

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE PLANTAS MEDICINAIS

Alan Lauer

Graduado em Farmácia,
Faculdade Anglo Americano

Dayanne Sinara Francielle dos Santos

Graduada em Farmácia,
Faculdade Anglo Americano

Alexandra Claudia Puerari

Graduada em Farmácia,
Faculdade Anglo Americano

Camila Garcia Salvador

Mestra em Ciências Farmacêuticas – PUCPR;
Docente da Faculdade Anglo Americano

Resumo

A atividade biológica de plantas medicinais tem sido objeto de intensa investigação, verificando-se um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Considerando-se que grande parte da população utiliza plantas com finalidade curativa sem embasamento científico, e que grande número de microrganismos apresenta resistência a antibióticos, o estudo avaliou a eficácia antimicrobiana de algumas plantas medicinais *in vitro* utilizando extratos hidroalcoólicos de *Morus nigra*; *Leonurus sibiricus* L. e *Equisetum hyemale* L frente à *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri* e *Streptococcus pyogenes*, através do método de difusão em Agar Muller Hinton. O ensaio de atividade antibacteriana mostrou que 100% (3/3) dos extratos apresentaram algum efeito inibitório contra pelo menos uma espécie de bactéria.

PALAVRAS-CHAVE: plantas medicinais; antibiose; resistência microbiana; antibióticos; extratos hidroalcoólicos.

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade, a resistência bacteriana é descrita em praticamente todas as espécies de bactérias (TAVARES, 2000), sendo que o desenvolvimento desta reação, além de determinar uma menor eficácia da droga, também representa um potencial de risco à saúde pública (BACCARO et al., 2002).

A resistência aos antimicrobianos pode ser determinada por bases não genéticas (Levinson; Jawetz, 2005), mas, na maioria das vezes está relacionado à existência de genes contidos no microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação das drogas (TAVARES, 2000).

Nos últimos anos, a frequência de resistência microbiana e a associação desta resistência com doenças infecciosas graves têm aumentado de forma progressiva (BOUZADA, 2009; SERPA, 2006), tornando-se crescente o interesse por compostos antibacterianos de origem natural, uma vez que, grande parte dos microrganismos tende a desenvolver resistência aos antibióticos rotineiramente utilizados na clínica, por uso excessivo ou até inadequado (BOUZADA, 2009; MICHELIN, 2005; TÔRRES, 2008) ocasionando inclusive efeitos indesejáveis pelo uso abusivo dos medicamentos sintéticos (FETROW; AVILA, 2000).

A atividade biológica de plantas medicinais tem sido objeto de intensa investigação (DUARTE et al., 2004) verificando-se um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Plantas superiores e aromáticas são amplamente utilizadas na medicina popular, uma vez que apresentam amplo espectro de atividade e inibição comprovada contra bactérias e fungos. A maioria dessas propriedades é conferida por produtos do metabolismo secundário (DUARTE et al., 2004).

O Brasil apresenta uma rica biodiversidade. O número estimado de espécies vegetais em nível global é de 250.000 e o Brasil detém em torno 18% do total mundial, das quais 17.000 são consideradas endêmicas (LEWINSOHN; PRADO apud LEITE, 2009), sendo assim, é essencial explorar seu potencial.

A seleção de plantas, a partir de informações da medicina tradicional ou popular, pode conduzir à descoberta de moléculas promissoras com ação terapêutica (AGRA, et al., 2007 apud DUTRA, 2008).

O gênero *Morus* é conhecido por conter uma variedade de compostos fenólicos incluindo flavonóides isoprenilados, cumarinas, cromonas e xantonas. Muitos destes compostos exibem propriedades biológicas, tais como atividades antiinflamatórias, diurética, efeitos hipotensores (Silva et al., 2009). *Morus nigra* L (amoreira) é conhecida pelos valores nutricionais de seus frutos como também por conter vários compostos com ação terapêutica, como, reposição hormonal e amenizar sintomas que ocorrem no período pré-menstrual (FRANZOTTI, 2006).

Leonurus sibiricus L., pertencente à família Lamiaceae é popularmente conhecida como erva rubim. Cresce de forma espontânea podendo ser considerada como daninha. É empregada empiricamente pela população na forma de chás,

utilizando-se todas as suas partes. É considerada amarga, diurética, estimulante da circulação, hipotensora, reguladora menstrual, além de facilitar a eliminação de toxinas do organismo (LORENZI; MATOS, 2002). Alguns constituintes químicos isolados das folhas de *Leonurus sibiricus* por Almeida et al. (2006), bem como compostos fenólicos identificados podem estar relacionados com as atividades medicinais contra edemas e sangramentos. De acordo com o estudo de Wadt et al. (1998) “o extrato bruto da erva rubim inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Candida albicans*, sendo a concentração mínima inibitória menor que 0,5 mg/mL e maior que 0,1 mg/mL”.

Equisetum hyemale L, conhecida popularmente como cavalinha, pertencente à família Equisetaceae (BARROS et al., 2007) é nativa de áreas pantanosas de quase todo o Brasil sendo frequentemente cultivada com fins ornamentais (LORENZI; MATOS, 2002). É uma planta curativa devido ao seu conteúdo de potássio, silicato, ferro, sódio, manganês, enxofre e magnésio. Combate enfermidades como resfriados, gripes, cálculos, reumatismo, gota, hidropisia, herpes, cárie, alterações nas vias urinárias, entre outros (KOZEL, sd). Contém princípios ativos como saponinas, flavonóides, taninos e alcalóides (MARTINS et al., 2000; FRANCESCHINI FILHO, 2004).

2 OBJETIVOS

Considerando-se que grande parte da população utiliza plantas com finalidade curativa sem embasamento científico, e que grande número de microrganismos apresenta resistência a antibióticos, o estudo teve por objetivo avaliar a eficácia antimicrobiana de *Morus nigra* (amoreira); *Leonurus sibiricus* L. (erva Rubim) e *Equisetum hyemale* L (cavalinha) *in vitro*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Plantas Estudadas

As plantas foram coletadas no período da manhã em diferentes localidades no município de Medianeira, PR, Brasil, sendo confirmada a identificação botânica das espécies através de exsicatas. A identificação botânica foi feita pela especialista Livia Godinho Temponi e encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), sob os seguintes números de registro:

UNOP 8873 *Morus nigra* L., UNOP 8874 *Equisetum hyemale* L., UNOP 8875 *Leonurus sibiricus* L. As exicatas foram inseridas na coleção do Herbário UNOP e encontram-se disponíveis para consulta.

3.2 Preparo dos Extratos

Para o preparo dos extratos hidroalcoólicos foram utilizadas as folhas das plantas *Morus nigra*, *Leonurus sibiricus* L. e toda parte aérea de *Equisetum hyemale* L, onde primeiramente foi realizada a secagem de cada material vegetal em estufa a 45 °C com controle interno de umidade, inferior ou igual a 50%. Consideraram-se as plantas como secas quando se encontrassem quebradiças ao toque possibilitando a rasura das mesmas. O processo utilizado para a obtenção dos extratos foi o método de maceração, no qual a extração da matéria-prima vegetal foi realizada em ambiente fechado, em temperatura ambiente, sem remoção do líquido extrator e sob agitação ocasional (SIMÕES, 2000).

O extrato foi preparado com solução hidroalcoólica 65 °GL, na proporção de 1:5 (1 g da droga vegetal para 5 mL de solução), sendo as misturas obtidas acondicionadas em frascos de vidro e mantidas protegidas da luz por um período de sete dias. Decorrido este período os extratos foram filtrados em algodão e acondicionados em frascos âmbar.

3.3 Microorganismos Testados

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia Clínica da Faculdade Anglo Americano de Foz do Iguaçu, PR. Foram utilizadas as cepas de bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615; bactérias Gram-negativas, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Pseudomonas aeruginosa* CCD P003, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Escherichia coli* ATCC 25922 e fungo *Candida albicans* ATCC 10231, adquiridos na instituição.

3.4 Preparo dos Inóculos

Para a preparação das cepas padrão, cada cepa bacteriana foi inoculada em 3 mL do meio de cultura líquido BHI (Brain Heart Infusion) e incubada a 36 °C por uma noite. Posteriormente, uma alçada do crescimento foi inoculada em 3 mL de

BHI e incubada a 36 °C. No dia seguinte, o procedimento anterior foi repetido novamente. A partir do crescimento do 3º dia, foi inoculada, por esgotamento, uma alçada em Agar sangue e incubada a 36 °C. Através do crescimento em Agar sangue foram preparadas as suspensões para o experimento. Para a padronização da técnica e dimensionamento do inóculo, quatro colônias com mesma morfologia de cada cepa bacteriana foram misturadas em 4 mL de solução salina estéril e comparadas com o tubo 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC/ml).

O *screening* foi realizado em placa com meio de Muller Hinton Agar solidificado, contendo orifícios de 5 mm de diâmetro, no qual foi realizada a semeadura em superfície dos inóculos por meio de *swab*. Em um dos orifícios foram colocados 50 µl do extrato hidroalcoólico das plantas estudadas e no outro orifício foram colocados 50 µl da solução de álcool 65 °GL para verificar possível efeito inibidor do solvente frente aos microrganismos testados.

3.5 Ensaios de Antibiose

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos foi empregado o método da difusão em ágar, utilizando orifícios que foram confeccionados no meio de cultura. Após as semeaduras dos microrganismos em meio ágar Mueller Hinton contido nas placas de Petri, foram adicionados em um orifício 50 µl dos extratos hidroalcoólicos e incubados a 35 °C por 24 horas. Foi mantida uma distância média de 40 mm entre os orifícios para evitar interferências entre os possíveis halos de inibição. Após este procedimento, as placas foram fechadas sendo as mesmas incubadas sem inversão. Após 24 h de incubação, foi realizada a leitura dos resultados, nos quais se observou o diâmetro dos halos de inibição formados por cada extrato (MACHADO, 2006; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Para a interpretação dos dados foram seguidas as recomendações do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), onde os halos de inibição formados foram comparados com a tabela de referência, sendo os microrganismos classificados como resistente (zona de inibição inferior a 15 mm), intermediário (de 15-29 mm) e sensível (de 30-35 mm) a determinado agente (NCCLS, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a identificação das espécies vegetais, as mesmas foram organizadas em famílias, nome popular e órgãos testados conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Identificação Botânica das plantas medicinais utilizadas.

Espécie vegetal	Família	Nome popular	Órgão testado
<i>Morus nigra</i>	Moraceae	Amoreira	Folhas
<i>Equisetum hyemale L.</i>	Equisetaceae	Cavalinha	Parte aérea
<i>Leonurus sibiricus L.</i>	Lamiaceae	Erva rubim	Folhas

Os resultados das médias dos halos de inibição (mm) do potencial antimicrobiano dos extratos hidroalcoólicos de *Morus nigra*, *Leonurus sibiricus L.* e *Equisetum hyemale L.* contra *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri* e *Streptococcus pyogenes*, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 02: Média dos halos de Inibição.

Planta	Gram-negativo						Fungo	Gram-positivo		
	S.t	P.a	P.m.	P.a2	S.f	E.c		C.a	S.a	E.f
Amoreira	-	15,0 ¹	-	-	-	2,0 ^R	-	5,0 ^R	4,0 ^R	10,0 ^R
Erva rubim	-	27,0 ¹	-	-	10,0 ^R	-	-	-	-	10,0 ^R
Cavalinha	-	-	-	-	-	1,0 ^R	-	-	-	-

^RResistente = halo de inibição inferior a 15 mm; ¹ Intermediário = halo de inibição de 15 a 29 mm; ^S Sensível = halo de inibição de 30 a 35 mm. Os espaços em branco (-) indicam ausência de halo de inibição. S.t - *Salmonella typhimurium*, P.a - *Pseudomonas aeruginosa*, P.m - *Proteus mirabilis*, P.a2 - *Pseudomonas aeruginosa*, C.a - *Candida albicans*, S.a - *Staphylococcus aureus*, E.c - *Escherichia coli*, E.f- *Enterococcus faecalis*, S.f - *Shigella flexneri*, S.p - *Streptococcus pyogenes*.

A partir da análise dos dados obtidos; levando-se em conta as médias dos halos de inibição, verificou-se que os extratos hidroalcoólicos apresentaram efeito contra as bactérias e ausência de efeito contra a cepa de fungo estudado. Da mesma forma, Gurgel et al. (2002) não detectaram efeito inibitório do crescimento de fungos frente à extratos vegetais.

O ensaio de atividade antibacteriana mostrou que 100% (3/3) dos extratos apresentaram algum efeito inibitório contra pelo menos uma espécie de bactéria.

Apesar de se analisarem em sua maioria cepas Gram-negativas, proporcionalmente, constatou-se que os extratos manifestaram uma atividade contra bactérias Gram-positivas praticamente idênticas. De acordo com Haida et al. (2007), a resistência de bactérias Gram-negativas pode ser devido à composição química da parede celular dessa classe de microrganismos, o qual oferece uma barreira na permeabilidade celular. No entanto, observou-se que os halos de inibição significativos foram formados em torno de *Pseudomonas aeruginosa*, considerando-se este microrganismo como intermediário quanto à resistência aos extratos de amoreira e erva rubim, enquanto que o crescimento das cepas Gram-positivas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus pyogenes*, foram consideradas como resistentes a todos os extratos avaliados.

O extrato de *Equisetum hyemale* L evidenciou efeito apenas contra uma espécie de bactéria Gram-negativas não apresentando nenhum outro halo de inibição frente aos micro-organismos testados.

Dentre as amostras avaliadas, o extrato de *Morus nigra* mostrou resultado para um maior número de microrganismos, o que o torna forte candidato a pesquisa como novo agente antimicrobiano. Além do mais, já se constatou a presença de triterpenos e componentes ativos em *Morus nigra*, sendo indicado com atividade analgésica (SILVA et al., 2009), portanto, é evidente que maiores estudos a partir dessa planta medicinal são essenciais e promissores.

Todos os extratos hidroalcoólicos formaram halos de inibição para algum microrganismo, e mesmo que estes halos não tenham sido tão significativos, novas pesquisas envolvendo diferentes concentrações dos extratos podem promover melhores resultados e perspectivas da aplicação desses extratos como antibióticos.

Os resultados do presente estudo indicam que a atividade antibacteriana observada pelas espécies avaliadas pode estar relacionada com classes de substâncias ativas, responsáveis pelo metabolismo secundário dos vegetais (MARTINS et al., 2000; FRANCESCHINI FILHO, 2004), e, sugere-se que o estudo de tais plantas medicinais possa ser considerado mais propício se estas forem submetidas a estudos fitoquímicos para isolamento, identificação de composto(s) ativo(s) presentes, e determinação da concentração inibitória mínima.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que os extratos avaliados pela presente metodologia demonstram ser candidatos a fitoterápicos com ação antimicrobiana, além dos seus usos já tradicionais, principalmente a *Morus nigra* que demonstrou um maior efeito contra os microrganismos avaliados. Novos estudos devem ser realizados buscando maximizar a eficácia destes extratos e posteriormente aplicá-lo em testes in vivo.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. F. R.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; RODRIGUE, C. M.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W.; DELACHIAVE, M. E. Constituintes Presentes nas Folhas de *Leonurus sibiricus*: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006.

BACCARO, M. R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência Antimicrobiana de Amostras de *Escherichia Coli* Isoladas de Fezes de Leitões Com Diarréia. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.69, n.2, p.15-18, abr./jun, 2002.

BARROS, F. M. C.; PEREIRA, K. N.; ZANETTI, G. D.; HEINZMANN, B. M. Plantas de Uso Medicinal no Município de São Luiz Gonzaga, RS, Brasil. Lat. Am. J. Pharm. 26 (5): 652-662, 2007.

BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; DUARTE, G. G.; SCIO, E. Busca de Novas Drogas Antimicrobianas a Partir de Vegetais. Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG. Disponível em: < <http://www.ufjf.br/principia/files/2009/09/07.pdf>>. Acesso em 13 de abr. 2018.

CECHINEL, FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Plantas Medicinais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para a Otimização da Atividade. Quím. nova vol.21, no. 1. São Paulo jan./Feb. 1998.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P. M.; DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. Rev. Bras. Farmacogn., v. 14, supl. 01, p. 06-08, 2004.

DUTRA, R. C.; BRAGA, F. G.; COIMBRA, E. S.; SILVA, A. D.; BARBOSA, N. R. Atividade Antimicrobiana e Leishmanicida das Sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. Revista Brasileira de Farmacognosia. pg. 429 – 435, 2009.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA 1988 4ª ed. Parte I. Ed. Atheneu: São Paulo/SP.

FETROW, C. W.; AVILA, J. R. Manual de medicina alternativa para o profissional. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ, 2000.

FRANCESCHINI FILHO, S. Plantas Terapêuticas. Organização Andrei Editora Ltda. São Paulo – SP, 2004.

FRANZOTTI, E. M. Identificação de agonistas e antagonistas de receptoras nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* CODD., *Ipomoeae cairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart) Radlk. Dissertação de Doutorado, programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília, 2006.

HADA, K. S.; PARZIANELLO, L.; WERNER, S.; GARCIA, D. R.; INÁCIO, C. V. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*, v. 11, n. 3, p. 185-192, 2007.

GURGEL, P. A. et al. Atividade Antimicrobiana de Extratos Aquosos e Etanólicos de Algumas Plantas Brasileiras. XI Encontro Anual de Iniciação Científica - de 1 a 4/10/2002 - Maringá – PR - Universidade Estadual de Maringá/Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 2002.

KOZEL, C. Saúde e Cura pelas Plantas: e outros Recursos Naturais. Casa Editora Firmamento, 9.ed. Pág. 415. São Paulo – SP.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. Microbiologia Médica e Imunologia. 7. Ed. Editora Artmed. Porto Alegre – RS, 2005.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Biodiversidade Brasileira – síntese do estado atual do conhecimento. São Paulo: Contexto, 2002. 176p. in LEITE, J. P. V. Fitoterapia: Bases Científicas e Tecnológicas. 1ª Edição. Editora Atheneu, Pág. 328. São Paulo – SP, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Ed. Plantarum, Pág. 238-241. Nova Odessa – SP, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas medicinais. Ed. UFV, 4. ed. Viçosa – MG, 2000

MACHADO, C. H. C.; GIOPPO, N. M. R.; MARCONDES, N. R. Avaliação da atividade antimicrobiana da Própolis sobre gêneros de microrganismos mais prevalentes em infecções humanas. In: I Simpósio Médico, 2006, Cascavel – PR. I Simpósio Médico, 2006.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais. Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn. 15 (4): out/dez. 2005

NATIONAL COMMITTEE OF CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Wayne, 2000.

SERPA, R.; CASTELLI, R. M.; LUND, R. G.; FREITAG, R. A.; DEL PINO, F. A. B.; RIBEIRO, G. A. (2006). Avaliação das Propriedades Antimicrobianas da Cavalinha (*Equisetum arvense* L.). Publicado no XV Congresso de Iniciação Científica 2006. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2006/arquivos/conteudo_CB.html#00741. Acesso em 17/10/2009.

SILVA, M. J. D.; MESQUIT, M. P.; ROCHA, C. Q.; SANTOS, M. H.; SILVA, G. A. Estudo Químico e avaliação biológica de extrato das folhas de *Morus nigra* (Moraceae). Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza, CE. Disponível em http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/lista_area_QB.htm. Acesso em 08/11/2009.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento Tecnológico e Produção de Fitoterápicos In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., 2000. *Farmacognosia – da Planta ao Medicamento*. Capítulo 13. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da URG/UFSC, p. 248.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol. 33, n. 3, Uberaba, May/June 2000.

TÔRRES, A. R.; OLIVEIRA, R. A. G.; DINIZ, M. F. F. M.; ARAÚJO, E. C. Estudo Sobre o Uso de Plantas Medicinais em Crianças Hospitalizadas da Cidade de João Pessoa: Riscos e Benefícios. Rev. bras. farmacogn. vol.15 no. 4. João Pessoa Oct./Dec. 2005

WADT, N. S. Y.; OHARA M. T.; SAKUDA-KANEKO T. M.; BACCHI, E. M. Atividade antimicrobiana de *Leonorus sibiricus* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, vol.5, n.2, p.167-174. 1998.