



Controle de qualidade de ervas medicinais

Controle de qualidade de *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra)

Gabrielle Mouco

Aluna de graduação em Farmácia - UNIP
gabimouco@yahoo.com.br

Maira Jardim Bernardino

Aluna de graduação em Farmácia - UNIP
mjb@ajato.com.br

Melânia Lopes Cornélio, Ph.D

Farmacêutica, Ph.D- Química de Produtos Naturais
Professora Titular da Disciplina de Farmacognosia
UNIP - Universidade Paulista-SP
melaniacornelio@yahoo.com.br

Ilustrações cedidas pelos autores

Introdução

O controle de qualidade da droga vegetal é imprescindível, pois muitas espécies vegetais são vendidas sem nenhuma garantia de qualidade, o que favorece desde a venda de espécies falsificadas até o armazenamento inadequado da droga vegetal durante a sua comercialização. A análise aqui descrita foi realizado com a droga vegetal adquirida e conhecida popularmente como quebra-pedra. O controle de qualidade dessa droga vegetal foi feito a começar da sua descrição microscópica, para verificar a autenticidade da espécie a fim de evitar equívocos. Também foram realizados testes químicos para confirmar as principais classes de seus constituintes químicos descritos na literatura (De Souza *et. al.*, 2002; Duke, 2000). Os interesses terapêuticos do *Phyllanthus niruri* L. provêm principalmente de suas propriedades diuréticas para o combate de cálculos renais. Devido a isso, estão sendo desenvolvidos vários estudos para isolar a substância responsável por tais propriedades, além de elucidar a melhor maneira de tratamento (Teske *et. al.*, 1995).

Estudos experimentais com as folhas e as sementes também têm demonstrado a sua ação hipoglicemiante, antibacteriana e anticancerígena. Em ensaios especiais, mostrou-se que é ativa contra o vírus da hepatite B *in vivo* e *in vitro*. Além disso, possui a virtude de dissolver

cálculos renais, impedindo a contração do ureter e promovendo a sua desobstrução. Desenvolve atividade diurética pela elevação da filtração glomerular e excreção urinária dos sais de uratos (Tona *et. al.*, 2001; Teske *et. al.*, 1995; Ogata *et. al.*, 1992).

Outro estudo realizado mostrou o efeito do *Phyllanthus niruri* sobre a cristalização do oxalato de cálcio *in vitro*. Por meio desse estudo, pôde-se concluir que o extrato de quebra-pedra interfere no crescimento e na agregação dos cristais na urina humana, sugerindo que essa planta tem um papel potencial na prevenção de cálculo renal ou do desenvolvimento (Barros, 2002; Freitas *et. al.*, 2002; Campos *et. al.*, 1999; Dias *et. al.*, 1995).

Materiais e Métodos

1 - Dados da Amostra

A amostra analisada foi adquirida em uma farmácia comercial e apresentava as folhas secas em fragmentos de 0,5 cm a 1,0 cm.

Apresentava uma coloração esverdeada que indicava que a amostra havia passado por processo de secagem.

2 - Controle Físico

Processo de Catação - Determinação da Pureza

Esse processo visou a avaliar se a amostra apresentava material

estranho, partículas que não correspondessem à droga analisada. A quantidade de amostra analisada foi de 25 g de material vegetal.

3 - Descrição microscópica

Os fragmentos da parte da folha foram submetidos a estudo histológico, e neles foram realizados cortes do tipo paradérmico e transversal

4 - Análise química

As folhas secas foram submetidas a processos químicos de identificação das seguintes classes de constituintes químicos: taninos, heterosídeos flavanoídicos, heterosídeos saponínicos, heterosídeo antraquinônicos, alcalóides e óleos voláteis (Costa, 2001).

A seguir serão apresentadas as metodologias dos ensaios de identificação das classes dos constituintes químicos mencionados. Vale lembrar que são testes qualitativos com vistas a somente verificar a presença ou a ausência do constituinte químico em questão.

4.1 - Métodos de Identificação

4.1.1 - Taninos

Os taninos são substâncias polifenólicas, polihidroxiladas, de alto peso molecular, de origens vegetais, capazes de precipitar proteínas, pectinas, alcalóides e metais pesados em solução aquosa (Simões *et. al.*, 2001).

A estrutura química é complexa na sua maioria, apresenta características adstringentes ao paladar e são capazes de curtir a pele dos animais, transformando-a em couro.

Os taninos são sólidos, amorfos na sua maioria, solúveis em água, álcool, glicerina e polietilenoglicol. São insolúveis em solventes orgânicos apolares.

Classifica-se em gálicos, hidrolisáveis, catequínicos ou condensados.

Extração Genérica de Taninos

Pesou-se cerca de 2g da droga (quebra-pedra) pulverizada;

Extraíram-se os taninos com cerca de 40 mL de água destilada, deixando-a ferver durante, aproximadamente, 2 minutos;

Filtrou-se em papel de filtro, procurando manter o pó no fundo do recipiente;

Repetiram-se mais duas extrações, com cerca de 10 mL de água cada;

Filtrou-se novamente, como indicado anteriormente;

Utilizou-se o filtrado para as reações de identificação seguintes.

Reação com Cloreto Férrico

Em um tubo de ensaio colocou-se cerca de 1,0 mL da solução extrativa e adicionaram-se-lhe 5,0 mL de água destilada e uma gota de cloreto férrico 2% (escorrendo-o pela parede do tubo).

Foi necessário que se observasse a formação de um precipitado ou o aparecimento de colorações: preta, verde, azul, conforme o tipo de estrutura química.

Reação com Solução Aquosa de Alcalóides

Em um tubo de ensaio colocou-se 1,0 mL da solução extrativa, diluída a uma proporção 1:5. Adicionaram-se-lhe 5 gotas de ácido clorídrico a 5% e 1 ou 2 gotas de solução de sulfato de alcalóides.

Esperou-se para observar a formação de um precipitado branco ou castanho esbranquiçado.

Reação com Acetato Neutro de Chumbo

Em um tubo de ensaio colocou-se 1,0 mL da solução extrativa diluída na proporção 1:5. Adicionaram-se-lhe 1 ou 2 gotas de solução aquosa de acetato neutro de chumbo a 10%.

Esperou-se para observar a formação de um precipitado castanho avermelhado volumoso e denso.

Reação com Solução de Acetato de Cobre

Em um tubo de ensaio colocou-se cerca de 1,0 mL de solução extrativa diluída na proporção de 1:5. Adicionaram-se-lhe 1 ou 2 gotas de solução aquosa de acetato de cobre a 5%.

Esperou-se para se observar a formação de um precipitado castanho avermelhado.

Reações Específicas de Taninos:

Reação com Acetato de chumbo e Ácido Acético Glacial

Em um tubo de ensaio colocaram-se cerca de 3 mL de solução extrativa e adicionaram-se-lhe cerca de 2 mL de ácido acético glacial a 10% e 3 mL da solução de acetato de chumbo a 10%.

Esperou-se para observar a formação de um precipitado castanho avermelhado que indicasse a presença de taninos gálicos.

Obs: A adição de ácido acético impede a precipitação de taninos catequínicos.

Reação com Reativo de Wasicky

Eliminou-se o precipitado da reação com acetato de cobre (anterior) por filtração e utilizou-se o filtrado.

Adicionaram-se cerca de 0,5 mL de solução de poli-metil-amino-benzaldeído. Esperou-se para observar a formação de um precipitado carmim ou róseo que indicasse a presença de tanino catequínico.

4.1.2- Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, que possui uma parte lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da

água, característica de suas ações detergente e emulsificante (Simões *et. al.*, 2001).

Extração Genérica das Saponinas

Em um aparelho de refluxo colocaram-se 90 mL de extrato aquoso 1% da droga.

Adicionaram-se-lhe cerca de 10 mL de ácido clorídrico.

Deixou-se o processo em refluxo por aproximadamente uma hora para, em seguida, desligá-lo e deixá-lo esfriar.

Transferiu-se o líquido para um funil de separação de 200 mL e adicionaram-se-lhe 50 mL de clorofórmio. Repetiu-se a extração com clorofórmio por mais duas vezes.

Reduziu-se o volume a 75 mL em banho-maria.

Processos Gerais de Identificação de Saponinas

Obs.: Para cada reação de identificação, evaporou-se cerca de 5 mL da fase orgânica obtida anteriormente.

Reação de Rossol: No tubo de ensaio onde se realizou a evaporação de 5 mL da fase orgânica, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado.

Esperou-se para observar o aparecimento de uma coloração vermelha ou violeta que indicasse a presença da saponina.

Reação de Mitchell: No tubo de ensaio onde se realizou a evaporação de 5 mL da fase orgânica, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado e vestígios de nitrato de prata.

Esperou-se para observar o aparecimento de uma coloração avermelhada que indicasse a presença de saponina.

Reação de Rosenthalen: No tubo de ensaio onde se realizou a evaporação de 5 mL da fase orgânica, adicionaram-se uma ou duas

gotas de solução de vanilina a 1% em ácido clorídrico.

Esperou-se para observar o aparecimento de coloração azul que se desenvolvesse somente a quente.

Reação com Reativo de Sulfo-vanílico:

No tubo de ensaio onde se realizou a evaporação de 5 mL da fase orgânica, adicionaram-se uma ou duas gotas de solução de vanilina 1% em ácido sulfúrico.

Esperou-se para observar o aparecimento de coloração violeta-azulada.

Reação de Liebermann:

No tubo de ensaio onde se realizou a evaporação de 5 mL da fase orgânica, dissolveu-se o resíduo em 2 mL de ácido acético glacial. Adicionaram-se-lhe 1 ou 2 gotas de cloreto férrico a 3%. Em seguida, verteram-se, pela parede do tubo, 1 ou 2 mL de ácido sulfúrico sem agitar. Na superfície de contato entre os dois líquidos, poderia formar-se um anel com coloração pardo-avermelhada ou verde, que indicaria a presença de derivados esteroidais, ou com coloração azul, que indicaria a presença de derivados triterpenóides.

4.1.3- Flavonóides

Os flavonóides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes com relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais (Simões *et. al.* 2001).

Extração Genérica de Compostos Flavonoídicos:

Pesaram-se cerca de 2,0 g da droga;

Colocada em um béquer, adicionaram-se-lhe cerca de 15 mL de etanol a 75%;

Foi fervida por alguns minutos;

Em seguida, foi esfriada e filtrada em papel de filtro;

Reservou-se esse extrato para executar as reações gerais de identificação.

Reações Genéricas de Identificação de Flavonóides

Reação de Shinoda: Adicionaram-se cerca de 5 mL do extrato em um tubo de ensaio que continha uma pitada de magnésio metálico. Acrescentaram-se-lhe 0,5 - 1,0 mL de ácido clorídrico.

Observou-se o desenvolvimento de coloração rósea-avermelhada indicaria a presença de flavonóis; violeta indicaria a presença de flavanonas e laranja indicaria a presença de flavonas.

Obs.: O desenvolvimento da cor pode ocorrer imediatamente ou após algum tempo.

Reação com Cloreto de Alumínio:

Sobre um papel de filtro, demarcaram-se duas áreas A e B. Depositaram-se em cada uma delas algumas gotas do extrato da droga e esperou-se secar. Em seguida, colocou-se em uma das áreas 1 gota de solução de cloreto de alumínio 5% em etanol. Eliminou-se o etanol. Verificou-se o comportamento da substância nas duas áreas frente à luz ultravioleta. Observou-se o aspecto fluorescente que indicasse a presença de flavonóides.

Reação com Cloreto Férrico:

Diluiu-se o extrato com água na proporção de 1:5, em seguida, colocaram-se em dois tubos de ensaio 5 mL do extrato diluído. Adicionou-se pela parede de um dos tubos 1 gota de cloreto férrico 2%.

Esperou-se para observar o desenvolvimento de cor, que poderia variar entre verde, amarelo-castanho e violeta, de acordo com o tipo de composto flavonoídico.

Reação com Hidróxido de Sódio:

Diluiu-se o extrato na proporção de 1:5. Colocaram-se 5 mL desse extrato diluído em um tubo de ensaio e adicionaram-se-lhe 1

ou 2 gotas de NaOH 5%.

Observou-se o desenvolvimento de coloração amarela, que varia de intensidade.

4.1.4- Glicosídeos Antraquinônicos

São compostos naturais encontrados sob forma glicosídica ou livres derivados do núcleo antraquinônico. Relacionam-se diretamente com antraquinona, uma dicetona insaturada. Possuem ação catártica e são classificadas, como catártico estimulante (Akisue, 2002).

Extração dos glicosídeos antraquinônicos

Reação de Bornträger: Pesou-se cerca de 1g da droga, adicionaram-se-lhe cerca de 20 mL de etanol a 75% e foi aquecida durante 2 minutos em banho-maria.

Em seguida, realizou-se a filtração em funil simples e adicionaram-se ao filtrado cerca de 2mL de ácido sulfúrico que foi levado ao banho-maria durante 1 minuto.

Deixou-se o filtrado acidificado esfriar.

Realizou-se a extração em um funil de separação com 10 mL de acetato de etila, e repetiu-se a extração por mais duas vezes.

Mediram-se cerca de 5 mL da fase orgânica e adicionaram-se-lhe cerca de 1 ou 2 gotas de hidróxido de amônio.

Esperou-se para observar a formação de uma coloração amarela, que indicasse a presença da antraquinona na forma reduzida, ou vermelha, que indicasse a presença da antraquinona na forma oxidada.

Reação com Hidróxido de sódio: Pesaram-se 0,5 g de droga, que foi colocada em um vidro de relógio e adicionaram-se-lhe algumas gotas de hidróxido de sódio a 0,5%.

Esperou-se para observar o aparecimento de uma coloração amarelada, que indicasse a pre-

sença da antraquinona na forma reduzida, ou de uma coloração avermelhada que indicasse a presença da antraquinona na forma oxidada.

4.1.5 - Alcalóides

Os alcalóides que contêm um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados de alcalóides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com o átomo de nitrogênio que não pertença a um sistema heterocíclico são denominados de protoalcalóides.

Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos, que não são derivados de aminoácido, são chamados de pseudoalcalóides (Simões *et. al.*, 2001).

Métodos de Identificação de Alcalóides

Pesar cerca de 1g da droga em um béquer, adicionar 30 mL de solução de HCL 1,5% e aquecer por aproximadamente 3 minutos. Em seguida, filtrar o sobrenadante em algodão e transferir o filtrado para um funil de separação.

Testes de Identificação

Alcalinizar o filtrado obtido anteriormente com solução de Hidróxido de Amônio (NH₄OH) até atingir um pH entre 9 e 10 (utilizar papel tornassol para determinar o pH).

Em seguida, adicionar ao filtrado alcalinizado cerca de 15 mL de Clorofórmio (CHCl₃) e agitar para que os alcalóides presentes passem para a porção orgânica. Colocar cinco gotas do extrato em cada cápsula de porcelana, colocá-las em uma chapa e esperar secar, após isso, dissolver o resíduo com 4 gotas de solução de HCL 1,5% em todas as cápsulas e em cada uma adicionar o reagente de identificação de alcalóides:

Reagente de Sheibler - Adicio-

nar algumas gotas sobre o resíduo e observar desenvolvimento de coloração amarelo claro.

Reagente de Bourchardat - Adicionar algumas gotas sobre o resíduo e observar o desenvolvimento de coloração amarelo tijolo.

Reagente de Bertrand - Adicionar algumas gotas sobre o resíduo e observar o desenvolvimento de coloração amarelo tijolo.

Reagente de Mayer - Adicionar algumas gotas sobre o resíduo e observar desenvolvimento de um precipitado floculoso branco.

Reagente de Dragendorff - Adicionar algumas sobre o resíduo e observar desenvolvimento de coloração amarelo tijolo.

4.1.6 - Óleos voláteis

Os óleos voláteis são definidos como produtos obtidos de partes de planta por meio da destilação por arraste com vapor d'água. São misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (Simões *et. al.*, 2001).

Pesar cerca de 1 g da droga a ser analisada, colocar em um gral de vidro, adicionar cerca de 1 mL de etanol absoluto e triturar. Pingar uma gota em um papel de filtro, evaporar e sentir o aroma, o qual indica a presença de óleos voláteis.

5 - Resultados

Na amostra continha fragmentos de folhas e caules de tamanhos que variavam de 0,1 a 1,0 cm de tamanho.

Observou-se que em 25 g da amostra que 0,75 g correspondia a fragmentos de materiais estranhos à planta. A Farmacopéia Brasileira recomenda que a porcentagem de material estranho de outra parte da planta tenha um limite de tolerância em torno de 10%.

A análise microscópica da droga vegetal através dos cortes histológicos e a sua descrição macroscópica foram comparadas com dados da literatura, o que permitiu confirmar que a droga vegetal

Tabela 1- Resultados das reações indicativas da presença ou ausência de taninos em *P. niruri*

Reativos	<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Phyllanthus niruri</i>
Reação com cloreto Férrico (Gerais)	PRECIPITADO AZUL	-
Reação com Solução Aquosa de Alcalóides	PRECIPITADO CASTANHO	-
Reação com Acetato Neutro de Chumbo	PRECIPITADO CASTANHO	-
Reação com Solução de Acetato de Cobre	PRECIPITADO CASTANHO	-
Reação com Acetato de Chumbo e Ácido acético Glacial	PRECIPITADO CASTANHO	-
Reativo de WASICKY	PRECIPITADO ROSA	-
Reação com Cloreto Férrico (Específica)	COLORAÇÃO VERDE	-

(-) ausência

Tabela 2- Resultados das reações indicativas da presença ou ausência de glicosídeos saponínicos.

Reativos	<i>Quilaia saponaria</i>	<i>Phyllanthus niruri</i>
Rosol	+	-
Mitchell	+	-
Rosenthalen	+	-
Reativo Sulfo-Vanílico	+	-
Liebermann	+	-

(+) presença

(-) ausência

Tabela 3- Resultado das reações indicativas da presença ou ausência de glicosídeos flavanoídicos.

Reativos	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Phyllanthus niruri</i>
Shinoda	VERDE (flavonas)	VERDE (flavonas)
Cloreto de Alumínio	FLORESCÊNCIA AMARELO-ACASTANHADO (flavonol)	FLORESCÊNCIAAMARELO-ACASTANHADO (flavonol)
Cloreto Férrico	AMARELO-ACASTANHADO (flavonol)	VERDE (flavonas)
Hidróxido de sódio	AMARELA (flavonol)	AMARELA (flavonol)

Tabela 4- Resultado das reações da presença ou ausência de glicosídeos antraquinônicos.

Reativos	<i>Dimorphandra mollis</i>	<i>Phyllanthus niruri</i>
Bomträeger	vermelho	vermelho
Hidróxido de Sódio	vermelho	vermelho

Tabela 5- Resultados das reações indicativas da presença ou ausência de alcalóides.

Reativos	<i>Chibchona calisaya</i>	<i>Phyllanthus niruri</i>
Sheibler	AMARELO CLARO	AMARELO CLARO
Bourchardat	AMARELO TIJOLO	AMARELO TIJOLO
Dragendorff	AMARELO TIJOLO	AMARELO TIJOLO
Bertrand	AMARELO TIJOLO	AMARELO TIJOLO
Mayer	BRANCO	BRANCO

em análise era mesmo a espécie *Phyllanthus niruri* L (Souza, 2003).

Nos testes realizados para identificar os taninos, foi usada como droga padrão o cajueiro (*Anacardium occidentale*), droga vegetal que tem como principais constituintes químicos os taninos, e a droga em estudo não indicou a presença de taninos nos testes realizados (Tabela-1).

5.1 - Saponinas

Para as reações de identificação de heterosídeos saponínicos foi utilizada como droga padrão a quilaia (*Quilaia saponaria*) para compará-la com a droga em estudo. Os resultados demonstraram que a *P. niruri* não possui saponinas (Tabela-2).

5.2 - Flavonóides

Para as reações de identificação de flavonóides, utilizou-se como droga padrão a Ginkgo (*Ginkgo biloba*). Os resultados das análises mostraram que a espécie *P. niruri* apresentou flavonóides na sua composição química, de acordo com que se pode observar na tabela (Tabela-3).

5.3 - Glicosídeos Antraderivados

Para os resultados das reações indicativas da presença ou ausência foi utilizada como droga padrão o faveiro (*Dimorphandra mollis*) e a droga vegetal em análise - *P. niruri* – apresentou, na sua composição química, indicativo da presença de glicosídeos antraquinônicos na forma oxidada, como podemos observar na tabela (Tabela-4).

5.4 - Alcalóides

Para as reações de identificação de alcalóides, utilizou-se como droga padrão a quina (*Cinchona calisaya*) e a espécie *P. niruri* em estudo apresentou resultado positivo na presença dos reativos para alcalóides, como se pode observar na tabela (Tabela-5).

5.5 - Óleos Voláteis

No teste realizado para indicar a presença ou ausência de óleos voláteis, não foi possível, por meio dele, verificar a presença de óleos voláteis na espécie em análise - *P. niruri*

6 - Discussão

Por meio das análises realizadas, foi possível identificar a droga vegetal em estudo como *Phyllanthus niruri* (quebra-pedra). Antes de se utilizar qualquer droga no preparo de medicamentos, deve-se submetê-la a uma análise rigorosa. A identificação e a pureza da droga, bem como a avaliação de seus princípios ativos são tarefas indispensáveis àqueles que buscam produtos de qualidade.

De acordo com a literatura, o *Phyllanthus niruri* apresenta em sua constituição substâncias como glicosídeos antraquinônicos, flavonóides e alcalóides, além de outras que não foram investigadas

no presente trabalho, mas que se sabe fazem parte da constituição química da planta. Acredita-se que algumas dessas substâncias sejam responsáveis pelo efeito terapêutico atribuído ao quebra-pedra, porém não se sabe ao certo qual dessas substâncias é especificamente a responsável por tal propriedade. Assim, os constituintes identificados na análise fitoquímica foram suficientes para afirmarmos que a planta utilizada era realmente o *Phyllanthus niruri*, sendo identificada a droga como verdadeira.

Referências Bibliográficas

- AKISUE, G. *Farmacognosia*. Curso de identificação de drogas vegetais. São Paulo: Pharmakon, 2002.
- BARROS, M. E. Efeito do *Phyllanthus niruri* sobre a cristalização do oxalato de cálcio *in vitro*, São Paulo, (Tese de mestrado-Universidade Federal de São Paulo), 72 p, 2002.
- CAMPOS, A. H., SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* inhibits calcium oxalate endocyte by renal tubular cells: its role in urolithiasis. *Nephron*, 81(4): 393-7, 1999.
- COSTA, A F. *Farmacognosia*. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian, 3ed, v. 3, 2001.
- DE SOUZA, T. P., HOLZSCHUH, M. H., LIONCO, M. I., GONZALEZ, O. G., PETROVICK, P. R., Validation of a LC method for the analysis of phenolic compounds from extract of *Phyllanthus niruri* aerial parts. *J. Pharm. Biomed Anal.* 30 (2): 351-6, 2002.
- DIAS, M. A., CAMPOS, A. H., CECHINEL, V. F., YUNES, R. A., CALIXTO, J. B. Analysis of the mechanisms underlying the contract response induced by hydroalcoholic extract of *Phyllanthus* urinaria in the guinea-pig urinary blad *in vitro*. *J. Pharmacol*, 47 (10): 846-51, 1995.
- DUKE, J. A. *Handbook of Phytochemical Constituents of Grass Herbs and Other Economic Plants*. USA: CRC Press, 2000.
- FREITAS, A. M., SCHOR, N., BOIM, M. A. The effect of *Phyllanthus niruri* on inhibitor of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. *BJU Int* 89(9): 829-34, 2002.
- OGATA, T., HIGUCHI, H., MOCHIDA, S., KATO, A. E. T., KAJI, H. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor from *Phyllanthus niruri*. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 8 (11): 1937-44. 1992
- SOUZA, G. S. Análise comparativa do desenvolvimento floral em *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex. Adr. De Juss) Muell. Arg. e em *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Tese de mestrado- Centro de Energia Nuclear na Agricultura- CENA, 2003.
- SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. Porto Alegre: Editora da UFSC, 3 ed. 833 p. 2001.
- TESKE, M., TRENTINI, A. M.M. *Herbarium – Compêndio de Fitoterapia*. 3 ed. São Paulo: Herbarium Laboratório Botânico Ltda, 1995.
- TONA, L., MESIA, K., NGIMBI, N. P., CHRIMWAMI, B., OKOND'AHOKA, C. K., BRUYNE, T., APERS, S., HERMANS, N., TOTTE, J., PIETERS, L., VLIETINCK, A. J., In-vivo antimalarial activity of *Cassia occidentalis*, *Morinda morindoides* e *Phyllanthus niruri*. *Ann. Trop. Med. Parasitol*, 95(1): 47-5, 2001.