

Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp.

José G. M. da Costa,^{*,1} Erlânio O. de Sousa,¹ Fabíola F. G. Rodrigues,¹
Sidney G. de Lima,² Raimundo Braz-Filho³

¹Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular, Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, Bairro Pimenta, 63105-000 Crato-CE, Brasil

²Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, 64049-550 Teresina-PI, Brasil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campus dos Goytacazes, 28013-602 Rio de Janeiro-RJ, Brasil

RESUMO: Os óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp., Verbenaceae, foram obtidos por hidrodestilação e seus componentes analisados por CG/EM. Tal procedimento analítico revelou a predominância dos sesquiterpenos, biciclogermacreno (19,42%), isocariofileno (16,70%), valenceno (12,94%) e germacreno D (12,34%) no óleo de *L. camara*, enquanto o biciclogermacreno (13,93%), germacreno D (27,54 e β -cariofileno (31,50%), % destacaram-se como majoritários no óleo de *Lantana* sp. Os dois óleos foram submetidos a avaliação de atividades antibacteriana e de toxicidade usando as larvas de *Artemia salina*. Os resultados mostraram considerável atividade antibacteriana do óleo de *L. camara*, principalmente para *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). O óleo de *Lantana* sp. mostrou-se mais significativo contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 10390). As atividades de toxicidade CL_{50} revelaram resultados inferiores ao limite padrão de 1000 μ g/mL.

Unitermos: *Lantana*, Verbenaceae, óleo essencial, terpenóides, atividades biológicas.

ABSTRACT: "Chemical composition, evaluation of antibacterial activity and toxicity of the essential oils from *Lantana camara* L. and *Lantana* sp." The essential oils from *Lantana camara* L. and *Lantana* sp. Verbenaceae, were obtained by hydrodistillation and analyzed by GC/MS. This GC/MS analysis revealed the sesquiterpenoids bicyclogermacrene (19.42%), isocaryophyllene (16.70%), valencene (12.94%) and germacrene D (12.34%) as majorities in the essential oil of *L. camara*, and bicyclogermacrene (13.93%), germacrene D (27.54 and β -caryophyllene (31.50%) in the essential oil from *Lantana* sp. The two essential oils were evaluated to antibacterial activity and toxicity using *Artemia salina*. The results revealed considerable antibacterial activity for essential oil from *L. camara*, mainly for *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) and *Escherichia coli* (ATCC 25922). The essential oil of *Lantana* sp. showed major activity for *Staphylococcus aureus* (ATCC 10390). The evaluation of toxicity CL_{50} revealed results with minor values to limit pattern of 1000 μ g/mL.

Keywords: *Lantana*, Verbenaceae, essential oils, terpenoids, biological activities.

INTRODUÇÃO

O gênero *Lantana* apresenta cerca 150 espécies descritas, sendo a maioria cultivada com objetivo decorativo devido à beleza de suas flores. Entretanto são geralmente pouco palatáveis e nem todas são tóxicas (Joly, 1993). Estas plantas são praticamente imunes ao ataque de herbívoros, devido à presença de uma grande diversidade de substâncias naturais (Kohli et al., 2006).

Lantana camara L., Verbenaceae, é uma planta

que ocorre em muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo. É usada na medicina popular como emenagoga, diurética, expectorante, febrífuga e anti-reumática (Agra et al., 2007; 2008; Brandão et al., 2009; Leitão et al., 2009). Suas raízes e folhas são atribuídas propriedades anticonvulsivante (Quintans-Júnior et al., 2008). As folhas são ricas em óleos essenciais, compostos fenólicos e triterpenóides, com predominância de flavonóides. Tais substâncias presentes nessa espécie também são encontradas em algumas plantas daninhas que possui

propriedades alelopáticas e de toxicidade (Sharma et al., 2007).

A ingestão de folhas de *Lantana* por animais causa colestase e hepatotoxicidade. Animais ruminantes e não-ruminantes como cobaias, coelhos e fêmeas de ratos apresentaram suscetibilidade à ação de hepatotoxinas, que são triterpenóides pentacíclicos denominados de lantadenos (Kohli et al., 2006). Os frutos da planta também são tóxicos para o homem.

Neste trabalho estão sendo relatadas as composições, as investigações de atividades antibacterianas e de toxicidade, e a comparação dos óleos essenciais de duas espécies de *Lantana* provenientes do Cariri Cearense. A análise dos dois óleos essenciais por cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrômetro de massas (EM) permitiu identificar os constituintes majoritários no óleo de *Lantana* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas das espécies *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. foram coletadas em junho de 2007, no Horto de Plantas Aromáticas e Medicinais do Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais na Universidade Regional do Cariri, Crato-CE. Exsiccatas das duas espécies foram depositadas no Herbário Caririensis Dárdaro de Andrade Lima do Departamento de Biologia desta IES, com registros 1662 e 1619, respectivamente.

Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos separadamente, partindo-se de 200 g de folhas frescas trituradas e utilizando-se o sistema de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger (Matos et al., 1999) durante o período de duas horas. Os óleos coletados foram subsequentemente secos com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e mantidos sob refrigeração até a realização das análises. Os rendimentos dos óleos foram 0,05 % para *Lantana camara* e 0,07 % para *Lantana* sp., calculados com base nos volumes de óleos obtidos e dos pesos dos materiais vegetais frescos.

Análise por CG/EM

As análises dos constituintes voláteis foram realizadas em equipamento CG/EM Hewlett-Packard, Modelo 5971 usando-se coluna capilar não-polar DB-1, de sílica fundida (30 m x 0,25 mm i.d., película de 0,25 μm); carregado por gás hélio; velocidade de fluxo 0,8 mL/min e modo de divisão. A temperatura do injetor e do detector foram 250 °C e 200 °C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada de 35 °C para 180 °C em 4 °C/min e em seguida 180 °C para 250 °C em 10 °C/min. Os espectros de massas foram gravados a partir de 30-450

m/z. Componentes individuais foram identificados por correspondência de seus espectros de massa, 70 eV, com os da base de dados usando a biblioteca construída através do espectrômetro Wiley e outros dois computadores utilizando índices de retenção como uma pré-seleção (Alencar et al., 1984; Alencar et al., 1990), bem como por comparação visual da fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (Stenhagen et al., 1974; Adams, 2001).

Ensaio antibacteriano

Os ensaios antibacterianos foram realizados pelo método de difusão em disco (Bauer et al., 1966). Para tanto, foram utilizadas cinco culturas de bactérias, cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz, sendo quatro gram-negativas (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Vibrio cholerae* (ATCC 15748)) e uma gram-positiva (*Staphylococcus aureus* (ATCC 10390)). Essas foram inoculadas em ágar Brain Heart Infusion e incubadas por 24 h/37 °C para reavivamento. Após esse período foram semeadas em placa com ágar Muller-Hilton, utilizando swabs estéreis. Discos de papel de filtro estéreis (6 mm de diâmetro) impregnados com 20 μL das soluções dos óleos (10; 5; 2,5; 1,25; 0,62%). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C e por 24 h e após esse período examinadas quanto à presença de halos de inibição. Os ensaios foram realizados em triplicata e acompanhados de controles positivos com discos comerciais, cloranfenicol (30 μg) e azitromicina (15 μg) e controle negativo, DMSO e água destilada.

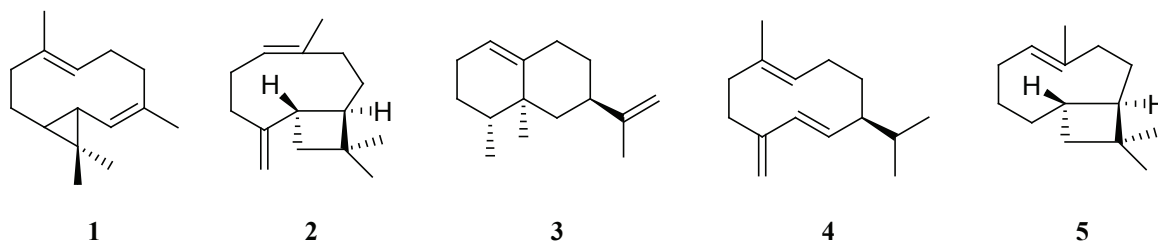
Ensaio de toxicidade

Nos ensaios de toxicidade utilizou-se a metodologia preconizada por Meyer e colaboradores (Meyer et al., 1982), frente à *Artemia salina* Leach. Os ensaios realizaram-se em triplicata com diferentes concentrações (100; 50; 25; 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), seguidos de controle positivo preparado com água marinha e dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), e controle negativo com água marinha e Tween 80. As contagens dos números de larvas mortas foram realizadas após 24 h e utilizou-se esse número para o cálculo da CL_{50} pelo método de regressão linear, sendo considerado ativo quando $\text{CL}_{50} < 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises dos óleos essenciais por CG/EM possibilitaram reconhecer a presença de mono- e sesquiterpenos como componentes predominantes em ambas as espécies. No óleo de *L. camara* foi possível identificar 25 constituintes, representando 99,75 %, enquanto que no óleo de *Lantana* sp. identificou-se dezenove constituintes totalizando 98,65 % (Tabela 1).

Os constituintes químicos majoritários no óleo de *L. camara* em ordem de abundância foram: biciclogermacreno (1, 19,42 %), isocariofileno (2, 16,70 %), valenceno (3, 12,94 %) e germacreno D (4, 12,34 %). As substâncias identificadas como predominantes no óleo de *Lantana* sp. foram: β-cariofileno (5, 31,50 %), germacreno D (4, 27,54 %) e biciclogermacreno (1, 13,93 %).



Segundo Ohno et al., 2003, existem diferenças na atividade bacteriana entre os óleos essenciais do mesmo gênero. Essa diferença está relacionada principalmente pela variabilidade de quimiotipos, ciclo vegetativo, fatores extrínsecos e processo de obtenção desses óleos. Conforme Koyama et al. (1997), muitos componentes dos óleos essenciais, os quais são diferentes em cada óleo, possuem

Os ensaios de atividade antimicrobiana *in vitro* mostraram o óleo de *L. camara* como inibidor do crescimento de quase todas as bactérias testadas, aparecendo a *S. aureus* como resistente à ação dos componentes presentes no óleo. Os melhores resultados foram obtidos nos testes com a *P. vulgaris* e *E. coli*, observando-se halos de 9,5 mm e 9 mm, respectivamente (Tabela 2). Nos ensaios com óleo de *Lantana* sp. verificou-se sensibilidade de todas as bactérias, ocorrendo destaque para *S. aureus* com halo de 12 mm. As bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa*, apresentaram resultados semelhantes com halos de 11 mm (Tabela 3). As análises estatísticas (Tabelas 2 e 3) foram realizadas no programa Microsoft Excel for Windows (Neufeld, 2003).

uma habilidade específica diferenciada para romper ou penetrar na estrutura bacteriana. Para se conhecer o modo de ação dos constituintes presentes nos óleos de *L. camara* e *Lantana* sp. será necessário examinar isoladamente cada constituinte, e a sincronização entre eles, para averiguar atividades bacterianas.

Os ensaios de toxicidade com *A. salina* mostraram que os óleos essenciais das duas espécies exibiram atividades similares e significativas, revelando 14 µg/mL para *L. camara* e 24 µg/mL para *Lantana* sp. como as doses calculadas necessárias para matar 50% (CL₅₀). Tais valores indicam fortes atividades de toxicidade por serem inferiores ao limite padrão de 1000 µg/mL (Tabela 4).

Tabela 1. Componentes identificados nos óleos essenciais das folhas de *Lantana camara* (óleo I) e *Lantana* sp. (óleo II), com as referidas porcentagens. *RT = Tempo de Retenção

Componentes	Óleo I		Óleo II	
	RT*	(%)	RT*	(%)
Z-Ocimeno	9,49	0,94	-	-
Sabineno	10,76	4,78	9,55	0,22
2-β-Pineno	10,89	0,25	-	-
β-Mirceno	11,40	0,39	-	-
E-β-Ocimeno	12,17	1,02	-	-
p-Ment-2-en-1-ol	12,75	5,17	-	-
β-Cimeno	13,49	1,37	-	-
γ-Terpineno	13,86	0,62	-	-
Linalol	-	-	14,14	1,83
α-Terpinoleno	15,24	0,83	-	-
Cânfora	-	-	15,71	0,34
4-Terpineol	18,03	0,59	-	-
α-Copaeno	25,75	0,42	24,26	2,70
β-Elemeno	26,19	1,16	24,76	2,93
β-Cariofileno	29,41	2,91	25,78	31,50
α-Humulene	27,02	2,07	26,83	2,68
Iso-cariofileno	27,22	16,70	-	-
Aloaromadandreno			28,13	2,29
β-Sabineno			-	-
Biciclogermacreno			28,45	19,42
Germacreno A			-	-
Torreiol			-	-
β-Cadineno			-	-
Germacreno D			29,35	12,34
Valenceno			29,90	12,94
γ-Cadineno			30,06	0,49
Germacreno B			-	-
α-Elemeno			31,32	1,59
Espatuleno			31,83	2,58
γ-Elemeno			31,41	1,59
α-Cadinol			-	-
Oxido de cariofileno			32,95	1,73
Δ-Cadinol			-	-
Azuleno			33,06	5,56
Total				99,75

*RT = Tempo de Retenção

Tabela 2. Resultados dos halos de inibição para a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lantana camara*.

Bactérias	Média dos Halos de Inibição (mm) ± DP							
	Concentração do óleo I (%)					Controles		
	10	5	2,5	1,25	0,62	CLO	AZI	A e T
<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	12,5±0,70	11,33±1,52	ND
<i>E. coli</i>	9,0±0,00	8,5±0,70	7,5±0,70	7,0±0,00	6,5±0,70	ND	14,66±1,52	ND
<i>P. vulgaris</i>	9,5±0,70	9,0±0,00	7,5±0,70	6,5±0,70	6,5±0,70	16,0±1,73	15,33±1,00	ND
<i>P. aeruginosa</i>	75,5±0,70	7,0±1,41	7,0±0,00	6,5±0,70	6,0±0,00	ND	14,66±0,00	ND
<i>V. cholerae</i>	8,5±0,70	7,5±0,70	7,0±0,00	6,5±0,70	6,0±0,00	ND	ND	ND

ND = Não detectável; CLO = cloranfenicol (30 µg/mL); AZI = azitromicina (15 µg/mL), A e T = água e Tween.

Tabela 3. Resultados dos halos de inibição para a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lantana* sp.

Bactérias	Média dos Halos de Inibição (mm) ± DP							
	Concentração do óleo II (%)					Controles		
	10	5	2,5	1,25	0,62	CLO	AZI	A e T
<i>S. aureus</i>	11±0,70	9±0,00	7±0,70	7±0,00	6±0,00	ND	14,66±1,52	ND
<i>E. coli</i>	11,5±0,70	9,5±0,70	9±0,00	8,5±0,70	7,5±0,70	16±1,73	15,33±1,00	ND
<i>P. vulgaris</i>	11±0,00	9,5±0,70	9±0,00	7,5±0,70	7±0,00	ND	14,66±0,00	ND
<i>P. aeruginosa</i>	9±1,41	9±0,00	8±1,41	7,5±0,70	6±0,00	ND	ND	ND
<i>V. cholerae</i>	12±0,00	11±0,00	9,5±0,70	9,5±0,70	8±1,41	12,5±0,70	11,33±1,52	ND

ND = Não detectável; CLO = cloranfenicol (30 µg/mL); AZI = azitromicina (15 µg/mL), A e T = água e Tween.

Tabela 4: Percentual de mortalidade das larvas de *Artemia salina*, frente os óleos essenciais das folhas de *Lantana camara* (óleo I) e *Lantana* sp. (óleo II).

Concentração (µg/mL)	Mortalidade das larvas (%)	
	Óleo I	Óleo II
100	99,0	99,9
50	86,7	69,0
25	56,7	43,3
10	36,7	26,0

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES, FUNCAP e FAPERJ pelas bolsas e auxílios financeiros concedidos e a Fiocruz pela concessão das cepas bacterianas.

REFERÊNCIAS

- Adams RP 2001. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Baylor University. Allured.
- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, França PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.
- Alencar JW, Craveiro AA, Matos FJA 1984. Kovats' indices as a preselection routine in mass spectra library search of volatiles. *J Nat Prod* 47: 890-892.
- Alencar JW, Craveiro AA, Matos FJA, Machado MIL 1990. Kovats indices simulation in essential oils analysis. *Quim Nova* 13: 282-284.
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Patol* 45: 493-96.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Graef CFF, Monte-Mór RLM 2009. Traditional uses of American plant species from the 1st edition of Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 19: 478-487.
- Joly AB 1993. *Introdução à Taxonomia Vegetal*, 11ª ed., Companhia Editora Nacional: São Paulo.
- Kohli RK, Batish DR, Batish HP, Singh HP, Dogra KS 2006. Status, invasiveness and environmental threats of three tropical American invasive weeds (*Parthenium hysterophorus* L., *Ageratum conyzoides* L., *Lantana camara* L.) in India. *Biol Invasions* 8: 1501-1510.
- Koyama S, Yamaguchi Y, Tanaka S, Motoyoshima J 1997. A new substance (yoshixol) with an interesting antibiotic mechanism from wood oil of Japanese traditional tree (kiso hinoki), *Chamaecyparis obtusa*. *Gen Pharmacol*

28: 797-804.

- Leitão F, Fonseca-Kruel VS, Silva IM, Reinert F 2009. Urban ethnobotany in Petrópolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil). *Rev Bras Farmacogn* 19: 333-342.
- Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA, Barbosa-Filho JM 1999. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. *J Essent Oil Res* 11: 41-44.
- Meyer BN, Ferrigne NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JE 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 45:31-34.
- Neufeld JL 2003. *Estatística aplicada à administração usando Excel*; tradução José Luiz Celeste; São Paulo: Prentice Hall.
- Ohno T, Kita M, Yamaoka Y, Imamura S, Yamamoto SM, Kodama T, Kashima K, Imanishi J 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 8: 207-215.
- Quintans-Júnior LJ, Almeida JRGS, Lima JT, Nunes XP, Siqueira JS, Oliveira LEG, Almeida RN, Athayde-Filho PF, Barbosa-Filho JM 2008. Plants with anticonvulsant properties - a review. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 798-819.
- Sharma POM, Sarita S, Vasantha P, Shashi BM, Pritam DS 2007. A Review of the hepatotoxic plant *Lantana camara*. *Clin Toxicol* 37: 313-352.
- Stenhagen E, Abrahamson S, McLafferty FW 1974. *Registry of Mass Spectra Data Base*, Washington DC: Government Printing Office.