura 5B).

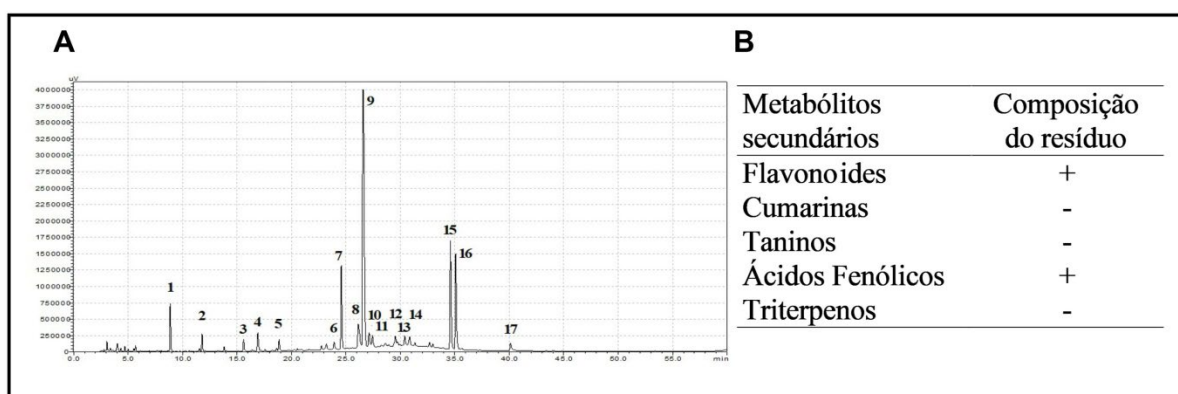


Figura 6. Triagem das classes de compostos de *Lantana camara* L. (A) Perfil químico do resíduo liofilizado do acesso LAC-38. Ácidos fenólicos (Pico 1 - 6), flavonoides (Pico 11 - 17), Não claro (Pico 7 - 10). (B) Classes de compostos detectadas no resíduo liofilizado do acesso LAC-38 (-) Ausência (+) Presença.

4.4. Discussão

O mercado global de óleos essenciais movimentou, em 2020, 18,62 bilhões de dólares americanos e estima-se um forte crescimento para os próximos anos, podendo atingir o valor de 33,26 bilhões de dólares até 2027, com estimativa de comercialização de 473,31 mil toneladas de óleos essenciais (Grand View Research, 2021). Apesar de existir uma grande demanda por esses produtos, o rendimento de óleo essencial em muitas espécies de plantas quase sempre é baixo (Alighiri et al., 2017). Em contrapartida, milhões de toneladas de resíduos são gerados durante a produção e são eliminados no ambiente, em alguns casos, sem tratamento (Peshev, 2020). Embora esses resíduos sejam descartados, eles apresentam muitas moléculas biologicamente ativas, as quais exibem diversas atividades biológicas. O resíduo da hidrodestilação de *Dittrichia graveolens*, com alto teor de flavonoides, apresentou atividades antioxidante, antibacteriana e anti-inflamatória, com a vantagem de não ser citotóxico para fibroblastos (Gharred et al., 2021).

O gênero *Phytomonas*, pertencente à família Trypanosomatidae, apresenta membros patogênicos, que são parasitos causadores de doenças em plantas e humanos. Algumas espécies desse gênero causam doenças severas em grandes culturas, a exemplo, da murcha letal aguda em dendezeiros e coqueiros (*Phytomonas staheli*), necrose no floema do café (*Phytomonas leptovisorum*), chochamento de raízes em mandioca (*Phytomonas françai*) (Jaskowska et al., 2015). Apesar de não causar doença grave sistêmica, *P. serpens* pode comprometer o valor comercial de tomateiros devido ao aparecimento de manchas amarelas em frutos parasitados (Schwelm et al., 2018). No entanto, essa espécie constitui um modelo biológico importante, pois apresenta características biológicas semelhantes aos demais membros patogênicos pertencentes à família Trypanosomatidae. Além disso, ao contrário das demais espécies patogênicas, *P. serpens* é de fácil isolamento e cultivo em laboratório, viabilizando estudos *in vitro* nas mais diversas áreas.

Estudos comprovam que os compostos provenientes de plantas medicinais são importantes moléculas com atividade antimicrobiana sobre formas promastigotas de *P. serpens*. Extratos de folhas de *Piper crassinervium* e *P. amalago* inibiram a proliferação de *P. serpens*, *in vitro*, com citotoxicidade baixa a moderada em células de mamíferos (Cancini et al., 2020). Silva et al. (2019) relataram que o uso do óleo essencial de *Varronia curassavica* inibiu o crescimento de *P. serpens*, causando perda da integridade da membrana celular. Já Pereira et al. (2021) comprovaram efeito inibitório do óleo essencial de *L. camara* L. sobre formas promastigotas dessa mesma espécie. Desta maneira, este estudo visou avaliar o efeito da água residual do processo de hidrodestilação das folhas de *L. camara* como fonte de compostos naturais para o controle de protozoários do gênero *Phytomonas*.

Neste estudo foi possível demonstrar a ação antiprotozoária, de resíduos da cadeia de produção de óleos essenciais de quatro acessos de *L. camara* L. sobre *P. serpens*. Os resultados demonstraram que as quatro amostras de resíduos liofilizados avaliadas apresentaram atividade antiprotozoária em baixas concentrações, com IC₅₀ variando de 13,68 a 43,69 µg/mL. Embora os quatro RLs tenham apresentado boa inibição da viabilidade dos parasitas, o RL038 foi selecionado por apresentar menor IC₅₀.

A partir do perfil químico qualitativo da amostra RL038 foram detectadas duas classes de produtos naturais, os ácidos fenólicos e flavonoides, aos quais podem ser atribuídas a atividade tripanocida detectada. Apesar das moléculas dessas classes possuírem atividade antiprotozoária conhecida, não há relatos da atividade dessas moléculas sobre *P. serpens*. O ácido cafeico, pertencente à classe dos ácidos fenólicos, é um bom representante para demonstrar a capacidade antiprotozoária desse grupo de compostos. Silva Bortoleti et al. (2019) relataram que o ácido cafeico foi capaz de inibir a proliferação de promastigotas de *Leishmania amazonensis*, bem como provocar alterações na morfologia celular, por meio da perda da integridade da membrana plasmática e o acúmulo dos níveis de espécies reativas a oxigênio, aumentando a resposta oxidante. Os flavonoides também possuem atividade antiprotozoária, a exemplo da quercetina e a miricetina, que apresentaram atividade

tripanocida sobre *Trypanosoma brucei*, agente etimológico da tripanossomíase humana africana (Larit et al., 2021).

Uma vez tendo sido demonstrado que o RL038 diminuiu, de forma acentuada, a viabilidade de *P. serpens* em baixas concentrações, o efeito deste resíduo sobre a integridade da membrana celular, os níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio e sobre o potencial de membrana mitocondrial de promastigotas de *P. serpens* foram determinados.

Um dos possíveis mecanismos de ação dos produtos naturais sobre a viabilidade celular inclui seus efeitos sobre a integridade da membrana plasmática. A avaliação realizada com base na permeabilidade do iodeto de propídio mostrou que o tratamento com o RL038 não alterou a integridade da membrana plasmática dos promastigotas de *P. serpens*. Isto pode ser devido à baixa lipossolubilidade do RL038, pois normalmente as moléculas necessitam de grupos hidrofóbicos para interagir diretamente com a membrana (Jesus et al., 2021). Grupos hidroxila (polares) presentes nos flavonoides e ácidos fenólicos provavelmente entram na célula por endocitose controlada.

As atividades biológicas dos flavonoides estão relacionadas principalmente aos seus efeitos antioxidantes. Porém vários estudos demonstraram também ação pró-oxidantes de muitas moléculas dessa classe de produtos naturais. Um bom exemplo é a quercetina, capaz de induzir espécies reativas de oxigênio em células-tronco embrionárias humanas (hESCs), desencadeando a morte celular seletiva (Kim et al., 2017). Outro representante da classe dos flavonoides com ação oxidante é a cinarose que inibiu o crescimento dos promastigotas de *Leishmania donovani* por induzir a produção de EROS (Tabrez et al., 2021).

Os níveis de EROs em promastigotas de *P. serpens* tratadas com RL038 foram determinados utilizando H₂DCFDA, uma sonda não fluorescente que ao permear a célula é convertida em diclorohidroxifluoresceína (DCFH) pela ação das esterases. Na presença de radicais livres como EROs, DCFH é oxidado e convertido em 2,7-diclorofluoresceína (DCF), um produto altamente fluorescente. Os resultados obtidos revelaram que o aumento na concentração do RL038 foi acompanhado de um aumento intracelular de EROs. É importante ressaltar que os níveis de EROs detectados nos parasitas tratados com 120 e 180 µg/mL do resíduo foram aproximadamente 2x e 3x maiores que nos parasitas não tratados.

As espécies reativas a oxigênio são fruto do metabolismo celular e seus níveis são regulados pela presença de um complexo antioxidante endógeno que, quando afetado, pode levar a um acúmulo intracelular de EROs. O consequente estresse oxidativo gerado poderá causar alterações metabólicas, incluindo perda do potencial de membrana mitocondrial (Fonseca-Silva et al., 2015; Mittler, 2017). Em nosso estudo, reduções de 44,6 e 46,8% na fluorescência gerada pela rodamina foi observada em promastigotas de *P. serpens* tratadas com 120 e 180 µg/mL do RL038, respectivamente. Essa redução na fluorescência demonstra a redução no potencial de membrana mitocondrial gerada pelo RL038, o que pode estar relacionado com o aumento de EROS também observado nas células tratadas com esse resíduo.

Uma vez que os tripanossomatídeos possuem uma única mitocôndria, o funcionamento adequado dessa organela é fundamental para sobrevivência desses organismos, constituindo assim um importante alvo para construção de fármacos (Menna-Barreto e Castro, 2014; Fidalgo e Gille, 2011). Estudo realizado por Bombaça e colaboradores apontou a disfunção mitocondrial e a produção de EROs como principais determinantes da atividade antiprotozoária de naftoimidazoles em *Trypanosoma cruzi* (Bombaça et al., 2019). Do mesmo modo foi demonstrado que o flavonoide apigenina exerce atividade antileishmanicida também por alterar o potencial de membrana em consequência de um aumento na produção de EROS (Fonseca-Silva et al., 2015).

Considerando os resultados aqui obtidos, a atividade antiprotozoária apresentada pelo resíduo da hidrodestilação do óleo essencial de *Lantana camara* L. deve-se a sua capacidade de induzir estresse oxidativo, evidenciado pelo aumento nos níveis de EROs, e alterações

funcionais na mitocôndria que podem interferir na produção de energia, e assim comprometer a sobrevivência do parasita.

4.5. Conclusões

Este é o primeiro estudo que demonstra a utilização do resíduo liofilizado da hidrodestilação do óleo essencial com potencial uso como agente antiprotozoário sobre organismos fitopatógenos, em especial do gênero fitomonas. Desse modo, o resíduo de *Lantana camara* L. aqui avaliado se apresenta como uma alternativa viável para o controle de graves doenças em culturas de importância econômica, tais como coco, café e mandioca. Vale a pena ressaltar a efetividade observada do resíduo bruto, *in vitro*, indicando a possibilidade de seu uso direto em campo e com baixo custo. Porém estudos adicionais são necessários para avaliar a efetividade do resíduo *in vivo*.

Declaração de interesse

Os autores declaram que não conhecem interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimento

Os autores agradecem a Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (Fapitec/SE), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES – Código financeiro 001) e à Financiadora de Estudos e Projetos – Brasil (FINEP) pelo apoio financeiro.

Fonte de financiamento

Edital FAPITEC/SE 01/2009.

4.6. Referências Bibliográficas

AL-HAKEIM, H. K.; AL-ZABIBAH, R. S.; ALZIHARI, H. F.; ALMENSOORI, A. K.; AL-ZUBAIDI, H. A.; HASSAN, L. E. A. H. Anticancer and Antiangiogenic Activities Of Alkaloids Isolated From *Lantana camara* By Adsorption On The Magnetic Nanoparticles.

Karbala International Journal of Modern Science, v. 7, n. 1, p. 11, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.33640/2405-609X.2577>

ALIGHIRI, D.; EDEN, W. T.; SUPARDI, K. I.; PURWINARKO, A. Potential Development Essential Oil Production of Central Java, Indonesia. **Journal of Physics: Conference Series**.

In: The 3rd International Conference on Mathematics, Science and Education, v. 824, p. 12-21, 2017. DOI: [10.1088/1742-6596/824/1/012021](https://doi.org/10.1088/1742-6596/824/1/012021)

AYALEW, A. A. Insecticidal activity of *Lantana camara* extract oil on controlling maize grain weevils. **Toxicology Research and Application**, v. 4, p. 1-10, 2020. DOI:

<https://doi.org/10.1177/2397847320906491>

BASHIR, S.; JABEEN, K.; IQBAL, S.; JAVED, S.; NAEEM, A. *Lantana camara*:

Phytochemical Analysis and Antifungal Prospective. **Planta Daninha**, v. 37: e019193526, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-83582019370100137>

BOMBAÇA, A. C. S.; VIANA, P. G.; SANTOS, A. C.; SILVA, T. L.; RODRIGUES, A. B. M.; GUIMARÃES, A. C. R.; MENNA-BARRETO, R. F. Mitochondrial dysfunction and ROS production are essential for anti-*Trypanosoma cruzi* activity of β -lapachone-derived naphthoimidazoles. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 130, p. 408-418, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.012>

BORDOLOI, K.; BHAGAWATI, B.; BARUAH, A. M.; NEOG, P. P.; KURULKAR, U. Biochemical mechanism of *Lantana camara* leaf extracts in the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 10, n. 1, p. 2828-2834, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i1an.13789>

CANCINI, N. D. S.; BERALDO-BORRAZZO, J.; MENEZES, J. L. D.; CORTEZ, D. A. G.; VALDEZ, R. H.; GARCIA, F. P.; ABREU FILHO, B. A. D. Activity of Piperaceae extracts and fractions in the control of *Phytomonas serpens*. **Ciência Rural**, v. 50, n. 10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200343>

DELGADO-ALTAMIRANO, R.; LÓPEZ-PALMA, R. I.; MONZOTE, L.; DELGADO-DOMÍNGUEZ, J.; BECKER, I.; RIVERO-CRUZ, J. F.; ROJAS-MOLINA, A. Chemical constituents with leishmanicidal activity from a pink-yellow cultivar of *Lantana camara* var. *aculeata* (L.) collected in Central Mexico. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 872, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20040872>

DOUGNON, G.; ITO, M. Sedative effects of the essential oil from the leaves of *Lantana camara* occurring in the Republic of Benin via inhalation in mice. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 159-169, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01358-9>

FIDALGO, L. M.; GILLE, L. Mitochondria and trypanosomatids: targets and drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 11, p. 2758-2770, 2011. DOI: [10.1007 / s11095-011-0586-3](https://doi.org/10.1007/s11095-011-0586-3)

FONSECA-SILVA, F.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; ALMEIDA-AMARAL, E. E. Effect of Apigenin on *Leishmania amazonensis* Is Associated with Reactive Oxygen Species Production Followed by Mitochondrial Dysfunction **J. Nat. Prod.**, 2015. DOI: [10.1021 / acs.jnatprod.5b00011](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00011)

GHARRED, N.; BAAKA, N.; BETTACHE, N.; HAMDI, A.; DBEIBIA, A.; DHAOUADI, H.; DRIDI-DHAOUADI, S. Wastewater to Ecological dyeing process and bioactive compounds resources: case study of *Dittrichia graveolens* hydrodistillation aqueous residue. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-13, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01375-4>

GINDRI, D. M.; COELHO, C. M. M. Metabolitos aleloquímicos de *Lantana camara* L. potencial para o desenvolvimento de bioherbicida – revisão. **Revista Técnico-Científica**, n. 24, p. 1-18, 2020.

GRAND VIEW RESEARCH, Inc. **Essential Oils Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Food & Beverages, Spa & Relaxation), By Product (Orange, Peppermint), By Sales Channel, And Segment Forecasts, 2020 – 2027**, p. 153, 2020. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/essential-oils-market>>. Acesso em: 22 de fev. de 2021.

JASKOWSKA, E.; BUTLER, C.; PRESTON, G.; KELLY, S. Phytomonas: trypanosomatids adapted to plant environments. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 1, p. e1004484, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004927>

JESUS, J A.; LAURENTI, M. D.; ANTONANGELO, L.; FARIA, C. S.; LAGO, J. H. G.; PASSERO, L. F. D. Related Pentacyclic Triterpenes Have Immunomodulatory Activity in Chronic Experimental Visceral Leishmaniasis. **Journal of Immunology Research**, v. 2021, p. 1-15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6671287>

KIM, S. Y.; JEONG, H. C.; HONG, S. K.; LEE, M. O.; CHO, S. J.; CHA, H. J. Quercetin induced ROS production triggers mitochondrial cell death of human embryonic stem cells. **Oncotarget**, v. 8, n. 39, p. 64964, 2017. DOI: [10.18632/oncotarget.11070](https://doi.org/10.18632/oncotarget.11070)

LARIT, F.; ELOKELY, K. M.; NAEL, M. A.; BENYAHIA, S.; LEÓN, F.; CUTLER, S. J.; GHONEIM, M. M. Proposed Mechanism for the Antitrypanosomal Activity of Quercetin and Myricetin Isolated from *Hypericum afrum* Lam.: Phytochemistry, *In Vitro* Testing and Modeling Studies. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1009, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26041009>

MAHMOUDI, H.; MARZOUKI, M.; M'RABET, Y.; MEZNI, M.; OUAZZOU, A.A.; HOSNI, K. Enzyme pretreatment improves the recovery of bioactive phytochemicals from sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves and their hydrodistilled residue by-products, and potentiates their biological activities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 8, p.6451-6460, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.003>

MASLOV, D. A.; OPPERDOES, F. R.; KOSTYGOV, A. Y.; HASHIMI, H.; LUKEŠ, J.; YURCHENKO, V. Recent advances in trypanosomatid research: genome organization, expression, metabolism, taxonomy and evolution. **Parasitology**, v. 146, n. 1, p. 1-27, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182018000951>

MENNA-BARRETO, R. F. S.; DE CASTRO, S. L. The double-edged sword in pathogenic trypanosomatids: the pivotal role of mitochondria in oxidative stress and bioenergetics. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/614014>

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>

NAPOLI, E.; DATTILO, S.; RUBERTO, G. Hydrodistillation of *Trachelospermum jasminoides* Lindl. flowers. An analysis of essential oil, hydrolate and polyphenols content of the process wastes. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 6, p. 556-561, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1808538>

NEGI, G. C.; SHARMA, S.; VISHVAKARMA, S. C.; SAMANT, S. S.; MAIKHURI, R. K.; PRASAD, R. C.; PALNI, L. M. Ecologia e uso de *Lantana camara* na Índia. **The Botanical Review**, v. 85, n. 2, p. 109-130, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12229-019-09209-8>

NIRMAL, C. R.; EBENEZER, R. S.; KANNAN, P.; BALASUBRAMANIAN, M.; THIRUNAVUKKARASU, I.; MONDAL, R.; DUSTHACKER, A. Anti-tuberculosis activity of bio-active compounds from *Lantana camara* L., *Euphorbia hirta* L., *Mukia maderaspatana* (L.) M. Roem, and *Abutilon indicum* (L.). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 35, p. 101-105, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101105>

PEREIRA, K. L. G.; NIZIO, D. A. de C.; LIMA, P. C. N.; FERNANDES, R. P. M.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SÁ FILHO, C. F.; NASCIMENTO, L. F. de A.; SOUZA, V. T. Seasonal variance in the Chemical composition of essential oils from *Lantana camara* accessions and their tripanocida do óleo essencial sobre *Phytomonas serpens*. **Boletín Latino Americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, 2021 (No prelo)

PEREIRA, K. L. G.; NOGUEIRA, P. C. D. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; NIZIO, D. A. C.; SILVA, D. C.; PINTO, J. A. O.; BLANK, A. F. Chemical diversity of essential oils of *Lantana camara* L. native populations. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 1, p. 32-47, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1661879>

PESHEV, D. Theoretical assessment of the use of nanofiltration for fractionation of waste aqueous fractions from the essential oil industry. **Bulgarian Chemical Communications**, v. 52, n. 4, p. 533-542, 2020. DOI: [10.34049/bcc.52.4.MP05](https://doi.org/10.34049/bcc.52.4.MP05)

QURESHI, H.; ANWAR, T.; ALI, Q.; HAIDER, M. Z.; HABIB, N.; FATIMA, S.; WASEEM, M.; BIBI, Y.; ARSHAD, M.; ADKINS, S. W. Isolation of natural herbicidal compound from *Lantana camara*. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 5, p. 631-638, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1670822>

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; IZQUIERDO-MELERO, M. E.; POLISSIOU, M.; ASTRAKA, K.; TARANTILIS, P. A.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; SANTANA-MÉRIDAS, O. Comparative chemistry and biological properties of the solid residues from hydrodistillation of Spanish populations of *Rosmarinus officinalis* L. **Grasas y Aceites**, v. 66, n. 2, p. 79, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3989/gya.1060142>

SANKARA, A.; OUÉDRAOGO, J. C. W.; PIGNOLET, L.; THÉVENON, M. F.; BONZI-COULIBALY, Y. Chemical profiles and anti-termite activity of hydrodistillation residues from three aromatic plants acclimated in Burkina Faso. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 8, p. 245-256, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v12n8p245>

SANTOS JÚNIOR, A. D. C. M.; RICART, C. A. O.; PONTES, A. H.; FONTES, W.; SOUZA, A. R. D.; CASTRO, M. S.; DE LIMA, B. D. Proteome analysis of *Phytomonas serpens*, a phytoparasite of medical interest. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0204818, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204818>

SCHWELM, A.; BADSTÖBER, J.; BULMAN, S.; DESOIGNIES, N.; ETEMADI, M.; FALLOON, R. E.; NEUHAUSER, S. Not in your usual Top 10: protists that infect plants and algae. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 4, p. 1029-1044, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/mpp.12580>

SHANKAR, S.; PRASAD, S.; OWAIZ, M.; YADAV, S. MANHAS, S.; YAQOOB, M. Essential oils, components and their applications: a review. **Plant Archives**, v. 21, n. 1, p. 2027-2033, 2021. DOI: <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331>

SILVA BORTOLETI, B. T.; TOMIOTTO-PELLISSIER, F.; GONÇALVES, M. D.; MIRANDA-SAPLA, M. M.; ASSOLINI, J. P.; CARLOTO, A. C.; PAVANELLI, W. R. Caffeic acid has antipromastigote activity by apoptosis-like process; and anti-amastigote by TNF- α /ROS/NO production and decreased of iron availability. **Phytomedicine**, v. 57, p. 262-270, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.12.035>

SILVA, K. P.; DE CARVALHO SANTOS, T. A.; MOUTINHO, B. L.; DA SILVA, R. S.; DOS SANTOS PINTO, V.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M. Using *Varronia curassavica* (Cordiaceae) essential oil for the biocontrol of *Phytomonas serpens*. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111523, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111523>

TABREZ, S.; RAHMAN, F.; ALI, R.; ALOUFFI, A. S.; AKAND, S. K.; ALSHEHRI, B. M.; RUB, A. Cynaroside inhibits *Leishmania donovani* UDP-galactopyranose mutase and induces reactive oxygen species to exert antileishmanial response. **Bioscience Reports**, v. 41, n. 1, p. BSR20203857, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20203857>

WOLLINGER, A.; PERRIN, E.; CHAHBOUN, J.; JEANNOT, V.; TOURAUD, D.; KUNZ, W. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 6, p. 754-765, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2015.12.014>

WU, P.; SONG, Z.; WANG, X.; LI, Y.; LI, Y.; CUI, J.; TUE RHONGC, M.; DA-QING, J.; ABUDUKEREMUC, M.; LEED, D.; XU, J.; GUO, Y. Bioactive triterpenoids from *Lantana camara* showing anti-inflammatory activities in vitro and in vivo. **Bioorganic Chemistry**, v. 101, p. 104004, 2020. DOI: [10.1016 / j.bioorg.2020.104004](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104004)