



Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.)

Rosângela Correia Freitas¹; Rhuanna Rackel de Sá Azevedo²; Larissa Isabela Oliveira Souza³; Thiago José Matos Rocha⁴; Aldenir Feitosa dos Santos^{5,*}

¹ Graduado (a) em Farmácia pelo Centro Universitário Cesmac.

² Especialista em Farmacologia clínica pelo Instituto Brasileiro de Pós-graduação e Extensão (IBPEX).

³ Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

⁴ Doutorando em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

⁵ Doutora em Química e Biotecnologia pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

RESUMO

O uso de plantas medicinais com potencial terapêutico tem motivado a realização de estudos através de ensaios experimentais que visam fornecer informações úteis e de extrema importância. Assim o presente trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies de *Coleus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em disco, cepas bacterianas padronizadas Gram negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922 e ATCC 35218), cepas Gram positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *S. aureus* ATCC 27853, assim como fungos padrões de *Cryptococcus neoformans* (pertencentes à coleção de microrganismos do CESMAC). Como controle positivo foi usado o imipenem e fluconazol e como controle negativo um disco com etanol absoluto. A determinação do potencial antioxidante foi realizada utilizando os métodos DPPH, FTC e determinação de compostos fenólicos. Os extratos etanólicos de *C. amboinicus* e *M. x villosa* apresentaram excelentes resultados tanto relacionado à atividade antimicrobiana quanto à antioxidante. Nossos resultados mostram a potencialidade das plantas analisadas na prevenção e no combate de doenças.

Palavras-chave: Atividade Antioxidante. Atividade Antimicrobiana. Hortelã.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais advém do conhecimento empírico, o qual foi adquirido e acumulado durante milênios

e que é transmitido através da cultura popular (Pinto et al., 2006; Pasa & Avila, 2010).

A produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de inúmeras patologias tiveram seu início com a utilização de plantas medicinais (Pinto et al., 2006). Com a evolução da ciência e dos métodos experimentais, as atividades terapêuticas das plantas começaram a ser estudadas sob o aspecto dos constituintes químicos, com a busca do isolamento de princípios ativos para pesquisar os efeitos que tais substâncias exerciam sobre o organismo animal (Alvim et al., 2006).

Devido o elevado custo de medicamentos e da baixa condição financeira da maior parte da população global, as plantas constituem de importantes aliados na prevenção e combate a doenças (Frias et al., 2011).

O conhecimento adquirido pela cultura popular sobre plantas medicinais está sendo incentivado para pesquisas experimentais com a finalidade de identificar o possível potencial bioativo destas plantas, para que as mesmas possam ser empregadas como princípio ativo pela indústria farmacêutica (Pinto et al., 2006).

Um dos fatores que mais contribuiu para a pesquisa do potencial bioativo de plantas é a problemática da resistência a antibióticos convencionais adquiridas por diversos microrganismos. Esta resistência provém do uso inadequado desses medicamentos por parte da população. A resistência de bactérias e fungos a antibióticos convencionais constitui um problema de saúde pública (Ponzi et al., 2010; Leal et al., 2011). Tais aspectos incentivaram a busca da comprovação do potencial antimicrobiano das espécies vegetais usadas na medicina popular *Mentha x villosa* e *Coleus amboinicus*.

A transferência de elétrons constitui um dos processos químicos fundamentais para a sobrevivência das células. Porém essa dependência possui um efeito colateral que é a produção de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio (ERO) que podem causar dano oxidativo. Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidos continuamente durante os processos metabólicos e que

atuam como mediadores para a transferência de elétrons em algumas reações bioquímicas, desse modo desempenhando funções relevantes ao metabolismo (Almeida, 2006; Neves et al., 2009; Alves et al., 2010; Fernandes, 2010).

Os radicais livres desempenham várias funções no organismo vivo, eles encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (Almeida, 2006; Neves et al., 2009; Alves et al., 2010; Fernandes, 2010).

Em contrapartida o excesso de radicais livres ocasiona efeitos deletérios, tais como danos ao DNA, proteínas e organelas celulares, como mitocôndrias e membranas, provocando alterações na estrutura e funções celulares e, dessa forma, encontram-se envolvidos em patologias a exemplo de câncer, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas e neurológicas, choque hemorrágico, catarata, disfunções cognitivas, entre outras (Almeida, 2006; Neves et al., 2009; Alves et al., 2010; Fernandes, 2010).

Para combater aos radicais livres, os organismos vivos produzem antioxidantes que são capazes de regenerar ou prevenir os danos oxidativos. Essas substâncias sequestradoras de radicais livres também podem ser obtidas de fontes externas, como alimentos e bebidas (Almeida, 2006; Neves et al., 2009; Alves et al., 2010; Fernandes, 2010).

Nos últimos anos, estudos acerca dos radicais livres e o desenvolvimento de novos métodos para avaliação de atividade antioxidante têm aumentado consideravelmente. As descobertas dos efeitos deletérios dos radicais livres e sua relação com certas doenças impulsionam a busca por novas substâncias capazes de prevenir ou minimizar os danos oxidativos às células vivas, e as plantas constituem de uma boa alternativa como antioxidantes naturais (Almeida, 2006; Neves et al., 2009; Alves et al., 2010; Fernandes, 2010).

M. x villosa é uma planta originária da Europa, pertencente à família Lamiaceae, também conhecida como hortelã-da-folha-miúda, hortelã de tempero, hortelã-rasteira, etc. Ela apresenta indicação digestiva, estimulante e tônica em geral. É carminativa, antiespasmódica, estomáquica, expectorante, antisséptico, colerética e colagoga (Maetins, Figueiredo, Casali, 1999). Estudos também tem demonstrado atividade antiparasitária *in vitro* sobre vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (Matos-Rocha et al., 2013). Usada na alimentação como condimento, industrialmente como essência, empregada na perfumaria e na fabricação de bebidas e doces (Maetins et al., 1999).

C. amboinicus, conhecida popularmente como hortelã da folha grande, é uma planta cultivada em jardins que é usada na medicina popular no tratamento de malária, hepatopatias, cálculos renais, asma crônica, bronquites, helmintíase, colítes, convulsões e epilepsias. No estudo fitoquímico revela a presença de vários flavonoides (Prasenjiti et al., 2011).

O uso de plantas medicinais com potencial terapêutico tem motivado a realização de estudos através de ensaios experimentais que visam fornecer informações úteis para a elaboração de estudos farmacológicos. Dentro deste

contexto foram avaliadas as atividades antimicrobianas e antioxidantes das espécies *M. x villosa* e *C. amboinicus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra

As espécies vegetais foram coletadas nos canteiros do “Projeto Amanhã” de Arapiraca e tiveram sua identificação botânica realizada no Herbário MAC – IMA/AL. O critério de escolha das plantas foi à utilização das mesmas pela medicina popular. Os microrganismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Cryptococcus neoformans*, pertencentes à coleção de microrganismos da FCBS-CESMAC.

Preparação dos extratos

As folhas das espécies vegetais foram secas em estufa à temperatura de 40° C por um período de 48 horas. Após a secagem as folhas foram pesadas e maceradas em etanol absoluto 99,8% à temperatura ambiente durante 72 horas. O extrato foi separado dos sólidos por filtração e evaporado em rota-evaporador rotativo acoplado à bomba de vácuo, para a retirada do solvente. O extrato bruto obtido foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

Teste de atividade antimicrobiana

Microrganismos

Cepas bacterianas de referência Gram negativas de *Escherichia coli* (ATCC 25922 e ATCC 35218) e cepas Gram positivas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 e ATCC 27853), assim como fungos padrões de *Cryptococcus neoformans* (pertencentes à coleção de microrganismos do CESMAC) foram utilizados nos testes de susceptibilidade *in vitro*. Para cada cepa foi preparado uma suspensão em solução salina equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde a uma concentração de aproximadamente 0,1 mL x 10⁸ UFC/mL.

Teste de difusão

Foram utilizadas: *Escherichia coli* (ATCC 25922 e ATCC 35218), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 e ATCC 27853) e o *Cryptococcus neoformans*.

Os isolados de *C. neoformans* foram mantidos em ágar Sabouraud Dextrose (Difco, Brasil). *E. coli* e *S. aureus* foram repicados da cultura estoque para tubos de ensaio contendo 2 mL do meio de cultura Brain Heart Infusion – BHI – (Difco, Brasil) líquido e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas. Após a verificação do crescimento dos microrganismos, por meio da turbidez, foi realizada a inoculação de 10 µL de cada suspensão bacteriana e antifúngica (aproximadamente 10⁸ microrganismos). Cada suspensão bacteriana e fúngica

foram uniformemente distribuídas com auxílio de swabs sob a superfície de uma placa de Petri contendo Ágar Mueller Hinton para bactérias e Ágar Sabouraud para leveduras (Maetins et al., 1999). Contou-se com o auxílio de uma alça de platina calibrada, e nas placas continham meio de cultura sólido e as respectivas frações da própolis vermelha.

Discos de papel, previamente esterilizados, de aproximadamente 6 mm de diâmetro foram embebidos com 20 µL da solução do extrato etanólico estéril, ressalta-se que o extrato foi esterilizado utilizando filtros de milipore, nas concentrações de 25, 50, 75 e 100 mg/mL e colocados para secar em uma sala limpa.

Como controle positivo foram utilizados os antimicrobianos imipenem (Merk) para bactérias e fluconazol (Merk) para leveduras. E como controle negativo um disco contendo 20 µL de etanol absoluto, solvente utilizado na preparação do extrato.

Os discos contendo o material vegetal e os discos controles foram inseridos nas placas em que as bactérias e a levedura foram previamente semeadas e essas foram incubadas durante 24 horas a 37 °C. Os testes foram realizados em triplicata. Após o término da incubação as placas foram analisadas quanto à formação de halos de inibição do crescimento e foi considerada atividade antibacteriana ou antifúngica quando pelo menos em duas placas foi possível observar a presença de halos iguais ou superiores a 8 mm (Menezes et al., 2009).

Teste da atividade antioxidante

Método DPPH

A atividade antioxidante (figura 3) foi analisada pela capacidade dos antioxidantes, presentes nos extratos, de captarem o radical livre DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazina) O método DPPH consiste na redução de DPPH que pode ser constatado através da leitura da absorção da solução em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda 518 nm (Sanchez-Morenos et al., 1998).

As amostras foram diluídas nas concentrações de 250, 150, 50 e 10 µg/mL. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Em 2,5 mL de cada amostra foi acrescido 0,1 mL de solução etanólica do radical livre DPPH, e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Como branco foram utilizadas as amostras nas respectivas diluições. Decorrido o tempo, foram realizadas as leituras das absorbâncias no comprimento de onda 518 nm das amostras com DPPH contra seu branco específico. Como controle foi utilizada uma alíquota de 0,1 mL de solução etanólica de DPPH adicionada de 3 mL de etanol (Sanchez-Morenos et al., 1998).

Para avaliar a atividade captadora de radical livre, a porcentagem de inibição foi baseada na equação: % de inibição = [(absorbância do controle – absorbância da amostra)/absorbância do controle] x 100 (Sanchez-Morenos et al., 1998).

Cálculo de CE_{50}

Os valores de Atividade Antioxidante Percentual (AAO%) e das concentrações (250, 150, 50, 10 e 5 µg/

mL) foram relacionados utilizando o programa “Excel for Windows”, obtendo-se, para cada planta, a equação da reta. A resolução desta equação, substituindo o valor de Y por 50, resultou no valor de CE_{50} , que é a concentração necessária para produzir metade (50%) de um efeito máximo estimado em 100% para o extrato da planta.

Método FTC

O método FTC (Tiocianato Férrico) foi feito seguindo metodologia descrita na literatur, com pequenas modificações, monitorando-se a quantidade de peróxido de hidrogênio no início da peroxidação lipídica que levará a formação de tiocianato férrico, substância de cor vermelha (Ottolenghi, 2007).

Determinação de compostos fenólicos

O extrato etanólico obtido foi utilizado para a determinação dos teores de fenólicos totais, por método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck) e curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato (Andrade et al., 2007).

As concentrações de 25, 50, 75 e 100 µg/mL foram obtidas de cada extrato. A 0,5 mL de cada amostra (em triplicata) foram adicionados 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 2N e 1 mL de água. Agitou-se e após um período de 2 minutos adicionou-se aos tubos 0,5 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 10%. Após 1 hora de incubação, a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro a 760 nm, usando água destilada como branco.

O ácido gálico (2,5 a 12,5 µg/mL), dissolvido em água destilada, foi utilizado para elaboração da curva de concentração padrão e os valores de fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra) (Wettasinghe & Shahidi, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos etanólicos obtidos de *C. amboinicus* e *M. x villosa* foram eficazes frente à *E. coli*, *S. aureus* e *C. neoformans*, nas concentrações estudadas.

Os melhores resultados relacionados à atividade antibacteriana foram obtidos com os extratos etanólicos de *M. x villosa* tanto na inibição de *E. coli* quanto de *S. aureus*. Com relação à atividade antifúngica, o melhor resultado foi apresentado por *C. amboinicus* (Tabela 1).

O extrato etanólico de *M. x villosa* apresentou atividade antioxidante percentual, medida pelo método do DPPH, de 99,80% na concentração de 500 µg/mL. A quantidade de extrato testada necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, CE_{50} é de 3,08 µg/mL (gráfico 1). Já o extrato etanólico de *C. amboinicus* apresentou um menor potencial antioxidante, de 48% na concentração de 500 µg/mL, com CE_{50} é de 0,22 µg/mL (gráfico 2).

Considerando a análise estatística dos dados de atividade antioxidante relativa à CE_{50} , aplicando o teste *t* de *student*, verificou-se que as espécies apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) no potencial como fonte de substâncias sequestradoras de radicais livres.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *C. amboinicus* e *M. x villosa* determinada pelo método de difusão em Agar frente à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Cryptococcus neoformans*.

Plantas	Concentração (mg/mL)			
	25	50	75	100
<i>Escherichia coli</i>				
<i>Coleus amboinicus</i>	30%	50%	50%	50%
<i>Mentha x villosa</i>	40%	50%	60%	70%
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Coleus amboinicus</i>	30%	40%	40%	40%
<i>Mentha x villosa</i>	40%	50%	70%	80%
<i>Cryptococcus neoformans</i>				
<i>Coleus amboinicus</i>	40%	40%	40%	40%
<i>Mentha x villosa</i>	5%	5%	5%	5%

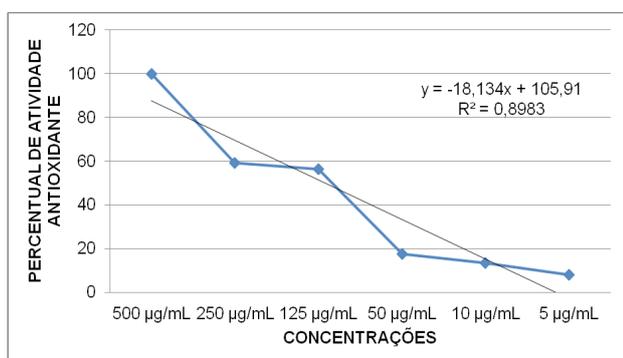


Gráfico 1. Percentual da atividade antioxidante do extrato etanólico de *M. x villosa* pelo método do DPPH.

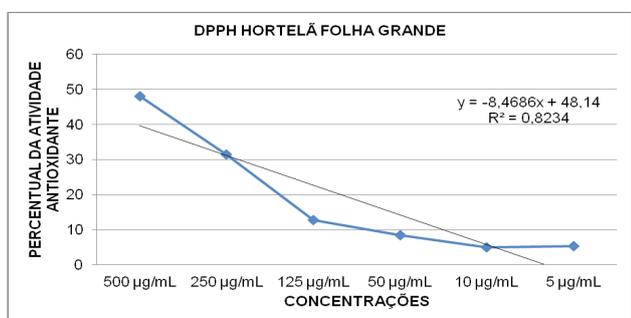


Gráfico 2. Percentual da atividade antioxidante do extrato etanólico de *C. amboinicus* pelo método do DPPH.

Os teores de compostos fenólicos totais dos extratos estudados variaram de 0,39 a 0,40mg equivalentes de ácido gálico/mg de extrato bruto (gráfico 3), não diferindo significativamente entre si ($p > 0,05$) através do teste *t* de student.

A capacidade antioxidante de produtos naturais está relacionada com sua composição de compostos fenólicos e a ação desses é interromper a cadeia de radicais livres na etapa de iniciação do processo oxidativo (Lai et al., 1991).

Apesar dos extratos estudados apresentarem quantidade de compostos fenólicos estatisticamente semelhantes (tabela 2), a efetividade antioxidante das duas espécies apresentou diferença significativa, como o observado na avaliação pelo método DPPH.

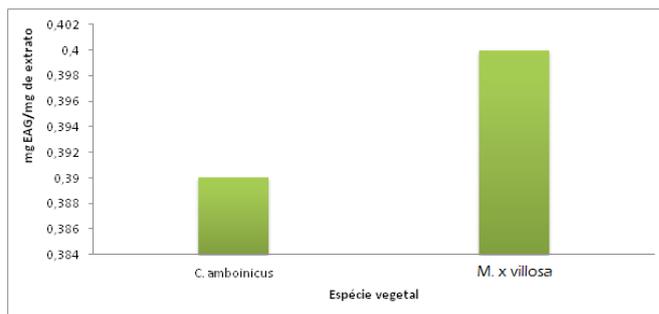


Gráfico 3. Compostos fenólicos dos extratos etanólicos de *C. amboinicus* e *M. x villosa* em mg equivalentes de ácido gálico por g de extrato.

* *p* sem significado estatístico ($p > 0,05$) através do teste *t* de student.

Tabela 2. Correlação entre o percentual da atividade antioxidante pelo método do DPPH e a quantidade de compostos fenólicos.

Planta	FOLHA GRANDE	FOLHA MIUDA
CE50	0,22 µg/mL ⁻¹	3,08 µg/mL ⁻¹
Compostos fenólicos	0,39 mg equivalentes de ácido gálico/g de extrato	0,40 mg equivalentes de ácido gálico/g de extrato

No trabalho desenvolvido por Sousa et al. (2005) houve correlação positiva entre os fenólicos totais e a CE50 dos extratos de *Terminalia brasiliensis* (casca e folha), *Cenostigma macrophyllum* (folha) e *Copernicia prunifera* (raiz), porém os extratos de *Terminalia fagifolia* e *Qualea grandiflora* Mart, assim como na presente pesquisa, não seguiram este comportamento, sugerindo que existe algum constituinte que contribui mais efetivamente para a ação sequestradora de radicais livres, no extrato destas duas espécies.

A quantidade de peróxidos nas fases iniciais da peroxidação lipídica foi mensurada pelo método do FTC. A peroxidação lipídica foi monitorada em intervalos diários, durante um período de cinco dias. Os resultados avaliados pelo método FTC mostram que os extratos apresentaram atividade antioxidante total (AAO%) semelhante ao do controle Hidroxibutilanasol BHA, um antioxidante sintético.

O melhor resultado foi apresentado por *C. amboinicus* na concentração de 100 µg/mL (tabela 3). Não houve diferença estatística significativa entre os resultados apresentados pelas duas espécies vegetais, no nível de 0,1% pelo teste one-way ANOVA.

Lippia gracillis na concentração de 0,55mg.mL⁻¹ teve um percentual de inibição da peroxidação do ácido linoleico - Método Tiocianato Férrico, de 44% (Barbosa et al., 2006), já as plantas estudadas na presente pesquisa seus percentuais variaram de 88,78% a 101,51% para *M. x villosa* e de 89,47% a 101,78% para *C. amboinicus*.

Os resultados obtidos permitem afirmar que as espécies apresentaram atividade antioxidante e antibacteriana. *M. x villosa* apresentou melhor atividade antibacteriana e a *C. amboinicus*, antifúngica. A atividade antioxidante não diferiu estatisticamente entre as plantas estudadas no teste de FTC e Follin, porém diferiu no

método de DPPH. Com os resultados obtidos foi possível concluir que as plantas estudadas são fontes potenciais de compostos bioativos, mostrando-se promissoras nos estudos que visam à obtenção de novos antimicrobianos e antioxidantes naturais.

Tabela 3. Percentual de inibição da oxidação lipídica utilizando como controle Hidroxibutilanisol (BHA) de *C. amboinicus* e *M. x villosa*

Tempo (h)	Conc. (µg/mL)	Percentual de Inibição (%)							
		Planta							
		Hortelã folha miúda				Hortelã folha grande			
		25	50	75	100	25	50	75	100
0		88,78	90	92,1	93,34	89,47	90,88	91,6	92,9
24		93,61	94,5	95,74	95,92	93,08	94,14	94,32	95,4
48		93,61	94,65	96,11	96,59	95,13	95,62	95,78	96,59
72		96,8	99,32	100,5	101,51	97,81	98,99	99,15	99,83
96		97,39	98,21	98,53	98,53	98,21	99,21	99,24	101,78

*P<0.0001, com significado estatístico a nível de 0,01% pelo teste one-way ANOVA.

ABSTRACT

Assessment of antimicrobial and antioxidant activity and toxicity of the species Coleus amboinicus (Lour.) and Mentha x Villosa (Huds.)

The popular use of medicinal plants with therapeutic potential has motivated experimental studies aimed at providing useful information of the utmost importance. Thus, in the present study, the antimicrobial and antioxidant activities of the species *Coleus amboinicus* (Lour.) and *Mentha x villosa* (Huds.) were assessed. Antimicrobial activity was determined by the disk diffusion method with standard Gram-negative (*Escherichia coli*: ATCC 25922 and ATCC 35218) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*: ATCC 25923 and ATCC 27853) bacterial strains, as well as a standard strain of the fungus *Cryptococcus neoformans* (belonging to the CESMAC collection of microorganisms). Discs with imipenen and fluconazole were used as positive controls and a disc with absolute ethanol as a negative control. The antioxidant power was assayed by the DPPH and FTC methods and determination of total phenolic compound contents. The ethanolic extracts of *C.* and *M. amboinicus x villosa* showed excellent results with regard to both antimicrobial and antioxidant activities. Our results show the potential of these plants for preventing and fighting disease.

Keywords: Antioxidant Activity. Antimicrobial Activity. Mint.

REFERÊNCIAS

- Alves CQ, David JM, David JP, Bahia MV, Aguiar RM. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Quim Nova*. 2010;33(10):263-9.
- Andrade C A, Costa C K, Bora K. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Rev Bras Farmacogn*. 2007;17(2):231-5.
- Almeida PP. Extração de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.) com misturas de solventes a alta pressão. 2006. [Dissertação]. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis; 2006.
- Alvim NAT, Ferreira MA, Cabral IE, Almeida Filho AJ. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. *Rev Latino-Am Enfermagem*. 2006;14(3):1-9.
- Fernandes ASF. Propriedades nutricionais, nutraceuticas e antioxidantes de espécies silvestres condimentares utilizadas na gastronomia tradicional do nordeste transmontano. [Dissertação]. Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança; 2010.
- Frias UA, Costa MCM, Frias JAT. Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades antibacteriana e anticolinesterásica de extratos de *Banisteriopsis anisandra* A. Juss. (Malpighiaceae). *Rev Cubana Plant Med*. 2011;16(1):60-71.
- Lai SM, Gray JI, Smith DM, Booren AM, Crakel RL, Buckley DJ. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. *J Food Sci*. 1991;56(3):616-20.
- Leal AJB, Dantas IC, Chaves TP, Felismino DC, Vieira KVM. Estudo fitoquímico antimicrobiano de *Ceiba Glaziovii* Kuntze K. Schum. *Rev Biol Farm*. 2011;5(1):73-7.
- Maetins ER, Figueiredo LS, Casali VWD. Secagem de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e hortelã-comum (*Mentha x villosa*) em câmara com desumidificador. In: Seminário Mineiro de Plantas Medicinais, 1, Viçosa-MG, 1999:174.
- Matos-Rocha TJ, dos Santos Cavalcanti MG, Barbosa-Filho JM, Lúcio AS, Veras DL et al. *In vitro* evaluation of schistosomicidal activity of essential oil of *Mentha x villosa* and some of its chemical constituents in adult worms of *Schistosoma mansoni*. *Planta Med*. 2013; 79(14):1307-12.
- Menezes TOA, Alves ACBA, Vieira JMS, Menezes SAF, Alves BP, Mendonça LCV. *In vitro* evaluation of the anti-fungii activity of essential oils and plant extracts present in the amazon region about the strain of *Candida albicans*. *Rev Odontol UNESP*. 2009;38(3):184-91.
- Neves JM, Matos CM, Moutinho CG, Gomes LR, Teixeira T. Atividade antioxidante e avaliação *in vitro* da citotoxicidade de extractos aquosos de folhas de *Mentha piperita*. *Rev Fac Ciênc Saúde*. 2009;6:344-54.
- Ottolenghi A. Interaction of ascorbic acid and mitochondria lipids. *Arch Biochem Biophys*. 1959;79:355.
- Pasa MC, Avila G. Ribeirinhos e recursos vegetais: A etnobotânica em Rondonópolis, Mato Grosso, Brasil. *Interações*. 2010;11(2):195-204.

Pinto EPP, Amorozzo MCM, Furlan A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA, Brasil. *Acta Bot Bras.* 2006;20(4):751-62.

Ponzi EAC, Oliveira TL, Morais IAF, Silva Junior JJ, Gerbi MM, Souza IA, Psiottano MNC, Xavier HS et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Momordica charantia* L. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac.* 2010;10(1):89-94.

Prasenjit B, Hullatti KK, Vijay Kumar ML. Anthelmintic and antioxidant activity of alcoholic extracts of different parts of *Coleus amboinicus* Lour. *IJRAP: Int J Res Ayu Pharm.* 2011;2(1):181-5.

Sanchez-Morenos C, Larrauri JÁ, Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric.* 1998;76:270.

Sousa CMM, Silva HR, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS, Arújo DS, Cavalcante LCD, Araujo PBM, Brandão MS, Chaves MH. Fenólicos totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova.* 2007;30(2):351-5.

Wettasinghe M, Shahidi F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *J Agric Food Chem.* 1999; 47:1801-12.

Recebido em 30 de janeiro de 2013

Aceito para publicação em 17 de junho 2013