UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ABORDAGEM DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO DE *LUFFA OPERCULATA* COGN. (CUCURBITACEAE)

Rebeka Alves Caribé

RECIFE-PE
Maio, 2008

REBEKA ALVES CARIBÉ

ABORDAGEM DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO DE *LUFFA OPERCULATA* COGN. (CUCURBITACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Antonia de Souza

RECIFE –PE

Maio, 2008

Caribe, Rebeka Alves

Abordagem da abordagem da atividade biológica do extrato de *Luffa operculata* Cogn, (Cucurbitaceae) / Rebeka Alves Caribe. – Recife: O Autor, 2008.

vi, 84 folhas: il., fig., graf., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2008.

Inclui bibliografia.

1. *Luffa operculata* Cogn **. 2. Medicina Popular. I.Título.**

615.012	CDU (2.ed.)	UFPE
615.1	CDD (22.ed.)	CCS2008-084

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Jane Sheila Higino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Samuel Daniel de Sousa

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Pedro José Rolim Neto

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Beate Seagesser Santos

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Recife, 05 de junho de 2008.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA,** por decisão unânime, em 05 de junho de 2008 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antonia de Souza (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE).

Assinatura: _____

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Sebastião José de Melo (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Maria da Salete Horácio da Silva (Deptº de Enfermagem da Universidade Federal da Paraíba-UFPB).

Assinatura: _____

“ Quando acreditamos em algo, quando desejamos algo, quando lutamos por algo o universo conspira ao nosso favor . ”

Paulo Coelho

Dedico esse trabalho com todo amor a Deus, a minha família, aos meus amigos e aos meus mestres. No percurso da minha vida aprendi que determinação, coragem e alegria são essenciais para atingir as metas em todos os aspectos inclusive no âmbito profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar meu caminho, protegendo-me e guiando-me em todos os meus caminhos.

A minha mãe Zidinete Maria Alves Caribé, meu irmão Luis Claúdio e minha querida irmã Tatiana Alves Caribé, pelo amor e carinho incondicional.

Aos meus avós maternos, Manoel Cosme Alves e Maria Coleta Campos Alves, pelo amor e ensinamentos (*in Memorian*).

Aos meus sobrinhos Gabriel e Miguel.

As minhas tias, tios, primas e primos pelo carinho e compreensão.

A minha professora e orientadora Profa. Ivone Antônia de Souza, pelo carinho, apoio, orientação, amizade, paciência, incentivo e confiança, fatores imprescindíveis para a conclusão deste trabalho.

As minhas amigas de todas as horas: Sandra da Silva Guimarães, Andréa Cavalcanti, Verônica Fonseca, Laís Barbosa e Drika.

Ao Dr. Juan Diego Pocognoni, pelo carinho, apoio, incentivo e compreensão. Mesmo com a barreira geográfica, sempre se fez presente nos momentos difíceis e alegres.

A Dra. Ana Amélia Veras e Dra. Adriane Neves, pelo incentivo e cooperação.

Aos meus amigos: Adila, Viviane, Cinthia, Ruth, Isla, Sergio, Marcio, Julia, Samêa, Ana Flavia, Ana Claúdia, Nara, Tânia, Aurora, Mirtes, Daniela, Aldo, Lorena, Sergio, Mario, Diogo, Patrícia, Ricardo e Alysson.

Ao presidente do Hebron , Josimar Henrique da Silva, pela valiosa colaboração.

A todos os professores, técnicos e amigos do Departamento de Ciências Farmacêuticas.

A todos os amigos que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

Pág.

LISTA DE ABREVIATURAS i

LISTA DE FIGURAS ii

LISTA DE TABELAS iii

RESUMO. iv

ABSTRACT v

INTRODUÇÃO. 01

REVISÃO DA LITERATURA 05

ESTUDOS DA *LUFFA OPERCULATA* COGN. 06

BOTÂNICO. 06

UTILIZAÇÃO POPULAR 07

FITOQUIMICO. 08

FARMACOLÓGICO. 08

TOXICOLÓGICO. 09

ESTUDOS TOXICOLÓGICOS. 10

ESTUDOS TOXICÓLOGICOS DE PLANTAS 11

CÂNCER. 12

CARCINOGÊNESE. 12

EPIDEMIOLOGIA. 14

FÁRMACOS ORIUNDOS DE PLANTAS UTILIZADOS NA QUIMIOTERAPIA . . 14

RESISTÊNCIA BACTERIANA. 15

AGENTES ANTIMICROBIANOS. 18

OBJETIVO. 20

GERAL. 21

ESPECÍFICO. 21

ARTIGO I: AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DA DL_{50} DO EXTRATO BRUTO DE *Luffa operculata* Cogn. (Cucurbitaceae) 22

RESUMO. 24

ABSTRACT. 25

INTRODUÇÃO. 26

METODOLOGIA. 27

RESULTADOS. 29

DISCUSSÃO. 30

CONCLUSÃO. 31

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA. 32

ARTIGO II: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO BRUTO DE *Luffa Opercula* Cogn. (Cucurbitaceae) FRENTE AO SARCOMA 180. . . . 40
RESUMO. 42
ABSTRACT. 43
INTRODUÇÃO. 44
METODOLOGIA. 45
RESULTADOS. 47
DISCUSSÃO. 48
CONCLUSÃO. 50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. 51
ARTIGO III: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO BRUTO DE *Luffa Operculata* Cogn. (Cucurbitaceae). 57
RESUMO. 59
ABSTRACT. 60
INTRODUÇÃO. 61
METODOLOGIA. 62
RESULTADOS. 64
DISCUSSÃO. 67
CONCLUSÃO. 68
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA. 69
CONCLUSÃO. 73
REFÊRENCIA BIBLIOGRÁFICA. 75

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Percentagem
º C	Graus Celsius
FBC	Freqüência de batimento cardíaco
CCB	Centro de Ciência Biológica
CE	Carcinoma de Ehrlich
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
DE50	Dose “efetiva” para 50% da população
DL50	Dose letal para 50% da população
DPT	Diferença do transporte mucociliar
L. operculata	*Luffa operculata*
Mg/Kg	Miligrama por quilograma
OMS	Organização Mundial da Saúde
S180	Sarcoma 180
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
UFC	Unidade Formadoras de Colônias
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
v.i.p	Via intraperitoneal
VTM	Velocidade do transporte mucociliar

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1. Frutos secos da *Luffa operculata.* 07

Figura 2. Representação de células neoplásicas. 13

Figura 3. Estruturas químicasdos compostos da vincristina, da vinblastina, vidensina e vinorelbina. 14

Artigo I

Figura 1. Curva dose-resposta da toxicidade de *Luffa operculata*. . . 37

Artigo II

Figura 1. Média dos pesos dos tumores. * P <0,05 comparado os grupos tratados com o Controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “*t*” de Student. . 51

LISTAS DE TABELAS

Artigo I

Tabela 1. Principais reações comportamentais relacionadas às doses administradas na fase preliminar da avaliação da toxicidade aguda por via intraperitoneal. 35

Tabela 2. Principais reações comportamentais relacionadas às doses administradas na fase preliminar da avaliação da toxicidade aguda por via intraperitoneal. . 36

Artigo II

Tabela 1. Atividade antibacteriana do extrato de *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações contra bactérias de origem clínica e diversa.. . . 60

Tabela 2. Teste da atividade antifúngica do extrato da *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações contra fungos de origem clínica e diversa. . 61

RESUMO

CARIBÉ, R. A. Abordagem da atividade biológica do extrato de *Luffa operculata* Cogn. (Cucurbitaceae).(Dissertação) Mestrado em Ciências Farmacêuticas -UFPE- Recife, 2008.

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana. *Luffa operculata* Cogn. é nativa da América do Sul especialmente do Brasil, podendo ser encontrada amplamente distribuída em Pernambuco, Bahia, Minas Gerais , Rio de Janeiro e Ceará. Trata-se de uma planta angiosperma e dicotiledônea da família Cucurbitaceae, popularmente conhecida como buchinina, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas. Sendo empregada na medicina popular tradicional principalmente para o tratamento de sinusite, rinite e com descongestionante nasal. O trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda, atividade farmacológica (anti-tumoral em roedores) e microbiologia do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda por via intraperitoneal com observações comportamentais para cada dose administrada. Inicialmente foram observados efeitos estimulantes seguido de efeitos depressores do Sistema Nervoso Central. A DL50 determinada por via intraperitoneal foi de 3,3 mg/kg considerada muito tóxica. Na avaliação anti-tumoral de *Luffa operculata* Cogn. frente ao Sarcoma 180, células tumorais foram implantadas em camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas sadias. Os animais divididos em grupos de seis, foram tratados com solução fisiológica 0,9%, metotrexato (10 mg/kg) e do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. nas doses de 0,3; 0,6 e 1,0 mg/kg. Os animais tratados coma maior dose do extrato obtiveram índice de inibição significativa de 61,7% quando comparado com o grupo controle. Para os animais tratados com metotrexato (10 mg/kg) a inibição foi de 95,4%. Na análise microbiológica foram realizadas avaliações das atividades antimicrobiana da *Luffa operculata* Cogn. contra espécimes bacterianas e fúngicas da origem clínica e de coleção. Os ensaios foram realizados, através do método de difusão em meio sólido, incubados em uma temperatura de 35±2º C durante 24-48 horas para espécimes bacterianas, e 28±30 durante 4-14 dias para espécies fônicas. Os resultados demonstraram que o extrato de *Lufa operculata* Cogn. apresenta a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Embora seja considerada muito tóxica a *Luffa operculata* apresentou inibição tumoral em neoplasias maligna em tumor de tecido conjuntivo com perspectivas para novas investigações em outros processos neoplásicos.

Unitermos: *Luffa operculata* Cogn., toxicidade aguda, atividade anti-tumoral, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

CARIBÉ, R. A. Boarding of the biological activity of the extract of *Luffa operculata* Cogn. (Cucurbitaceae). Dissertation in Pharmaceutical Science- UFPE- Recife, 2008.

The use of plants in the treatment and the cure of diseases is old how being the species human being. *Luffa operculata* Cogn. is native of the South América especially of Brasil, being able to be found widely distributed in Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, rio de Janeiro and Ceará. It is a plant angiosperma and dicotiledonea of the Cucurbiataceae family, populary known as buchinina, cabacinha, cabaçinha, purge-of-jalapa and purge- of natives of São Paulo. Being used in the traditional popular medicine mainly for the treatment of sinusite, rinite and as nasal laxative. The work had as objective to evaluate the acute toxicity, farmacologic activity (antitumoral in rodents) and microbiological of ethanolic rude extract of the *Luffa operculata* Cogn. Assays of acute toxicity had been carried through for saw intraperitoneal with mannering commentes for each administered dose. Initially effect had been observed stimulants followed of effect depressors of the Central Nervous System. He DL50 determined for saw intraperitoneal was of 3,3 mg/kg considered very toxic. In the antitumoral evaluation of the *Luffa operculata* Cogn. Front to Sarcoma 180, antitumorais cells had been implanted in swiss mice (*Mus musculus*) female healthy. The animals divided in groups of six, had been dealt with physiological solution 0,9%, metotrexato 10 (mg/kg) and athanolic rude extract of *Luffa operculata* Cogn. In the doses of 0,3; 0,6 and 1,0 mg/kg. The animals dealt with the biggest dose of the extract had gotten significant index of 61,7% inhibition when compared with the group controlled. For the animals dealt with metotrexato (10 mg/kg) the inhibition was of 95,4%. In the microbiological analysis evaluations of the antimicrobial activity of the the *Luffa operculata* Cogn. against bacterial and fungic specimens of the clinical origin and collection. The assays has been carried through, through the method of diffusion in half solid, incumbad in a temperature of 35±2º C during 24-48 hours for bacterial specimens, and 28-30º C during 7-14 days for fungic species. The results had demonstrated that to the extract of the *Luffa operculata* Cogn. had antimicrobial activity against tropicalis Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, candida albicans and Cnadida. Although it is considered very toxic the *Luffa operculata* presented tumoral inhibition in cancer malignant in conjuctive fabric tumors with perspectives for new inquiries in other processes of cancer.

Key words: *Luffa operculata* Cogn., acute toxicity, antitumoral activity, antimicrobiological activity.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas e produtos naturais como tratamento alternativo tem sido utilizado desde as mais antigas civilizações. As informações sobre a utilização de plantas com fins medicinais no país têm sua história ligada à cultura dos povos indígenas e dos povos africanos que foram trazidos ao Brasil, como escravos (DE ALBUQUERQUE, 2001).

O primeiro estudo sistemático de plantas medicinais foi realizado em cerca de 2700 a.C. durante o império Shennung. Aproximadamente 365 drogas foram mencionadas no Inventario de Shennung, encontra-se espécies tais como *Ephedra*, *Ricinus Communis*, além da *Papaver sominiferum*. Espécies estas que fornecem respectivamente efedrina, óleo de rícino e morfina, drogas que ainda hoje são utilizadas para fins terapêuticos (DAVID, 2002).

Vários fármacos foram descobertos a partir de plantas medicinais, e ainda são utilizados em diversos medicamentos que constitui o arsenal terapêutico atual. Podemos destacar princípios ativos de plantas utilizadas como fármacos no mundo de acordo com as indicações terapêuticas tais como: cardiotônicos (acetildigitoxina, adenosídeo, cilarenga, conualotoxina, digoxina, digitalina, digitoxina, gitalina e lanatosídeo A, B e C), antimicrobianos (andrografolídeo, berberina, hemsleiadina e norandrografolídeo), anti-hipertensivos (reseinamina, reserpina, romitoxina, tetrandrina e deserpina) e agentes utilizados para tratamento de cânceres (colchicina, demecolcina, monocrotalina, vimblastina, vincristina, vindesina e tenoposideo). Ainda se destacam vários outros ativos isolados de produtos naturais como: adenosídeo, aesculetina, atropina, bromelina, cafeína, cânfora, cocaína, codeina, cinarina, emetina, efredina, escopolamina, kavaina, morfina, papaína, papaverina, pilocarpina, podofilotoxina, quinina, quinidina, teobromina, teofilina e tubocurarina (DAVID, 2002).

Muito se deve ao desenvolvimento da química no inicio do século XX, onde também foram isolados os primeiros antibióticos e foi possível o desenvolvimento de um grande numero de novos fármacos sintéticos, produzidos pela efervescente indústria farmacêutica pos guerra. Isso ocasionou uma redução acentuada de uso de plantas medicinais, mas não deixou de ter um papel importante na historia da humanidade. Contudo, a síntese orgânica e a química combinatória não conseguiu ser a fonte única

de estruturas moleculares relevantes (SILVA, 2006). Sendo assim, os maiores laboratórios farmacêuticos possuem programas de pesquisa na área de produtos naturais (CALIXTO, 2003).

O termo planta medicinal foi oficialmente reconhecido durante a 31º Assembléia Mundial de Saúde, quando foi proposto que "planta medicinal é aquela, que administrada ao homem ou animais, por qualquer via ou sob qualquer forma, exerce alguma espécie de ação farmacológica" (DAVID, 2002).

Apesar do uso milenar de plantas medicinais, ainda é escasso o número de estudos farmacológicos toxicológicos, afim de comprovar cientificamente suas ações. Atualmente 40% dos fármacos empregados na terapêutica são provenientes de fontes naturais, sendo 25% de plantas. Este percentual aumenta ainda mais se nos restringirmos apenas aos fármacos anticancerigenos e antibióticos (SILVA, 2007).

Segundo LAPA (1995) existe maior probabilidade de encontrar um fármaco com grande valor terapêutico pelo estudo fitoterápico do que pela obtenção sintética utilizando tecnologia em química farmacêutica.

O interesse pela biodiversidade para a produção de medicamentos aumentou sensivelmente com a conclusão do genoma humano, uma vez que o número de possíveis alvos terapêuticos se elevou 500 para mais de 6 mil (CALIXTO, 2003).

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada aproximadamente em 20% do número total de espécies do planeta. Esse imenso patrimônio genético tem um valor econômico-estrategico inestimável em varias atividades, mas é no campo farmacêutico onde reside sua maior potencialidade e prosperidade (CALIXTO, 2003).

A necessidade da obtenção de novos fármacos para o tratamento de molestas, como câncer e as infecções por microorganismos multiresistentes, que tem papel de destaque na saúde pública é um dos grandes desafios do século XXI. Por outro lado, a indústria química – farmacêutica produz diversos tipos de fármacos, porém o custo desses medicamentos é cada vez mais alto. Grande parte da população do mundo permanece marginalizada e sem acesso a esses benefícios. Refletindo essa situação a Assembléia Geral da Organização Mundial de Saúde (OMS) deu início a um programa em que se dava ênfase ao uso de plantas medicinais (OLIVEIRA, 1998).

Nesse sentido, as universidades e as instituições de pesquisas não podem ignorar as plantas medicinais. Num país como o Brasil, rico em biodiversidade e pobre em

recursos financeiros talvez a maior contribuição dos cientistas seja estudar essas flora e dar-lhe validação cientifica (MIYAKE, 2005).

Muitos vegetais que apresentam princípios ativo importante para varias patologias já fazem parte do arsenal terapêutico das quais destacamos: *Cynara scolymus* L., *Schinus molle* L., *Stryphnodendron barbatimam* Mart., *Theobroma cacao* L., *Symphytum officinale* L. *Hypericum perforatum* L., *Ginkgo biloba* L., *Malva sylvestris* L., *Bauhinia forficata* Link, *Phyllanthus niruri* L. e *Rheum palmatum* L..

Vários trabalhos científicos relatam que a *Luffa operculata* Cong. pertence ao gênero, no qual foi evidenciado varias atividades farmacológicas interessantes, tais como: citotoxicidade, atividade antiinflamatória, antitumoral e antimicrobiana, como também é amplamente utilizada na medicina popular. De acordo com o exposto, faz-se necessário uma avaliação biológica deste vegetal, no que diz respeito aos seus efeitos tóxicos, atividade antimicrobiana e antitumoral, com a finalidade de contribuir para a obtenção de futuros fármacos. Além disso, reside na possibilidade deste produto fazer parte do mercado brasileiro, de maneira mais acessível à população menos favorecida.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estudos sobre a *Luffa operculata* Cogn.

2.1.1 Botânico

O gênero *Luffa* é composto por oito espécies. Conforme MIYAKE (2004) *Luffa cylindrica* Roem. diferencia-se da *Luffa operculata* Cogn., por se tratar de "esponja vegetal", cujos frutos são maiores, oblongos e cilíndricos com até 35 cm de comprimento. A *luffa cylindrica* Roem é comhecida pelo nome de bucha-dos-paulistas, fruta-dos-paulistas, bucha-dos-pescadores, esfregão pepino-bravo. Sendo usada para higiene pessoal e limpeza geral.

Luffa operculata Cogn. é nativa da América do Sul, especialmente do Brasil e cultivada comercialmente na Guatemala (CACERES, 1996). Outros sinônimos botânicos são: *Cucumis sepium* meyer, *Elaterium quinquefidum* Hook et. Arn., *Luffa drastica* Mart., *Luffa quinquefida* Seem., *Momordica bucha* Mart, *Momordica luffa* Vell, *Momordica operculata* Linn. e *Poppya operculata* Room (VASQUES, 1986). Trata-se de uma planta angiosperma e dicotiledônea da família Cucurbitaceae, amplamente distribuído em Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Ceará, entre outros estados. A família das cucurbitáceas apresenta 850 espécies, podemos citar conforme interesse: alimentício e propriedades medicinais (NASEEM, 1998).

No Brasil, *Luffa operculata* Cogn. é popularmente conhecida como buchinha, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas, entre outros nomes (SALVIANO, 1992), na América Latina sendo conhecida como esponjuelo, esponjilla, pachete, pepino de monte, zapallito de monte e cabacito (ALONSO, 2003).

LORENZI; MATOS (2002) descrevem *Luffa operculata* Cogn. como uma trepadeira herbácea, de caule muito ramificado e delgado que pode atingir 10 m de comprimentos, cujas as folhas são alternadas, codiformes, recortadas com base invaginada e pecíolo anguloso, medindo cerca de 2 a 8 cm de comprimento por 3 a 15 cm de largura. As flores são amarelas, unissexuadas com cinco pétalas medindo até 2 cm. Os frutos são oblongo-ovoides a fusiformes, medem 5 a 6 cm de diâmetro e o peso varia em torno de 1g.

Silva (1964), relata que o fruto tem deiscência, com pericarpo papiráceo, espinhoso e decacostado, envolvendo um mesocarpo fibroso, frouxo com três cavidades longitudinais contendo numerosas sementes marrom-escuras, achatadas e lisas, apresenta-se violentamente drástico (BRAGA, 1960).

Figura 1. Frutos secos da *Luffa operculata*, corte transversal (a) e longitudinal (b). No detalhe, o mesocarpo fibroso e as sementes (MIYAKE,2004).

2.1.2 Utilização Popular

Diversas espécies da *Luffa* vêm sendo estudadas com diferentes propósitos. Os frutos de *L. acutangula* Roxb e *L. aegyptiaca* Mill., apresentam interesse alimentar e na medicina popular. As sementes dessas espécies revelaram atividade antitumoral e abortiva. Os extratos de semente de *L. aegyptiaca* Mill. mostraram atividade hipoglicemiante e antifúngico, enquanto que os frutos da *L. acutangula* Roxb. apresentaram efeito hepatoprotetor (BROCK, 2003).

O fruto da *Luffa operculata* Cogn. é empregado na medicina popular tradicional principalmente como purgante, enemagogo e descongestionante nasal. Na homeopatia é utilizada para o tratamento de sinusite e rinite (BROCK, 2003).

A literatura também refere-se à utilização medicinal da buchinha no alcoolismo, febre, picada de cobra, doenças oculares, sífilis e icterícia.
Também são descritas propriedades diurética, emética, irritante, mucolítica e sudorífica, além de atuar como vermífuga, hidragoga e expectorante (MIYAKE, 2004).

2.1.3 Perfil Fitoquímico

A análise química dos frutos revelou ser constituído quimicamente por glicosídeos (açúcares redutores e não redutores), saponina e resina, além de esteróis livres, ácidos orgânicos e fenóis e com ausência de taninos. A família das cucurbitáceas desperta muito interesse, pois é bioprodutora de triterpenos com esqueletos modificados, altamente oxigenados denominados cucurbitacinas. Na resina foram encontrados: elaterina A, cucurbitacina B e D e isocucurbitacina B (MATOS, 1979).

MIYAKE (2004), descreve os componentes presentes na *Luffa operculata* como: buchinina (princípio amargo), luffanino e buchina (alcalóides), saponinas, luperosídeos A-H (presentes nas partes aéreas da planta), metacarboxi-fenilalanina, elaterina e citrulina (encontrada nas sementes). A aglicona da saponina foi reconhecida como a gipsogenina (VASQUES, 1986).

As cucurbitacinas isoladas do gênero *Luffa* exerce várias atividades farmacológicas: citotóxica, antiinflamatória, antitumoral, antimicrobiana e entre outras (EDERY, 1961).

2.1.4 Perfil Farmacológico

Nos estudos de Champney e colaboradores (1974) o extrato da *Luffa operculata* não apresentou atividade significante antiinflamatória, analgésica e nem tampouco ações sobre os níveis pressóricos. Entretanto foi supreendente a ação da droga no coração de sapos, porcos e no duodeno de coelhos (BARROS, 1983).

Gitter e colaboradores demonstraram que três curcubitacinas: a elaterina A, a elaterina B e a elaterina, possuem atividade inibitória no crescimento do Sarcoma 180, Sarcoma Black e do Carcinoma Ascítico de Ehrlich (SALVIANO, 1992).

Kawara e colaboradores (2001) obtiveram do extrato da *Luffa operculata* duas cucurbitacinas designadas neocucurbitacina A e B, apresentado atividade inibitória em polyoma melhorando a ligação da proteína 2αA (PEBP 2αA) e inibindo o fator de osteoclastogeneses (OCIF), gene expresso em osteoblastos humanos, respectivamente. A estrutura de duas novas cucurbitacinas designadas opercurina A e B, foram isoladas do fruto da *Luffa operculata*, por extensiva investigação espectroscópica (KAWAHARA, 2004).

O estudo da atividade antiviral de um composto homeopático contendo *Luffa operculata*, *Euphorbium resinifera* e *Pulsatille pratensis*, usado para o tratamento de processos virais, descrevem que apenas os dois últimos componentes apresentaram atividade antiviral (GLATTHAAR-SAALMULLER, 2001).

Nos resultados obtidos através de estudos “in vitro” e “in vivo” foi sugestiva a ação do extrato da *Luffa operculata* por mecanismos diretos e indiretos colinérgicos e também histaminérgicos. Essas ações concomitantes em relação ao seu uso no tratamento de sinusite podem provocar uma vasodilatação dos capilares da mucosa, que associada ao aumento da velocidade do movimento ciliar aceleriam a expulsão do exsudato inflamatório (SILVA, 1983). Porém, estudos farmacológicos preliminares com a *Luffa operculata*, mostraram que ela não tem atividade parassimpatomimética e nem bloqueadora do sistema nervoso simpático (SNS), pois não houve bloqueio da atropina e da adrenalina respectivamente, indicando que o seu mecanismo de ação é diretamente no sistema contrátil do músculo e que sua resposta hipotensora ocorre devido a vasodilatação periférica (AGUIAR, 1985).

Segundo SALVIANO (1992) o estudo do tratamento da sinusite com preparação contendo *Luffa operculata* e solução fisiológica indicou que essa associação mostrou-se útil e a tolerância ao medicamento foi satisfatória. Contudo, WIESENAUER (1989) realizou um estudo randomizado duplo-cego da eficiência de combinações de drogas homeopáticas para o tratamento da sinusite das quais continham *Luffa operculata*. Nestes estudo foi constatado que não houve diferença entre a combinação de drogas homeopáticas e o placebo.

MIYAKE (2004), demonstrou com modelo ex vivo do palato isolado de rã, que a infusão da *Luffa operculata* ocasionou alterações significativas na velocidade de transporte mucociliar (VTM), na freqüência do batimento ciliar (FBC) e na diferença de

potencial transepitelial (DPT). Estas alterações foram dose-dependentes e se desenvolveu depois de curto período de exposição na dose orientada pelos raizeiros.

2.1.5 Toxicológico

VASQUES (1985), realizou teste de toxicologia para o extrato de *Luffa operculata* que demonstrou que a dose tóxica para o homem, extrapolado da DL_{50} com utilização de animais (camundongos) corresponde a 75 mg/Kg. Todavia, MATOS (2002) refere-se que a DL_{50} para ratos é de 170 mg/Kg , e CHAMPNEY (1974) informam que a DL_{50} foi aproximadamente 160 mg/Kg do extrato de *Luffa operculata* à 4%, em roedores.

2.2 Toxicidade

A toxicidade de uma substância em um organismo vivo pode ser considerada como a capacidade de causar dano grave ou morte. A relação entre a intensidade do efeito, a concentração e o tempo de exposição, depende da idade e das condições de saúde do indivíduo ou organismo em risco (OGA, 2003).

A avaliação da relação entre a dose e efeito ou dose e resposta é de extrema importância. Doses graduais de uma droga administrada em um individuo, geralmente resultam em maior intensidade da resposta. A porcentagem da população afetada aumenta á medida que se eleva a posologia, este fenômeno entre dose e efeito é importante para a determinação da dose letal média (DL_{50}) de drogas e outros produtos (GILMAN,1996).

O teste de DL_{50} foi inicialmente introduzido em 1927 por Trevan para avaliar substancias que seriam utilizadas por seres humanos como a digitallis e a insulina (VALDEREZ, 2006).

A DL_{50} é a dose letal para 50% da população e DE_{50} é a “dose eficaz” em 50%, a relação entre DL_{50} e DE_{50}, exprime o índice terapêutico (RANG, 2003).

Segundo Olga (2003), a toxicidade aguda é definida como os efeitos adversos que ocorrem dentro de um período curto após a administração de uma única dose ou doses múltiplas dentro de 24 horas. Contudo, os estudos de toxicidade subcrônica são

realizados para a obtenção de informações sobre a toxicidade das substâncias, após exposições repetidas, num período de no mínimo 21 dias. Os ensaios de toxicidade crônica, os quais são realizados para se determinar efeitos tóxicos após exposição prolongada com doses cumulativas da substância em teste, varia acima de 3 meses até 2 anos, permitindo também avaliar o potencial carcinogênico da substância testada.

A avaliação da toxicidade é realizada com o objetivo de determinar o potencial de substâncias ou produtos que possam causar danos à saúde humana. Testes que avaliam a toxicidade sistêmica aguda são utilizados para classificar substâncias de acordo conforme com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação. Nestes estudos, outros parâmetros são avaliados para identificar o potencial tóxico em órgãos específicos, a toxicocinética e a relação dose-resposta. Outras informações podem ser obtidas tais como: indicativos sobre o mecanismo de ação tóxica, diagnóstico e tratamento das reações adversas, bem como informações para a comparação de toxicidade entre substâncias da mesma classe (VALADARES, 2006).

2.2.1 Estudos toxicológicos de plantas

O surgimento do conceito "natural" em muito contribuem para o aumento do uso das plantas medicinais nas últimas décadas. Para muitas pessoas esse conceito significa a "ausência de produtos químicos", que são aqueles que podem causar algum dano ou, de outra forma, representa perigo. O desconhecimento por parte da população sobre os efeitos secundários e a toxicidade de espécies utilizadas habitualmente pode levar a conseqüências graves (OLIVEIRA, 2006).

Na atualidade a farmacologia e a toxicologia têm chamado a atenção para comprovação das possíveis propriedades terapêuticas, além da investigação dos constituintes tóxicos (SILVA,2006).

Existe um número cada vez maior de estudos científicos que comprovam a toxicidade de plantas antes usadas sem restrições e de forma indiscriminada. Podemos citar: a kava-kava (*Piber methysticum* G. Forst, Piperaceae), o confrel (*Symphytum officinale* L. Boraginaceae), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), arnica (*Arnica montana* L., Asteraceae), carambola (*Avehrroa carambola* L., Oxalidaceae), Boldo do chile *(Peumus boldus* Molina, Monimiaceae), digitalis (*Digitalis* ssp, Escrofulariaceae),

Ginkgo (*Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae), boldos brasileiros (*Plectranthus barbatus* Andr e *P.ornatus* Codd, Lamiaceae; *Vernonia condensata* L., Asteraceae) e entre outras (OLIVEIRA, 2006).

Apesar de existir uma crença popular de que produtos naturais não possuem nenhum tipo de toxicidade, sabemos que não existe tal segurança na utilização destes produtos, por isso se faz necessário à avaliação da toxicidade de seus efeitos tóxicos (SILVA, 2007).

2.3 Câncer

2.3.1 Carcinogênese

Segundo RANG (2003) o câncer é uma doença caracterizada pela multiplicação e propagação descontroladas no corpo de formas anômalas das próprias células. Uma célula normal transforma-se em células cancerosas em decorrência de uma ou mais mutações do DNA, que pode-ser congênita ou adquirida. As duas principais características de alterações genéticas que levam ao desenvolvimento do câncer são: ativação de proto-oncogênese em oncogênese e a inativação dos genes supressores tumorais.

Os agentes ou fatores etiológicos dos tumores malignos existem em quantidades maior que 1.500, todos agrupados em ordens: físicos, químicos e biológicos (RAMOS, 1984).

Com base em estudos experimentais realizados em roedores a carcinogênese consiste em um processo de múltiplas etapas, que tem sido tradicionalmente divididos em três estágios: iniciação, promoção e progressão (HARRIS, 1991).

As células cancerosas manisfestam-se em graus variáveis, com quatro características que as distingue das células normais: proliferação descontrolada, perda da diferenciação e da função, poder de invasão e metástases (GILMAN, 1996).

O crescimento do tumor maligno é o resultado do desequilíbrio entre a capacidade de proliferação de suas células e a reação do organismo para detê-lo. Por último, existe também um processo de autolimitação ao crescimento neoplásico originado em desproporção entre o desenvolvimento celular e o desenvolvimento do

mesênquima de suporte - vasos e tecidos conectivos - que é responsável pela necrose e detenção da função reprodutora das zonas menos vascularizadas do tumor (ROSSEL, 1984).

Carcinomas são denominados como as neoplasias malignas que se originam de células epiteliais, derivadas de qualquer uma das três camadas germinativas (CONTRAN, 2000). O carcinoma de Ehrlich, por ser um dos primeiros tumores transplantáveis conhecido, é um dos mais extensamente utilizados para experimentação (SILVA, 2007).

O termo sarcoma deriva do grego *sar* que significa carnoso, refere-se a neoplasias malignas do tecido mesênquimal (CONTRAN, 2000). O Sarcoma 180, é um tumor neoplásico com critério de malignidade, cujas ás células são de fácil obtenção, sendo utilizadas em vários centros de pesquisa e, após a inoculação o tumor desenvolve-se em 90 a 100% dos casos (SILVA, 2007).

Figura 2. Representação de células neoplásicas.

A figura 2 demonstra os estágios do desenvolvimento de células neoplásicas no organismo. Os principais agentes antineoplásicos podem ser classificados nas seguintes categorias gerais: agentes citotóxicos (agentes alquilantes e compostos correlatos, agentes antimetábolitos, antibióticos citotóxicos, derivados vegetais), hormônios e agentes diversos que não se enquadram nas categorias anteriores. A maioria dos agentes antineoplásicos utilizados são agentes antiproliferativos e não exercem nenhum efeito inibitório específico sobre o poder de invasão, a perda de diferenciação ou a tendência a promover a metástase. Além disso, uma grande parte destes, provoca efeitos colaterais

que são considerados um obstáculo para a aderência do paciente ao tratamento (RANG, 2003).

2.3.2 Epidemiologia

A tendência mundial é o aumento do número de casos de câncer, pois se trata de uma doença que acomete principalmente os grupos etários mais avançados, e com os progressos na saúde pública e na ciência médica um maior número de pessoas atinge a idade em que se tornam vulneráveis a desenvolver câncer. No Brasil a trajetória é a mesma, adiciona-se aqui os já conhecidos problemas sociais, sanitários e a heterogeneidade das várias regiões territoriais (RANG, 2003).

As neoplasias malignas situam-se entre as principais causas de mortalidade, correspondendo a segunda causa de morte natural. De acordo com os dados de registros de câncer no Brasil, os tumores mais freqüentes no país são: próstata, pulmão, estômago, colón e reto e esôfago na população masculina. Em mulheres predomina o câncer de mama, seguido dos cânceres de colo uterino, cólon e reto, pulmão e estômago (GUERRA, 2005).

2.3.3 Fármacos oriundos de plantas utilizados na Quimioterapia

Vários fármacos antineoplásicos têm origem primária de extratos de plantas que contribuem de maneira significativa para o tratamento do câncer. O fracionamento do extrato da planta pervinca (*Vinca rōsea* Linn.) forneceu quatro alcalóides dímericos: vimblastina, vincristina, vindesina e vinorelbina. Esses alcalóides são classificados como agentes antimitóticos, pois atuam no ciclo celular possuindo a capacidade de ligar-se a tubulina e de bloquear a capacidade da proteína de polimerizar-se em microtubulos interrompendo a divisão celular na metáfase (BARACAT, 2000).

Os alcalóides da Vinca são muitos semelhantes quimicamente. As estruturas da vincristina, vinoblastina e vindensina são compostos dímericos assimétricos.

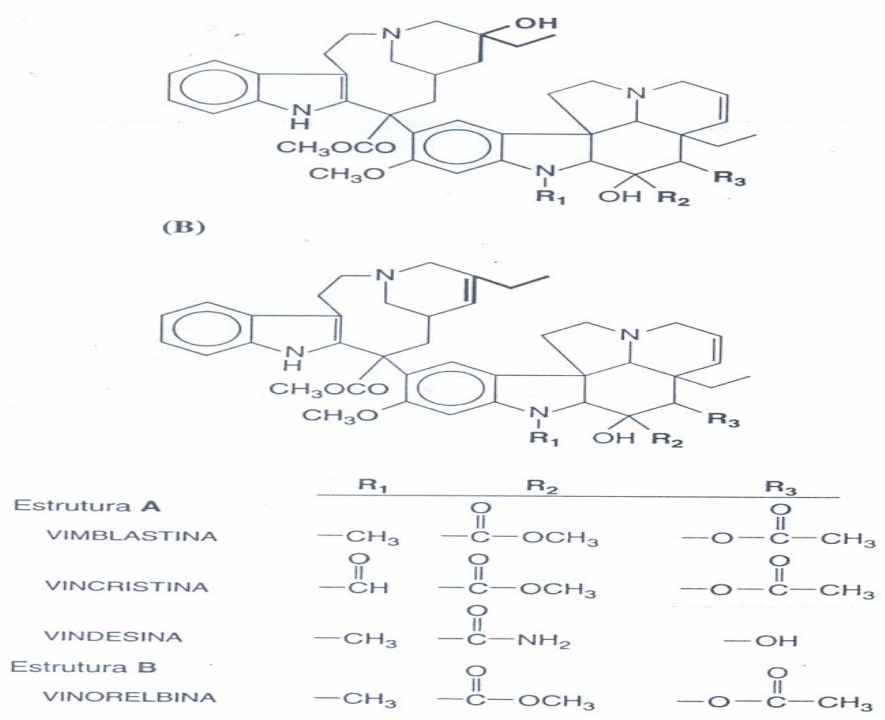

Figura 3. Estruturas químicas dos compostos da vincristina, da vinblastina, vidensina e vinorelbina (GILMAN, 2003).

O agente antimitótico placlitaxel é também derivado inicialmente da casca do eixo ocidental (*Taxus brevifolia* Nutt.), diferenciando dos alcalóides da pervinca por atuar inibindo a despolimerização dos microtúbulos, bloqueando o prosseguimento do ciclo celular. Outro exemplo, é o alcalóide podofilotoxina extraído da planta mandragóra (*Podophyllum peltatum* L.), que deriva dois glicosídeos semi-sintético denominados etoposide e teniposida, que possuem atividade terapêutica em tumores do pulmão, tumores dos testículos e linfomas (BARACAT, 2000).

2.4 Resistência Bacteriana

A resistência bacteriana aumentou consideravelmente devido ao uso amplo e indiscriminado de antibióticos em todo o mundo. Tal fenômeno resultou nos hospitais o surgimento dos germes multiresistentes, mas também foi notado em bactérias na comunidade, pela pressão seletiva determinada pelo uso clínico de antimicrobianos, tanto humano como veterinário, pelo seu uso comercial para engorda de animais e no seu uso industrial como conservantes de alimentos. Estima-se que nos anos 80 cerca

45% de todo antibiótico vendido nos EUA era destinado para uso veterinário (GOMES, 2001).

Quatro processos contribuem para o acúmulo da resistência: primeiro, espécies com resistência intrínseca são favorecidas; segundo, mutantes resistentes de linhagens previamente sensíveis são selecionados; terceiro, genes de resistência transferíveis disseminam entre os isolados bacterianos, carreados por plasmídios, transposons e integrons; e, por último, algumas linhagens resistentes propagam-se de modo epidêmico entre pacientes, hospitais e países. A importância relativa destes processos varia com o patógeno e com o local (LUIZ, 2006).

Mesmo bactérias muito tempo permaneceram susceptíveis às drogas usualmente empregadas para o tratamento de doenças por elas causadas, paulatinamente apresentam mudanças (GOMES, 2001). Vários são os mecanismos de resistência às drogas que podemos citar: alteração no sitio de ligação, inativação ou destruição enzimática e diminuição da entrada ou aumento da retirada da droga (GILMAN, 1996).

A resistência bacteriana pode ser definida como a concentração inibitória mínima (CIM) para um determinado antibiótico acima da usualmente determinada por laboratórios de referência, mas é importante lembrar que os resultados dos testes de resistência são relativos e não absolutos. No caso de tolerância as bactérias apresentam bacteriostase na presença do antimicrobiano, porém não acorre bacteriólise (GOMES, 2001).

A facilidade de obtenção dessa classe farmacológica para o uso incorreto também é um desafio para as autoridades sanitárias de diversos países (FERNANDES, 2000).

Ehrlich e seus colaboradores Franke e Roehl , em 1905, descobriram o fenômeno da resistência às drogas, ao observarem que em culturas de tripanossomas africanos tratados com arsênico ou com determinados corantes havia a sobrevivência de alguns exemplares da mesma população microbiana. Estes autores descreveram que infecções por tripanossomas tratadas com doses baixas de arsenicais recaíam e relataram que um novo tratamento falhava porque os tripanossomas haviam desenvolvido resistência às drogas e que esta resistência passava a ser hereditária. O advento do uso clínico de sulfonamidas, em 1933, e, em seguida, da penicilina, em 1941, levou à constatação de que a resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos

podia ser uma característica natural das espécies de bactérias ou ser adquirida por cepas individuais dentro de uma população sensível (TAVARES, 2000).

No início início dos anos 70, infecções nosocomiais por *A. baumannii* eram tratadas com sucesso com gentamicina, minociclina, ácido nalidíxico, ampicilina, ou carbenicilina, tanto sozinhos quanto combinados, mas taxas de resistência em elevação começaram a ser divulgadas entre 1971 e 1974. Desde 1975, surtos sucessivos têm demonstrado o aumento da resistência em isolados clínicos de espécies de *Acinetobacter*. Uma elevada proporção de isolados tornou-se resistente a antimicrobianos antigos; de fato, muitos *Acinetobacter* são resistentes aos níveis clínicos da maioria dos antimicrobianos utilizados, incluindo aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de pequeno espectro e amplo espectro, cefamicinas, a maioria dos aminoglicosídeos, cloranfenicol, e tetraciclinas. Para alguns antimicrobianos relativamente novos, tais como cefalosporinas de amplo espectro (quarta geração), imipenem, tobramicina, amicacina e fluoroquinolonas, permanecem relativamente sensíveis, mas a CIM destes antimicrobianos tem aumentado substancialmente na última década (LUIS, 2004).

No Brasil, na atualidade, os estafilococos, tanto o *S. aureus* como o *S. epidermidis*, mostram-se resistentes à penicilina G, ampicilina e amoxicilina em mais de 70% das cepas isoladas, seja em ambiente hospitalar ou na comunidade, não sendo mais indicado o uso destes antimicrobianos para o tratamento de infecções estafilocócicas, mesmo que benignas e mesmo que procedam do ambiente extra-hospitalar. Além disto, estes germes vêm mostrando elevado índice de resistência à meticilina (portanto, também à oxacilina e cefalosporinas) no meio hospitalar no Brasil, repetindo-se o observado em outros países (TAVARES, 2000).

No âmbito da saúde pública esse fenômeno é desastroso, pois esses microrganismos multiresistentes não respondem de maneira satisfatória a antibioticoterapia disponível no mercado (CARIBÉ, 2006). Por esse fato, é necessária a educação continuada dos profissionais da saúde para a prescrição e dispensação dos antimicrobianos e a educação da população sobre a sua utilidade, como também priorizar as medidas para controlar o seu uso mediante prescrição médica, assegurar a qualidade dos produtos comercializados e reduzir o seu uso na produção de alimento animal.

2.4.2 Agentes Antimicrobianos

O advento dos antibióticos permitiu o controle e cura das doenças infecciosas, mudando a evolução natural dessas doenças de forma marcante (MOREIRA, 2004).

Na atualidade os agentes antimicrobianos, do ponto de vista numérico, representam um dos primeiros lugares no receituário geral. Muitas vezes, a prescrição de antibióticos é abusiva, podendo-se afirmar que, na maioria dos casos, são indicados sem necessidade ou com imprecisão (NETO, 1985).

Os antimicrobianos constituem uma categoria única de medicamentos, pois afetam não somente o paciente que faz uso, mas também, de maneira mais ampla, o ambiente microbiológico, interferindo com a flora de outros pacientes e das pessoas que direta ou indiretamente entram em contato (GOMES, 2001). São classificados de acordo segundo o mecanismo de ação: antimicrobianos que atuam na parede celular, antimicrobianos que afetam a síntese ou a ação do folato, antimicrobianos que afetam a síntese protéica, antimicrobianos que afetam a síntese de DNA e antimicrobianos citotóxicos ou que afetam atividade enzimática (MOREIRA, 2004).

2.4.3. Atividade antimicrobiana utilizando plantas medicinais.

Tendo em vista que bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam um desafio no tratamento de infecções, é notória a necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas para serem utilizadas no combate a esses microrganismos (PEREIRA, 2004). Nesse sentido vários estudos foram realizados, afim de verificar a atividade antimicrobiana de diversas plantas medicinais.

Nascimento (2004), realizou uma avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais e fitofármacos frente a microrganismos sensíveis e resistentes a antibióticos, bem como observado o possível efeito sinérgico da associação entre antibióticos e extratos vegetais. Nesse estudo foram utilizados 10 extratos de plantas e ainda os fitofármacos, ácido benzóico, ácido cinâmico, eugenol e farnesol. Na avaliação detectou-se que o maior potencial antimicrobiano foi verificado para os extratos de cravo e jambolão que inibiram, respectivamente, 64,2 e 57,1% dos microrganismos,

inclusive com maior atividade sobre os microrganismos resistentes a antibióticos (83,3%). Associação de antibióticos e extratos vegetais ou fitofármacos, sobre bactérias resistentes a antibióticos, mostrou que em alguns casos ocorreu sinergismo, possibilitando que antibióticos já ineficazes apresentassem ação sobre estas bactérias.

A maioria dos óleos essenciais obtidos a partir das partes aéreas de *Mentha piperita*, *M. spicata*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *O. applii*, *Aloysia triphylla*, *Ocimum gratissimum* e *O. basilicum* foram efetivos contra *Enterococcus faecium* e *Salmonella cholerasuis*. *A.triphylla* e *O. basilicum* apresentaram inibição moderada contra *Staphylococcus aureus* enquanto apenas *A. tryphila* e *M. piperita* foram capazes de inibir a levedura *Candida albicans* (SARTORATTO, 2004).

Pereira (2004), realizou um estudo utilizando óleos essenciais de ervas medicinais frente a 100 cepas de bactérias isoladas de indivíduos da comunidade com diagnóstico de infecção urinária, constatou que a *Salvia officinalis*, L. apresentou eficácia de 100% quando testadas em espécies de *Klebsiella* e *Enterobacter*, 96% contra em *Escherichia coli*, 83% contra *Proteus mirabilis* e 75% contra *Morganella morganii.*

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a ação toxicológica e biológica (microbiológica e farmacológica) do extrato de *Luffa operculata* Cogn.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Obtenção do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn.;
- Investigar a toxicidade aguda do extrato de *Luffa operculata* Cogn. (DL_{50});
- Determinar a ação antimicrobiana e antifúngica do extrato de *Luffa operculata* Cogn.;
- Avaliar a ação antineoplásica do extrato de *Luffa operculata* Cogn. em Sarcoma 180.

4. ARTIGO I

Artigo a ser submetido ao *Journal of Ethnopharmacology*

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DA DL $_{50}$ DO EXTRATO BRUTO DE *Luffa Operculata* Cogn. (Cucurbitaceae)

R. A Caribé[1]*, C. M. P. Lima[1], A. C. P. Silva[2], I. V. G. A. Bastos[1], I. A. Souza[2].

[1] Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Desembargador Virgilio de Sá Pereira, nº 544, apto- 703, CEP 50721-040, Cordeiro, Recife-PE.

[2] Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, PE. Av. Prof. Moraes Rego, s/n CEP, Recife – PE, Brasil.

* Contato com o autor: (81) 3445-7715 (81) 9966-9997

E-mail: rebekaaalves@hotmail.com

RESUMO

O extrato bruto etanólico de *Luffa Operculata* Cogn., da família Cucurbitaceae, foi utilizada para avaliação da toxicidade aguda e pela determinação da dose letal 50% (LD_{50}), com camundongos albinos fêmeas Swiss (*Mus Muscullus*). Os animais foram divididos em grupos (n=6/grupo), e a toxicidade foi avaliada em duas etapas: preliminar e definitiva, pelo método de Karber e Behrens (1964). Nossos resultados demonstraram por via intraperitoneal os seguintes efeitos: agitação, movimentos estereotipados, circulantes e de vibrissas, piloereção, reação de fuga, irritabilidade, exoftalmia, aumento da freqüência cardiorespiratória, tremores grosseiros, contorções abdominais e convulsões. O extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. administrado por via intraperitoneal em animais apresentou efeitos tônicos acentuados com reação estimulante seguida de posterior depressão do Sistema Nervoso Central. A DL_{50} de 3,3 mg/ kg de peso corpóreo.

Palavras-chaves: *Luffa operculata* Cogn.; Cucurbitaceae; toxicidade aguda; determinação da DL_{50}.

ABSTRACT

The rude extract of *Luffa Operculata* Cogn., of the Cucurbitaceae family, was used for evaluation of the acute toxicidade and for the determination of lethal dose 50% (DL_{50}), with female albinic mice Swiss (*Mus Muscullus*). The animals had been divided in groups (n=6/grupo), and the toxicity was evaluated in two stages: preliminary and definitive, for the method of Karber and Behrens (1964). Our results had demonstrated for saw intraperitoneal the following effect: stereotypy, circulating agitation, piloerection, reaction of escape, irritability, increase heart rate , tremors and convulsions. The rude extract of *Luffa operculata* Cogn. managed for it saw intraperitoneal in animals presented tonic effect accented with reaction followed stimulant of posterior depression of the Central Nervous System. The DL_{50} was of 3,3 mg/kg of corporeal weight.

Keys words: *Luffa operculata* Cogn. ; Cucurbitaceae; acute toxicidade; determination of DL_{50}.

INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização as plantas medicinais têm sido bastante utilizadas pelo homem. Atualmente é possível tratar várias enfermidades por meio deste recurso natural. Nos países do terceiro mundo, principalmente devido às condições sócio-econômicas vigentes, as classes mais humildes procuram alternativas terapêuticas mais baratas e acessíveis, como por exemplo, as ervas medicinais (OLIVEIRA, 2005).

Existe um número crescente de estudos científicos que comprovam a toxicidade de plantas antes usadas sem restrições e de forma indiscriminada (OLIVEIRA, 2006). A avaliação da toxicidade é realizada para determinar o potencial de substâncias e produtos de causar danos a saúde humana (VALADARES, 2006).

Luffa operculata Cogn., é nativa da América do Sul, especialmente do Brasil e cultivada comercialmente na Guatemala (CARCERES, 1996). Sendo popularmente conhecida como: buchinha, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas, entre outros nomes (SALVIANO, 1992).

O fruto da *Luffa operculata* Cogn. é utilizado popularmente como purgante, emenogogo e descongestionante nasal. Na homeopatia, é utilizado para o tratamento de sinusite e rinite (BROCK, 2003). Também foram descritas propriedades diuréticas, eméticas, irritante, mucolítica e sudorífica, além de atuar como vermífuga e expectorante (MIYAKE, 2004). A análise química dos frutos revelou ser constituído quimicamente por glicosídeos, saponina e resina, além de esteróis livres, ácidos orgânicos e fenóis. A família das cucurbitáceas desperta muito interesse, pois é bioprodutora de triterpenos com esqueletos modificados, altamente oxigenados denominados cucurbitacinas.

A determinação da toxicidade aguda de uma substância é extremamente importante, principalmente considerando seu uso indevido pela população. Com o objetivo de esclarecer os efeitos farmacológicos deste vegetal, investigamos a toxicidade aguda, bem como caracterizamos a relação dose/resposta que conduz ao cálculo da DL_{50} do extrato etanólico bruto de *Luffa operculata* Cogn., via intraperitoneal em camundongos.

METODOLOGIA

Material Botânico

Os frutos de *Luffa operculata* Cogn. foram coletados na cidade de Caruaru – Pernambuco. A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário do IPA- Dárdano de Andrade Lima, sob o nº 81079. O material botânico utilizado foi constituído pelo pó dos frutos da *Luffa operculata* Cogn. sob a forma de extrato etanólico obtido após maceração, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida para eliminação do solvente orgânico.

Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss, fêmeas (*Mus muscullus*), adultos, com 25 e 35 g de pesos corpóreo, oriundos do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em temperatura de 22 ± 2º C e condições controladas de iluminação (ciclo de 12 horas claro/escuro), receberam água *ad libitum*. O protocolo

experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE, processo nº 6499/2007-65.

Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL_{50}.

Os animais foram divididos em grupos (n=6/fêmeas), os quais foram privados de ração, receberam água ad libitum durante 12 horas antes dos ensaios. A investigação da toxicidade aguda foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Karber e Behrens (1964). O ensaio foi dividido em duas etapas: preliminar e definitiva. Na fase preliminar, foram administradas por via intraperitoneal doses do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. em concentrações decrescentes seguindo uma progressão geométrica de razão 2. Nesta etapa se determinou qual a maior dose que não causava morte (D1) e a menor dose capaz de provocar morte em 100% dos animais do grupo. De acordo com os dados obtidos foi iniciada a fase definitiva, na qual foram administradas doses decrescentes entre D1 e D2, com a finalidade de determinar a DL_{50}. A administração do extrato foi intraperitoneal e os animais ficaram sob observação durante 48 horas. Os parâmetros observados foram: sinais tóxicos de caráter geral, efeitos sobre a deambulação, reações comportamentais, alterações da freqüência respiratório e número de óbitos. O grupo controle recebeu soro fisiológico 0,9% utilizado na dissolução do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn..Todos os animais foram observados para se verificar os efeitos apresentados para cada concentração do extrato.

RESULTADOS

Durante a realização do ensaio de toxicidade aguda por via intraperitoneal foram observados e registrados a quantidade de óbitos em cada grupo durante a fase preliminar com a finalidade de obter a maior dose que não apresentou letalidade (D1) e a menor dose que apresentou 100% de letalidade (D2). As reações comportamentais relacionadas às doses administradas do extrato de *Luffa perculata* Cogn. estão descritas na tabela 1, onde se encontrou a D_1 de 5 mg/Kg e a D_2 de 15,62 mg/Kg.

Na tabela 2 foram observados sinais de toxicidade na fase definitiva após 30 minutos da administração, reações com características estimulantes tais como; agitação, movimentos circulares, reações de fuga, tremores grosseiros, movimento de vibrissias e taquicardia.

Em seguida os animais passaram a apresentar reações com características depressores como: ambulação diminuída, flacidez muscular e analgesia (diminuição dos reflexos). Outros efeitos observados foram; contorções abdominais, tônus da musculatura abdominal, espasmos e irritação da conjuntiva.

Ao término desta etapa, procedeu-se a fase definitiva cujo objetivo foi obter a relação e concentrações das doses, nº de óbitos e curva dose-resposta representada na figura 1. A DL_{50} determinada por via intraperitoneal foi de 3,3 mg/Kg do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. por peso corpóreo.

4. DISCUSSÃO

Uma estreita relação entre o homem e as plantas consideradas curativas sempre existiu em todas as fases de desenvolvimento das várias civilizações. Provavelmente a tendência a utilizar plantas para o tratamento dos seus males é inata no homem (GOTTLIEB, 1993).

Os produtos fitoterápicos são erroneamente considerados seguros porque são de origem natural (GESLER, 1992). Porém vários produtos naturais contêm princípios ativos capazes de causar efeitos adversos (BENT KO, 2004).

A determinação da DL_{50} é uma informação fundamental para se esclarecer a toxicidade de uma substância, bem como para estabelecer em conjunto com a DE_{50} o índice terapêutico (RANG, 2000). Todo produto natural usado em terapêutico deveria ser submetido a testes de eficácia e segurança (TALALAY, 2001).

O fruto de *Luffa operculata* Cogn. apresenta sabor caústico, tendo como principio ativo para o amargor a buchinina. O contato com o extrato do fruto por via intraperitoneal levou os animais ao comportamento excitatório como: agitação, movimentos estereotipados, vibríssias e taquicardia que denota sinais clínicos e alterações cardiovasculares. Na primeira fase, houve um aumento da excreção fecal sugestivo de manifestação autonômica como ansiolítca. Este efeito purgativo da cabacinha deve-se principalmente a ação dos glicosideos das curcubitacinas sobre a mucosa, sendo provavelmente intensificada pela presença de saponina (SALVIANO, 1992).

Após esta fase, os animais passaram do comportamento excitatório para o depressivo expressado por apnéia e prostação. Em doses mais elevadas observamos

contorções abdominais seguida de convulsões e óbito rapidamente. Melo et al. (2007) afirmam que as saponinas formam complexos com os fosfolipideos das membranas das células da mucosa intestinal causando uma irritação da referida mucosa. Dessa forma, o aumento das contorções abdominais foram diretamente relacionadas com o aumento das doses administradas.

Segundo Silva (1983), um efeito colinérgico foi observado no movimento ciliar em esôfagos de sapos, sugerindo forte envolvimento de mecanismos direto ou indiretos colinergicos e histaminergicos nas ações do extrato da cabacinha.

Estudos realizados por Champeney (1974) sobre a toxicidade aguda em ratos foi detectada a DL_{50} no valor de 160 mg/Kg do extrato de Luffa operculata Cogn. 4 %em ratos, diferindo dos resultados encontrados em nosso estudo principalmente pelo fato do extrato utilizado a ebulição, sugerindo que o principal ativo responsável pela toxicidade seja termolabel.

CONCLUSÃO

O estudo da toxicidade aguda apresentou uma DL_{50} de 3,3 mg/Kg de peso corpóreo por via intraperitoneal sendo considerada de acordo com a escala de Schuartsman (1980) como extremamente tóxica. Devido ao amplo uso da *Luffa operculata* Cogn. pela população com fins terapêuticos alertamos quanto a utilização indiscriminada devido ao alto potencial tóxico descrito neste estudo. Recomenda-se estudos mais avançados com o objetivo de averiguar de forma ampla sua atuação em diversos sistemas fisiológicos, bem como propor a elucidação do seu mecanismo de ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. R. **Plantas Medicinais Brasileiras**: Conhecimentos populares e Cientificos. Hermus, 1993. p.70-71

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina**:bases clinicas y farmacológicas. 2. ed. Buenos Aires: Isis Ediciones SRL, 2004.

BARROS, S.B.; DAVINO, S.C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S. ***Fundamentos da toxicologia***, 2 ed., São Paulo: Atheneu Editora, p.59-63, 2003.

BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. **The American Journal of Medicine**. n. 116, 478–485, 2004.

BROCK, A. C. et al. Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquimica de frutos e sementes de Luffa operculata (L) Cogn. Curcubitaceae.**Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 31-37, jan-jul. 2004.

BRODY, M. et al. **Farmacologia Humana** - da molecular à clínica. 2. Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1991.

CACERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. Guatemala: Universitária, Universidade e San Carlos de Guatemala, 1996, p. 165-166.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CHAMPNEY, R. et al. Select pharmacological studies of *Luffa operculata*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 6, 1974, p. 942-943.

CORRÊA, M. P. **Diccionário das plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa nacional, v. 1, 1926, p. 335.

DALE, M. M.; RANG, H. P.; RITTER, J. M. **Farmacologia**, 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 12-15.

DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Plantas Medicinais. Fármacos derivados de Plantas. In: SILVA, P., **Farmacologia**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2002, p. 134-145.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M. et al. Medical and magic plants a public market in northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 1, p. 76-91, 2007.

DO NASCIMENTO, J. E. et al. Medicinal plants products traded in Pernambuco – Northeastern Brazil, **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 113-122, 2005.

DE OLIVEIRA, G. F. ET. AL Antimicrobial Activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. **Braz. J. Microbiolo.** v. 38, n. 2, abr/jun. 2007.

EDERY, H. et AL. S. Arch. Int. Pharmacodyn. **Therapy**. v. 130, p. 315-335, 1961.

GILMAN, A. G. et al. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 9º Ed. Rio de Janeiro, 1996.

GLATTHAAR-SAAMULLER, B.; FALLIER-BECKER, P. antiviral action of Euforbium compsitum and its components. Försh. **Komplementärmed Klass Naturheilkd**, v. 8, n. 4, p. 207-212, 2001.

GOTTILIEB, O. R., KAPLAN, M. A. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. **Ciência hoje**. v. 15, p. 686-691, 1995.

KAWAHARA, N. et al. Two new cucurbitacin glucosides, opercurins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 8, p. 1018-1020, 2004.

KABER G.; BEHRENS B. **Estatistical Methods in Biologic.** London: Griffin Ch. and C., 1964.

KAWAHARA, N. et al. Two novel cucurbitacins, neocucurbitacins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2A and

OCIF gene expression in a human osteoblast-like Saos- 2 cell line. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 10, p. 1377 -1379, 2001.

KLOSS, P. On the bitter substance from *Luffa operculata* Cong. **Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft**, v. 299, n. 4, p. 351-355, 1966.

LAPA, A. J. A importância da farmacologia tradicional e novas descobertas no estudo das plantas medicinais, **ARS Crandi**, v. 6, p. 46-52, 1995.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3 ed. São Paulo: Mamole, p. 43-54, 2002.

LORENZI, M.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**. Nova Odessa, Instituto Platarum, 2002, p. 196-7.

MATOS, F. J. A. Farmacognosia de *Luffa operculata cogn.* **Rev. Brasileira Farm**., v. 60, nº 7/9, p. 69-76, 1979.

MENON-MIYAKE, M. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio e atividade mucociliar do palato isolado de rã, 2004. Tese (Doutorado em Otorrinolaringologia), Universidade de São Paulo,São Paulo.

MENON-MIYAKE, M. et al. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio do palato de rã: Aspectos histológicos. Rev. **Brasileira de Otorrinolaringologia** v. 71, n. 2, p. 132-138, 2005.

MONTEIRO, J. M. et al. Tannins: From Chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed, São Paulo: Atheneu, 2003.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2º Ed. Editora Atheneu, 1998.

OLIVEIRA, F. Q.; GONÇALVES, L. A.; Conhecimentos sobre plantas medicinais e fitoterápicos e potencial de toxicidade por usuários de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 36-41, 2006.

OLIVEIRA, R. B. et al. Toxicidade aguda de látex e estrato etanólico de folhas de Synadenium umbellatum em camundongos. Rev. **Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 143-145, 2005.

RANG H.P., DALA M. M.; RITTER J.M.; MOORE P. K., Farmacologia, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RAMOS, J.; **Oncologia Clínica**, 2. ed., São Paulo: Sarvier, 1984, p. 320.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia.** São Paulo: Premier, 1997, p. 372.

ROCHA, M. S. **Fundamentos da Farmacologia e suas aplicações à terapêuticas**, 3. Ed, São Paulo: Edart, 1973.

SALVIANO, P. A. Tratamento de sinusite com preparação contendo *Luffa operculata* e solução fisiológica. **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p. 681-2, 1992.

SALVIANO, P. A. Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* Cogniaux (CABACINHA). **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p 672-4, 1992.

SILVA, E. A. Contribuição para o Estudo farmacológico da *Luffa operculata* Cogniaux. 1983. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J. B., Algumas pesquisas sobre as saponinas da *Luffa operculata* Cogn. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 2, n. 2, p. 153-160, 1964.

SILVA, A. C. P. Abordagem da atividade biológica do látex de *Euphorbia Tirucalli* Linn. (Euphorbiaceae), 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco6.

SILVA, E. C. B. Avaliação da *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae – Caesalpinioideae) Uso e riscos, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 43-46, maio/jun. 2000.

TURNER D. M., Natural product source material use in the pharmaceutical industry: the Glaxo experience. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 39-44, 1996.

VALDARES, M. C.; Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias após "era do teste DL_{50}". **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p.93-8, 2006.

VASQUES, C.A. V. VASQUES, N. V.; ARRAES, L. A., GELLER,M. Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cong.). **F MED. (BR)**, v. 93, n. 3, p. 185-7, 1986.

WIESENAUER, M. et al. Efficiency of homeoptahic drug combiantion for the treatment of sinusitis. Results of a randomized double-blind study with general practitioners. **Arzneimittelforschung/Drug research**, v. 39, n. 5, p. 620-5, 1989.

TABELA 1. Principais reações comportamentais relacionadas ás doses administradas na fase preliminar da avaliação da toxicidade aguda por via intraperitoneal.

(-) sem efeito; (+) efeito leve; (++) efeito moderado; (+++) efeito acentuado.

EFEITOS	**DOSES (mg/kg)**						
	2,0	5 (D_1)	7,5	10,25	15,62 (D_2)	31,25	62,5
ESTIMULANTES							
Taquicardia	-	++	++	++	+++	+++	+++
Taquipnéia	-	+	+	++	+++	+++	+++
Piloereção	+	+	+	+	+	+	+
Agitação	-	-	-	+	+	++	++
Exoftalmia	-	+	+	+	+	+	+
Movimentos Estereotipados	-	+	+	++	++	+++	+++
Movimentos circulares		+	+	++	++	++	+++
Movimentos de vibrissas	-	+	+	+	+	+	+
Ondulação caudal	-	-	+	+	+	+	+
Ereção de cauda	-	+	+	++	++	++	+++
Tremores finos/grosseiros	-	+	+	+	+++	+++	+++
Postura de ataque	-	+	+	+	++	++	++
Levantamento dos membros posteriores	-	+	+	+	+	+	+
Convulsão focal	-	-	-	-	-	-	-
DEPRESSORES							
Abaixamento dos membros posteriores	-	-	-	+	+	+	+
Apnéia	-	-	-	+	++	++	+++
Alteração de marcha	+	+	+	+	+	+	+
Sonolência	-	-	-	-	-	-	-
Prostração	-	-	-	-	+	++	+++
OUTROS							
Excreção fecal	-	-	-	-	-	+	+
Diurese	-	-	-	-	-	-	-
Contorções abdominais	-	-	+	+	++	+++	+++
Espasmos	-	+	++	++	+++	+++	++
Reação de fuga	-	+	+++	+++	+++	+++	+++
Palidez	-	+	+	+	+	+	++
Distensão abdominal	-	+	+	+	++	+++	+++
Petéquias	-	-	+	+	+	+	+
Edema de focinho	-	-	+	++	++	++	++
Cianose	-	-	+	+	+	++	++
Fotofobia	-	-	-	-	-	-	-
Refluxo	-	-	-	-	-	-	-

TABELA 2. Principais reações comportamentais relacionadas ás doses administradas na fase preliminar da avaliação da toxicidade aguda por via intraperitoneal.

(-) sem efeito; (+) efeito leve; (++) efeito moderado; (+++) efeito acentuado.

EFEITOS	DOSES (mg/kg)						
	5	7,5	10,2	12,6	13,2	14,5	15,62
ESTIMULANTES							
Taquicardia	-	+	++	++	++	+++	+++
Taquipnéia	-	++	++	++	++	+++	+++
Piloereção	+	+	+	+	+	++	++
Agitação	-	-	-	+	++	++	++
Exoftalmia	+	+	+	+	+	++	++
Movimentos Estereotipados	+	+	++	++	++	++	+++
Movimentos circulares	+	+	++	++	++	++	+++
Movimentos de vibrissas	+	+	+	+	+	+	+
Ondulação caudal	-	-	-	-	-	-	-
Ereção de cauda	+	+	+	+	+	+	+
Tremores finos/grosseiros	++	++	++	++	++	++	+++
Postura de ataque	+	+	+	++	++	++	+++
Levantamento dos membros posteriores	-	-	-	-	-	-	-
Convulsão focal	-	-	-	-	-	-	-
DEPRESSORES							
Abaixamento dos membros posteriores	+	+	+	+	+	+	+
Apnéia	-	-	-	+	+	+	+
Alteração de marcha	+	+	+	+	+	+	+
Sonolência	-	-	-	-	-	-	-
Prostração	-	-	-	+	+	++	++
OUTROS							
Excreção fecal	-	-	-	+	+	+	+
Diurese	-	-	-	-	-	-	-
Contorções abdominais	+	+	+	+	++	++	+++
Espasmos	+	+	+	++	++	++	+++
Reação de fuga	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Palidez	+	+	+	+	+	+	+
Distensão abdominal	+	+	+	+	++	++	++
Petéquias	-	-	-	-	-	-	-
Edema de focinho	+	+	+	+	+	++	++
Cianose	+	+	+	+	+	+	+
Fotofobia	-	-	-	-	-	-	-
Refluxo	-	-	-	-	-	-	-

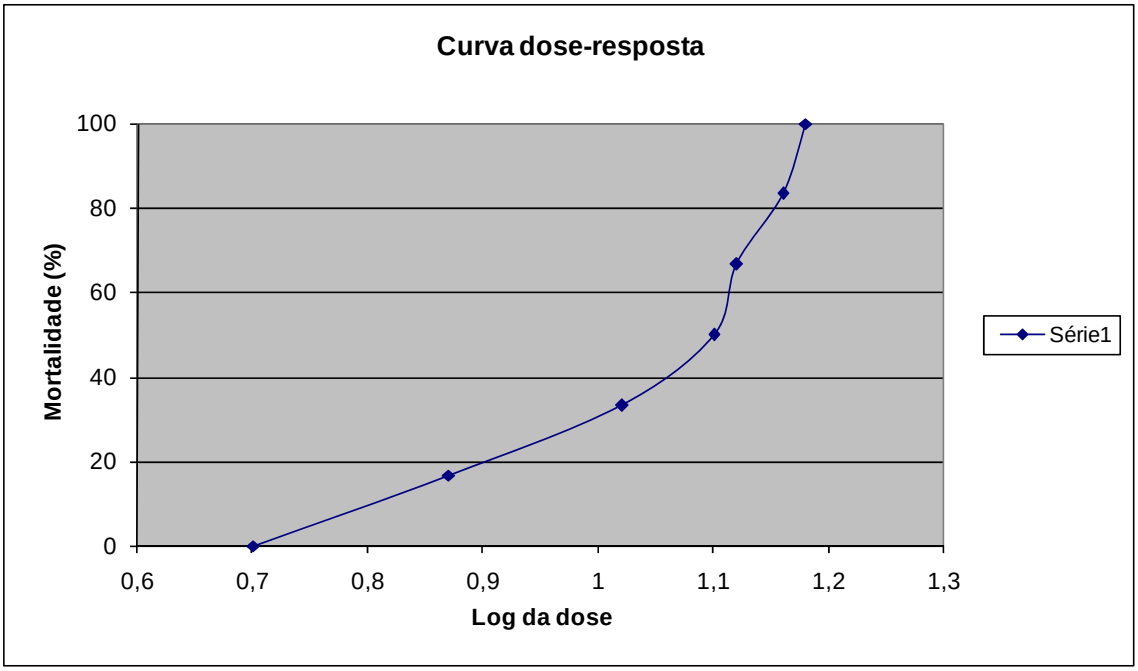

Figura 1. Curva dose-resposta da toxicidade de *Luffa operculata* Cogn.

5. ARTIGO II

Artigo a ser submetido á *Revista de Ciências da Saúde Santa Maria*

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DE *LUFFA OPERCULATA* COGN. FRENTE AO SARCOMA 180

Rebeka Alves Caribé [1 *]; Aldo C.P. da Silva [2]; Ivone Antônia de Souza [2]

[1] Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de pernambuco. Rua Desembargador Virgilio de Sá Pereira, nº 544, apto- 703, CEP 50721-040, Cordeiro, Recife-PE.

[2] Departamento de antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, PE. Av. Prof. Moraes Rego, s/n CEP, Recife – PE, Brasil.

* Contato com o autor: (81) 3445-7715 (81) 9966-9997

E-mail: rebekaaalves@hotmail.com

RESUMO

Luffa operculata Cogn. é uma planta angiosperma da família Cucurbitaceae, amplamente distribuído no Brasil, sendo popularmente conhecida como buchinha, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas, entre outros nomes. Este trabalho avaliou o efeito antitumoral do extrato bruto etanólico do fruto de *Luffa operculata* Cogn. frente ao Sarcoma 180. Inicialmente as células tumorais foram implantadas na região axilar direta em camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas sadias. Os animais foram divididos em cinco grupos de seis animais. O grupo controle recebeu solução salina 0,9% e no grupo padrão administrou-se metotrexato (10 mg/Kg). Os grupos tratados receberam por via intraperitoneal doses nas concentrações de 0,3; 0,6 e 1,0 mg/Kg do extrato bruto etanólico de *Luffa operculata* Cogn., respectivamente. Após sete dias de tratamento, os animais foram sacrificados e a massa tumoral, como também fígado, rins e baço foram dessecados e avaliados macroscópicamente. Os animais tratados com o extrato nas doses 0,3 e 0,6 mg/Kg não apresentaram redução significativa quando comparado com o grupo controle. Entretanto, os animais tratados com a dose 1,0 Kg obtiveram índice de inibição de 61,7%. Diante do exposto, o extrato etanólico bruto do fruto de *Luffa operculata* Cogn. apenas na maior dose (1,0 mg/Kg) apresentou redução significativa dos tumores de Sarcoma 180.

Palavra- Chave; atividade antitumoral, *Luffa operculata* Cogn., câncer.

ABSTRACT

Luffa operculata Cogn. is a plant angiosperm and of the Cucurbitaceae family, widely distributed in Brazil, being popularly known as buchinha, cabaçinha, purge-of-jalapa and purge-dos-natives of São Paulo, among others names. This work evaluated the antitumoral effect of the rude extract of the fruit of Luffa operculata Cogn. front to sarcoma 180. Initially the tumorais cells had been implanted in the direct axillary region in albinic mice Swiss (Mus musculus) female healthy. The animals had been divided in five groups contend six animals. The group control received solution saline 0.9% and in the group standard metotrexato was administered (10 mg/Kg). The treat groups had received for saw intraperitoneal doses in the concentrations of 0,3; 0,6 and 1,0 mg/Kg of the ethanolic rude extract of *Luffa operculata* Cogn., respectively. After seven days of treatment, the animals had been sacrificed and the tumoral mass, as well as liver, kidneys and spleen had been desiccated and evaluated macrocospically. The animals dealt with the extract in 0,6 doses 0,3 and mg/Kg had not presented significant reduction when comparative with the group it has controlled. However, the animals dealt with the dose 1,0 kg had gotten index of 61,7% inhibition. Ahead of the displayed one, the rude etanólico extract of the fruit of Luffa operculata Cogn. but in the biggest dose (1,0mg/Kg) it presented significant reduction of the tumors of Sarcoma 180.

Key work: antitumoral activity, Luffa operculata Cogn., cancer.

1. INTRODUÇÃO

Luffa operculata Cong. é nativa da América do Sul, especialmente do Brasil e cultivada comercialmente na Guatemala (CACERES, 1996). Trata-se de uma planta angiosperma e dicotiledônea da família Cucurbitaceae, amplamente distribuído em Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Ceará, entre outros estados. Sendo popularmente conhecida como buchinha, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas, entre outros nomes (SALVIANO, 1992).

O fruto da *Luffa operculata* Cong. é empregado na medicina popular tradicional principalmente como purgante, emenagogo e descongestionante nasal. Na homeopatia é utilizada para o tratamento de sinusite e rinite (BROCK, 2003). Também, utilizada no tratamento no alcoolismo, febre, picada de cobra, doenças oculares, sífilis, icterícia, vermífuga (MIYAKE, 2004).

A análise química dos frutos revelou ser constituído quimicamente por glicosídeos (açúcares redutores e não redutores), saponina e resina, além de esteróis livres, ácidos orgânicos e fenóis e com ausência de taninos. A família das cucurbitáceas desperta muito interesse, pois é bioprodutora de triterpenos com esqueletos modificados, altamente oxigenados denominados curcubitacinas. As cucurbitacinas exercem várias atividades farmacológicas: citotóxica, antitumoral, antimicrobiana entre outras (EDERY, 1961).

As neoplasias malignas situam-se entre as principais causas de mortalidade, correspondendo a segunda causa de morte natural. A tendência mundial é o aumento do número de casos de câncer, pois se trata de uma doença que acomete principalmente os grupos etários mais avançados, e com os progressos na saúde pública e na ciência

médica um maior número de pessoas atinge a idade em que se tornam vulneráveis a desenvolver câncer (RANG, 2003; GUERRA, 2005).

A maioria dos agentes antineoplásicos apresentam diversos efeitos colaterais que são considerados um obstáculo para a aderência do paciente ao tratamento (RANG, 2003). Por este fato, continuam em expansão as linhas de pesquisas para novos compostos antineoplásicos e sua avaliação em vários sistemas tumorais e cultura de tecidos, objetivando selecionar compostos mais efetivos (FLORÊNCIO, 2007).

Vários antineoplásicos têm origem primária de extratos de plantas que contribuem de maneira significativa para o tratamento do câncer. Dentre eles, podemos citar: vimblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, placlitaxel e podofilotoxina (BARACAT, 2000).

O presente trabalho visou avaliar a atividade antitumoral de *Luffa operculata* Cogn. frente ao Sarcoma 180.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material botânico

Os frutos da *Luffa operculata* Cogn. foram coletados na cidade de Caruaru – Pernambuco. A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário do IPA- Dárdano de Andrade Lima, sob o nº 81079.

2.2 Obtenção do extrato

O material botânico utilizado foi constituído pelo pó dos frutos da *Luffa operculata* Cogn. sob a forma de extrato etanólico obtido após coloração. Utilizou-se etanol 95% (p/p) como líquido extrator. O mesmo foi evaporado em rotaevaporador,

fornecendo resíduo escuro e higroscópico, o qual foi recolhido e utilizado para realização dos ensaios.

2.3 Animais

Os animais utilizados foram camundongos adultos albinos Swiss (*Mus musculus*), fêmeas, com pesos entre 25-35g. provenientes do Biotério do Departamento de antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os mesmos receberam água e ração ad libitum e foram mantidos em gaiolas de polipropileno com ciclo 12 h claro/escuro e temperatura 22 ± 2ºC. O manuseio dos animais durante o experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE (protocolo nº 6499/2007-65).

Foram utilizados seis animais por grupo devidamente identificados. No grupo padrão por via intraperitoneal (i.p.), utilizou-se metotrexato (10 mg/Kg), enquanto o grupo controle recebeu solução salina 0,9%. Os grupos tratados receberam administração, também via i.p. do extrato bruto etanólico de *Luffa operculata* Cogn. nas doses de 0,3; 0,6 e 1,0 mg/Kg.

2.4 Transplante dos tumores e tratamento

No experimento realizado foram utilizadas células tumorais da linhagem de Sarcoma 180 (forma sólida). A massa tumoral inicialmente foi retirada do animal doador e implantada fragmentos de 3mm de diâmetro na região axilar direta aos animais receptores (STOCK, 1995). Após 48h do transplante dos tumores iniciou-se o tratamento de cada grupo respectivo, por um período de sete dias.

2.5 Avaliação da atividade antitumoral

Após 24h do término do tratamento, todos os animais foram sacrificados, e os tumores foram avaliados macroscopicamente, dissecados e pesados. Os seguintes

órgãos: fígado, baço e rins dos animais de cada grupo também foram avaliados na macroscopicamente em relação ao tamanho, coloração e consistência (DAGLI, 1989).

2.6 Análise estatística

Os valores foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m). As diferenças entre os grupos foram avaliadas através da analise de variância (ANOVA) seguida pelo teste "t" de Student. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Os animais tratados com extrato da *Luffa operculata* Cogn. apresentaram intensa piloereção, agressividade e taquicardia e os animais tratados com o metotrexato apresentaram diarréia, perda de peso corpóreo e palidez.

As médias tumores de Sarcoma 180 dos grupos controle, padrão e tratados com o extrato bruto etanólico de *Luffa operculata* Cogn. nas doses de 0,3; 0,6 e 1,0 mg/kg estão representados na Figura 1.

Macroscopicamente, os animais do grupo controle não apresentaram alterações nos órgãos. Nos animais tratados com o extrato observou-se alterações hepáticas e renais a medida que aumentou a dose administrada aos animais. Contudo, os animais tratados com metotrexato (10 mg/Kg) todos os órgãos se apresentaram atrofiados.

Nos animais tratados com o extrato os tumores se mostraram bem delimitados e com consistência sólida, reduzidas infiltrações e pontos hemorrágicos. No grupo controle os tumores foram invasivos e sem delimitações. Porém, os animais tratados com o metotrexato ficou demonstrada uma redução expressiva nos tumores.

Apesar de ter havido uma relevante taxa de inibição nas doses do tratado, referentes às médias doses pesos dos tumores, somente o grupo tratado que recebeu a maior dose de 1mg/kg do extrato da planta nos animais portadores do Sarcoma 180 é que foi estatisticamente significante relação ao grupo controle, como mostra a Figura 1. O percentual das taxas de inibição pode esta correlacionados com avaliação macroscópica. O tratamento com o extrato bruto etanólica de *Luffa operculata* Cogn. por com a dose via intraperitoneal em camundongos fêmeas apresentou índice de inibição de crescimento tumoral de 61,7% com a dose de 1 mg/kg. O fármaco padrão, metotrexato, foi capaz de inibir 95,4% do crescimento tumoral.

O baço dos animais tratados com extrato não apresentou nenhuma alteração morfológica.

4. DISCUSSÃO

O câncer é uma doença caracterizada pela multiplicação e propagação descontroladas no corpo de formas anômalas das próprias células. As duas principais características de alterações genéticas que levam ao desenvolvimento do câncer são: ativação de proto-oncogênese em oncogênese e a inativação dos genes supressores tumorais (RANG, 2003).

A inibição do câncer através de uma variedade de fitoconstituintes foi confirmada em diferentes modelos de experimentação animal, a partir disso, vêm sendo elaboradas estratégias de prevenção (SINGLETARY,2000).

A literatura também indica que muitos produtos naturais são utilizados popularmente quimioprotetores contra alguns tipos de câncer (LIMA, 2007).

O fruto de *Luffa operculata* Cogn. é constituído quimicamente por glicosídeos, saponina e resina, além de esteróis livres, ácidos orgânicos e fenóis e cucurbitacinas (SOUZA, 2003).

Gitter e colaboradores demonstraram que três curcubitacinas: a elaterina A, a elaterina B e a elaterina, possuem atividade inibitória no crescimento do Sarcoma 180.

Pesquisas tem descritos que um crescimento tumoral causa distúrbios em sistemas antioxidante, como uma inibição de enzimas chaves envolvidas neste processo (EL-DIN, 2004). O perfil fitoquímico de *Luffa operculata* Cogn. demonstrou a presença de compostos fenólicos como os flavonóides. Os flavonóides são reconhecidos por apresentar ação antioxidante e promover uma estabilização genômica, com efeito no reparo do DNA, inibindo a ação das enzimas topoisomerases, as quais exercem papel primordial na transcrição e replicação do DNA.

Os resultados encontrados evidenciaram que *Luffa operculata* Cogn. provocou significativa inibição tumoral em grupos tratados frente ao Sarcoma 180 com a dose de 1,0 mg/Kg. A maior dose administrada do extrato apresentou um índice de inibição tumoral de 61,7% e o padrão (metotrexato) de 95,4%.

Podemos associar está atividade antitumoral devido a presença de flavonóides e cucurbitacinas, esse dado nos conduziu a estudos histopatológicos para analisar os efeitos do extrato de *Luffa operculata* Cogn.

5. CONCLUSÃO

O extrato da *Luffa operculata* Cogn. apresentou inibição do crescimento tumoral do Sarcoma 180. Os resultados obtidos estavam de acordo com os dados encontrados

em trabalhos anteriores. Recomenda-se estudos mais detalhado com concentrações maiores do extrato, bem como a utilização de outras linhagens tumorais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALMEIDA, E. R. **Plantas Medicinais Brasileiras**: Conhecimentos populares e Cientificos. Hermus, 1993. p.70-71

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina**:bases clinicas y farmacológicas. 2. ed. Buenos Aires: Isis Ediciones SRL, 2004.

BARACAT, F. F.; FERNANDEZ, H. J.; SILVA, M. J. **Cancerologia Atual** – Um enfoque multidisciplinar. São Paulo: Roca, 2000.

BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. **The American Journal of Medicine**. n. 116, 478–485, 2004.

BROCK, A. C. et al. Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquimica de frutos e sementes de Luffa operculata (L) Cogn. Curcubitaceae.**Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 31-37, jan-jul. 2004.

BRODY, M. et al. **Farmacologia Humana** - da molecular à clínica. 2. Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1991.

CACERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. Guatemala: Universitária, Universidade e San Carlos de Guatemala, 1996, p. 165-166.

CARIBÉ, R. A. Análise de prescrição e administração da vancomicina nas clínicas cirúrgicas do Hospital da Restauração, 2006. Monografia em planejamento e gestão de serviços farmacêuticos, Pernambuco.

CONTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Neoplasias. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Eds.) **Robbins – Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 233-295, 2000.

CORRÊA, M. P. **Diccionário das plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa nacional, v. 1, 1926, p. 335.

DALE, M. M.; RANG, H. P.; RITTER, J. M. **Farmacologia**, 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 12-15.

DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Plantas Medicinais. Fármacos derivados de Plantas. In: SILVA, P., **Farmacologia**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2002, p. 134-145.

DO NASCIMENTO, J. E. et al. Medicinal plants products traded in Pernambuco – Northeastern Brazil, **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 113-122, 2005.

EDERY, H. et AL. S. Arch. Int. Pharmacodyn. **Therapy**. v. 130, p. 315-335, 1961.

FLORÊNCIO, A. P. S. et al. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Rev. Elet. Bras.** v. 4, p. 61-65, 2007.

GILMAN, A. G. et al. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 9º Ed. Rio de Janeiro, 1996.

GOTTILIEB, O. R., KAPLAN, M. A. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. **Ciência hoje**. v. 15, p. 686-691, 1995.

GUERRA M.R. Riscos de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

HARRIS C. C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990. **Cancer Res**. , V.51, p. 5023-5044, 1991.

KAWAHARA, N. et al. Two new cucurbitacin glucosides, opercurins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 8, p. 1018-1020, 2004.

KAWAHARA, N. et al. Two novel cucurbitacins, neocucurbitacins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2A and OCIF gene expression in a human osteoblast-like Saos- 2 cell line. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 10, p. 1377 -1379, 2001.

KLOSS, P. On the bitter substance from *Luffa operculata* Cong. **Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft**, v. 299, n. 4, p. 351-355, 1966.

LORENZI, M.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**. Nova Odessa, Instituto Platarum, 2002, p. 196-7.

MATOS, F. J. A. Farmacognosia de *Luffa operculata cogn.* **Rev. Brasileira Farm**., v. 60, nº 7/9, p. 69-76, 1979.

MENON-MIYAKE, M. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio e atividade mucociliar do palato isolado de rã, 2004. Tese (Doutorado em Otorrinolaringologia), Universidade de São Paulo,São Paulo.

MENON-MIYAKE, M. et al. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio do palato de rã: Aspectos histológicos. Rev. **Brasileira de Otorrinolaringologia** v. 71, n. 2, p. 132-138, 2005.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2º Ed. Editora Atheneu, 1998.

PEREIRA, R. S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Rev. Saúde Pública**, v.38, n.2, p. 68- 73, 2004.

RANG H.P., DALA M. M.; RITTER J.M.; MOORE P. K., Farmacologia, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RAMOS, J.; **Oncologia Clínica**, 2. ed., São Paulo: Sarvier, 1984, p. 320.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia.** São Paulo: Premier, 1997, p. 372.

ROCHA, M. S. **Fundamentos da Farmacologia e suas aplicações à terapêuticas**, 3. Ed, São Paulo: Edart, 1973.

ROSELL, R. et al. **Manual da Oncologia**. Barcelona: Toray, 1984, p-707.

SALVIANO, P. A. Tratamento de sinusite com preparação contendo *Luffa operculata* e solução fisiológica. **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p. 681-2, 1992.

SALVIANO, P. A. Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* Cogniaux (CABACINHA). **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p 672-4, 1992.

SHADOMY, S.; et al. Are plant factors a missing link in teh evolution of endemic Burkitt's lymphoma? **British Journal of Cancer**. London, v. 68, p. 1232-1235, 2000.

SILVA, E. A. Contribuição para o Estudo farmacológico da *Luffa operculata* Cogniaux. 1983. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J. B., Algumas pesquisas sobre as saponinas da *Luffa operculata* Cogn. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 2, n. 2, p. 153-160, 1964.

SILVA, A. C. P. Abordagem da atividade biológica do látex de *Euphorbia Tirucalli* Linn. (Euphorbiaceae), 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco.

SILVA, E. C. B. Avaliação da *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae – Caesalpinioideae) Uso e riscos, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco.

SINGLETARY, K. Diet, natural products and cancer chemoprevention. **The J. of Nutrition.** p.465-6, 2000.

STOCK, C.C.; CLARCK, D.A.; PHILIPS, F.S.; BARCLAY, R.K. Sarcoma - 80 Inhibiton screening data. **Cancer Res.** vol.2, p.2-3, 1955.

TALALAY, P.; TALALAY, P. The importance of using scientific principles in the development of medicinal agents from plants. **Academic Medicine**. n. 76, 238–247, 2001.

VALDARES, M. C.; Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias após "era do teste DL_{50}". **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p.93-8, 2006.

VASQUES, C.A. V. VASQUES, N. V.; ARRAES, L. A., GELLER,M. Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cong.). **F MED. (BR)**, v. 93, n. 3, p. 185-7, 1986.

WÜNSCH, V. F.; MONCAU, J. E.; Mortalidade por câncer no Brasil 1980-1995: padrões regionais e tendências temporais. **Rev. Assoc. Med. Bras.,** São Paulo, v. 48, n. 3, p. 52-63, jul./set. 2002.

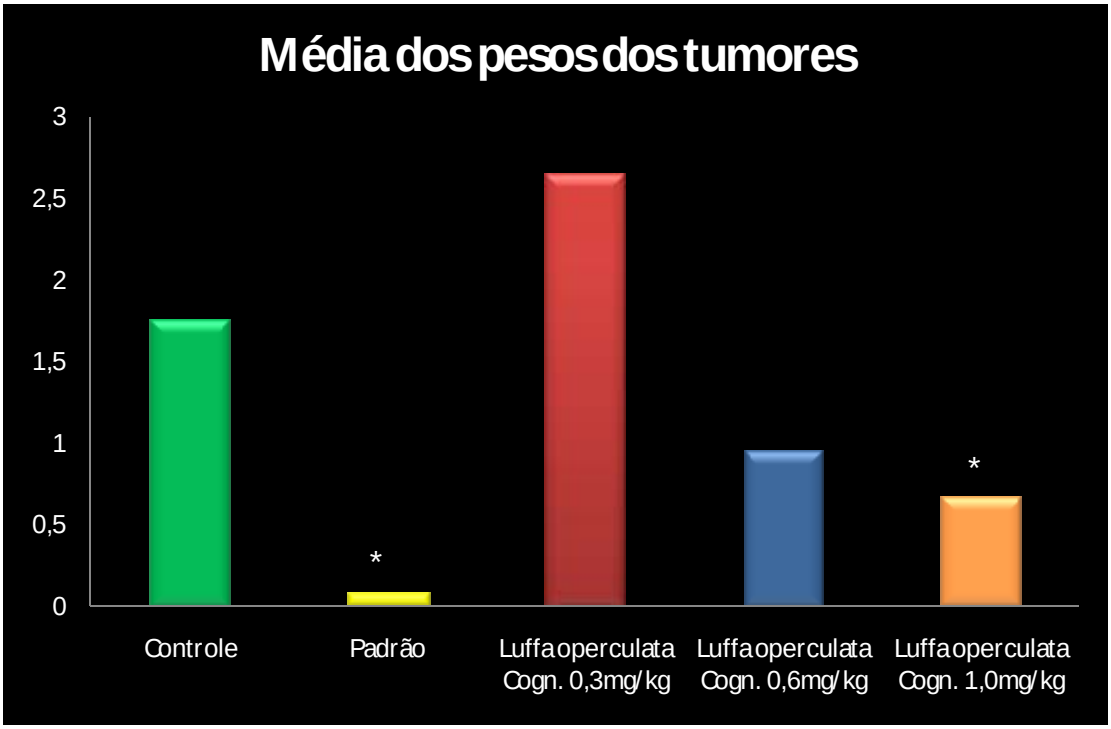

Figura 1. Média dos pesos dos tumores. *P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste "*t*" de Student (n = 6/grupo).

6. ARTIGO III

Artigo submetido á Revista Brasileira de Farmacognosia

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO BRUTO DE *LUFFA OPERCULATA* COGN. (CUCURBITACEAE).

Rebeka Alves Caribé [1*], Thompson Lopes de Oliveira [2], Alian Aguila [3], Ivone Antônia de Souza [4]

[1] Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Desembargador Virgilio de Sá Pereira, nº 544, apto- 703, CEP- 50721-040, Cordeiro, Recife - PE

[2] Departamento de Microbiologia, Universidade Federal do Vale do São Francisco. Av. Manoel dos Arroz, Vila Mocó, CEP – 58000-000, Petrolina - PE

[3] Departamento de Medicina, University of Miami, FL, U.S.A.

4 Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, PE. Av. Prof. Moraes Rego, s/n CEP, Recife – PE, Brasil.

* Contato com o autor: (81) 3445 – 7715 (81) 9966 – 9997
E- mail: rebekaalves@hotmail.com; thompson_oliveira@yahoo.com.br

RESUMO

Luffa operculata Cogn. é um vegetal de uso popular com propriedades medicinais diversas de caráter preventivo e curativo de algumas patologias. O estudo de produtos naturais oriundos de vegetais de uso medicinal com atividade antimicrobiana tem sido utilizado com perspectivas para uma possível aplicação prática no tratamento das infecções fúngicas e bacterianas. Neste trabalho, foram realizadas avaliações da atividade antimicrobiana da *Luffa operculata* Cogn. contra espécimes bacterianas e fúngicas da origem clínica e de coleção. Os ensaios foram realizados, através do método de difusão em meio sólido, incubados em uma temperatura de 35±2º C durante 24-48 horas para espécimes bacterianas, e 28-30º C durante 7-14 dias para espécies fúngicas. Os resultados demonstraram que o extrato do *Luffa operculata* Cogn. apresentam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Candida albicans e Candida tropicalis.*

Unitermos: *Luffa operculata* Cogn., microrganismos, medicinal.

ABSTRACT

Luffa operculata Cogn. has been used in the popular medicine due to its varied medicinal properties, its preventive and healing applications in some diseases are due to its several pharmacological activities. The study of natural products of medicinal use with antimicrobial activity has gained great perspectives for a possible practical application in the treatment of fungal and bacterial infections. In this work , evaluations of the antimicrobial activity of the extract of the fruits of *Luffa operculata* (Cogn.), were accomplished against bacterial and fungus specimens of clinical origin and from collection. The assays accomplish through the method of diffusion in solid medium, the bacteria were incubated in a temperature of 35 ± 2º C during 24-48 hours, and fungi in 28–30º C during 7-14 days. The results demonstrated that the extract of *Luffa operculata* Cogn. presents antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Candida albicans and Candida tropicalis.*

Word-key: *Luffa operculata* Cogn., microbe, medical.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas aumentou o interesse pela pesquisa com produtos naturais como fontes para obtenção de novos fármacos contra diversas enfermidades (LAPA, 1995; LORENZI et al., 2002). A resistência bacteriana a diversos antimicrobianos representa um desafio no tratamento de infecções, acarretando muitos transtornos no tratamento de doenças infecciosas, os antibióticos usados geralmente apresentam efeitos adversos ao paciente, que incluem: hipersensibilidade, reação alérgica e a imunossupressão (FERNANDES, 2000; NASCIMENTO et al., 2000; PAREKH et al., 2007). É importante, a necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas no combate a esses microrganismos (ROCHA, 1973; ROBBERS, 1997; LACAZ et al., 2002). Nesse sentido, torna-se racional o estudo e a pesquisa das plantas medicinais tradicionalmente usadas pela população (ALMEIDA, 1993; ALONSO, 2004).

Luffa operculata Cogn. é nativa da América do Sul, especialmente do Brasil e cultivada comercialmente na Guatemala (HEISER, 1988; CACERES, 1996). Trata-se de uma planta angiosperma e dicotiledônea da família Cucurbitaceae, amplamente distribuído em Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Ceará, entre outros estados (MENON-MIYAKE, 2004). No Brasil, *Luffa operculata* Cogn. é popularmente conhecida como buchinha, cabaçinha, purga-de-jalapa e purga-dos-paulistas, entre outros nomes, na América Latina sendo conhecida como esponjuelo, esponjilla, pachete, pepino de monte, zapallito de monte e cabacito (CORRÊA, 1926).

Vários constituentes químicos foram encontrados na *Luffa operculata* como: buchinina (princípio amargo), luffanino e buchina (alcalóides), saponinas, luperosídeos

A-H (presentes nas partes aéreas da planta), metacarboxi-fenilalanina, elaterina e citrulina (encontrada nas sementes) (CHAMPENY, 1974; MENON-MIYAKE, 2004).

O fruto da *Luffa operculata* Cogn. é utilizado popularmente como purgante, enemagogo e descongestionante nasal (BROCK, 2004). Na homeopatia, é utilizado para o tratamento de sinusite e rinite (MENON-MIYAKE, 2004; MENON-MIYAKE et al., 2005). Alem disso, outras propriedades foram descritas tais como: diurética, emética, irritante, mucolítica e sudorífica, vermífuga e expectorante (SALVIANO, 1992; VASQUES et al., 1986).

De acordo com o exposto, faz-se necessário intensificar o estudo farmacológico das plantas medicinais relacionadas com atividade antimicrobiana. Na literatura cientifica não há relato da atividade antimicrobiana da *Luffa operculata* Cogn. Nesta pesquisa avaliamos a atividade antimicrobiana do extrato bruto do fruto da referida planta contra fungos, bactérias e fermentadores gram-positivo e gram-negativo.

MATERIAIS E MÉTODO

Local de Trabalho

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

Material Botânico

Os frutos da *Luffa operculata* Cogn. foram coletados na cidade de Caruaru – Pernambuco. A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário do IPA- Dárdano de Andrade Lima, sob o nº 81079.

Obtenção do Extrato

O material botânico utilizado foi constituído pelo pó dos frutos da *Luffa operculata* Cogn. sob a forma de extrato etanolico obtido após maceração, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida para eliminação do solvente orgânico.

Ensaios Microbiológicos

Para a realização dos ensaios microbiológicos foram selecionados espécimes de origem clínica, registradas no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB, bem como, cepas padrões de origem ATCC: *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9028), *Staphylococcus epidermidis* - MH, *Escherichia coli* - LM, *Aspergillus flavus* (FCF-126), *Trichophynton rubrum* (ATCC-2812), *Microsporum canis* (LM-003), *Microsporum gypseum* (LM-002), *Penicillium* spp (FCP-281), *Candida albicans* (ATCC-90028), *Candida tropicalis* LM-13 e *Aspergillus niger* (LM-05).

Método de difusão em meio sólido: utilizado na determinação do "screening" da atividade antimicrobiana dos extratos da *Luffa operculata* Cogn. contra bactérias e fungos de coleção: em placas esterilizadas, foi depositado 1mL da suspensão de cada microrganismo teste, preparada em solução fisiológica a 0,85% padronizada pelo tubo

de 0,5 na escala de McFarland e ajustada para 90% T (530nm), correspondendo aproximadamente a 10^6 UFC/mL (ODSS, 1989; CASALS, 1979). Em seguida, foi adicionado às placas com a suspensão dos microrganismos 21mL do meio sólido fundido a 50ºC, especifico para cultivo de bactérias e de fungos. Posteriormente, após solidificação, foram realizadas cavidades de 6x8nm de diâmetro por meio de cânulas estéreis, onde foram depositadas alíquotas de 50µL do extrato da *Luffa operculata* Cogn. em concentrações diferenciadas. Os controles antimicrobianos utilizados foram: utilizadas as drogas tetraciclina e clorafenicol 30µg para bactérias e cetoconazol a 1000µg para fungos.

Os ensaios foram incubados a 35±2º C por 24-48 horas, para culturas bacterianas e leveduriformes e a temperatura ambiente por 7-14 dias para fungos filamentosos (BENOUDIA et al., 1988; SHADOMY et al., 1985; MC GINNIS, 1980; CHIN LU, 1971).

RESULTADOS

Os resultados dos testes de atividade antimicrobiana e antifúngica do extrato da planta *Luffa operculata* Cogn. estão ilustrados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. Atividade antibacteriana do extrato da *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações contra bactérias de origem clínica e diversa.

Produto (Extrato)	*Staphylococcus aureus* (ATCC-25923)	*Pseudomonas aeruginosa (ATCC-9028)*	*Escherichia coli* – LM	*Staphylococcus epidermidis* – MH
100 mg/mL	+	-	-	-
50 mg/mL	-	-	-	+
25 mg/mL	-	-	-	-
12,5 mg/mL	-	-	-	-
Controle do Microrganismo	+	+	+	+

- No controle do microrganismo foi utilizada drogas antibacterianas, conforme descrita na metodologia

Na tabela 1, observou-se os resultados dos testes "in vitro" do extrato da *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações contra bactérias Gram- postitivas e Gram-negativa de origem clinica diversa. O extrato da planta mostrou-se ativo na concentração 100 mg/mL e 50 mg/mL contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* – MH, respectivamente. Porém, não foi encontrada atividade diferentes concentrações contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli.*

Tabela 2. Teste da atividade antifúngica do extrato da *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações contra fungos leveduriformes e filamentoso de origem clínica e diversa.

Produto (Extrato)	*Aspergillus flavus* (FCF-126)	*Trichophynton rubrum* (ATCC-2812)	*Microsporum canis* (LM-003)	*Microsporum gypseum* (LM-002)	*Penicillium* spp (FCP-281)	*Candida albicans* (ATCC-90028)	*Candida tropicalis* LM-13	*Aspergillus niger* (LM-05)
100 mg/mL	-	-	-	-	-	+	+	-
50 mg/mL	-	-	-	-	-	+	+	-
25 mg/mL	-	-	-	-	-	-	+	-
12,5 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle do Microrganismo	+	+	+	+	+	+	+	+

- No controle do microrganismo foi utilizada drogas antibacterianas, conforme descrita na metodologia

Na tabela 2, observou-se os resultados dos testes "*in vitro*" referente atividade antifúngica do extrato de *Luffa operculata* Cogn. em diferentes concentrações frente a fungos filamentosos e leveduriformes de origem clínica e diversa. O extrato apresentou atividade inibitória contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis* nas concentrações de 100mg/mL, 50mg/mL, e 100 mg/mL, 50 mg/mL e 25 mg/mL, respectivamente.

DISCUSSÃO

A resistência bacteriana aumentou consideravelmente devido ao uso amplo e indiscriminado de antibióticos em todo mundo (FERNANDES, 2000). Este fato é preocupante no ambiente de Saúde Pública, pois muitos microrganismos multiresistentes não respondem de maneira satisfatória a antibioticoterapia disponível no mercado. Logo, é notória a necessidade de buscar novos fármacos com propriedades antimicrobianas que apresentem eficácia, segurança e qualidade comprovada cientificamente.

Nesse contexto o interesse em plantas medicinais com propriedades medicamentosas tem evoluído com amplas expectativas, pela possibilidade que se tem em isolar substâncias conhecidas ou inéditas a partir de fontes vegetais. Não existem relatos na literatura que comprovem a atividade antimicrobiana da *Luffa operculata* Cogn.. Este motivo esse trabalho foi realizado afim de detectar essa possível propriedade.

Os resultados encontrados com o extrato bruto da *Luffa operculata* Cogn. apresentou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermis*, no entanto não apresentou nenhuma atividade contra bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. A concentração inibitória mínima foi de 50 mg/mL e 100mg/mL para *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermis*, respectivamente.

Em relação a atividade antifúngica do extrato bruto da *Luffa operculata* Cogn. verificamos apenas atividade contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A concentração inibitória mínima foi de 50mg/mL e 25 mg/mL para *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, respectivamente.

Oliveira (2005), afirma que a maioria das plantas medicinais são mais efetivas contra Gram-positiva do que bactéria Gram-negativa, como também informa que atividade antifúngica não é comum em plantas medicinais.

Os ensaios preliminares demonstraram que o extrato de *Luffa operculata* Cogn. apresentou potencial biológico contra bactérias e fungos, incentivando novas pesquisas contra diferentes patógenos, bem como com substâncias isoladas com o intuito de estabelecer os constituintes responsáveis pela atividade, possibilitando originar á partir da mesma um produto seguro, eficaz e de baixo custo.

CONCLUSÃO

O extrato da *Luffa operculata* Cogn. apresentou atividade promissora antimicrobiana contra espécimes de âmbito hospitalar e diversa. Recomenda-se estudos mais avançados com a finalidade de averiguar de forma mais ampla sua atuação em diversos agente patógenos, bem como propor a elucidação do seu mecanismo de ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. R. **Plantas Medicinais Brasileiras: Conhecimentos populares e Científicos.** Hermus Editora, p. 70 -71, 1993.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina: bases clinicas y farmacológicas**. 2º Ed, Buenos Aires, Isis Ediciones SRL, 2004.

BENPOUDIA, A.; HASSAR, M.; BENJILALI, B. **Les propiétés antiséptiques des huiles essentialles in vitro, testées contre germes pathogens hôpitaliers.** Fitoterapia, v. 59, n. 2, p. 115-119, 1988.

BROCK, A. C. et al. **Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquimica de frutos e sementes de Luffa operculata (L) Cong. Curcubitaceae**.Visão Acadêmica, v. 4, n. 1, p. 31-7, 2004.

CACERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala.** Editora Universitária, Universidade e San Carlos de Guatemala, p. 165-6, 1996.

CASALS, J. B. **Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi.** J. Clin. Pathol., v. 32, p. 719-722, 1979.

CHAMPNEY, R. et al**. Select pharmacological studies of *Luffa operculata***. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 63, n. 6, p. 942-3, 1974.

CHIN LU, Y. **In vitro study of pyrrolnitrin.** Jama J. Am. Méd. Assoc., v. 70, n. 8, p. 19-22, 1979.

CORRÊA, M. P. **Diccionário das plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa nacional, v. 1, 1926, p. 335.

DE OLIVEIRA, G. F. et al. **Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract.** Braz. J. Microbiol. v. 38, n. 2, São Paulo abr./jun. 2007

GRAYBILL, J. R. **Future directions of antifungical chemotherapy.** Clin. Inf. Diseases, v. 14, n. 1, p. 170 -181, 1992.

FERNANDES, A.T. **Infecção Hospitalar e suas interfaces na Área de Saúde**, Ed. 02, Editora Atheneu , São Paulo, 2000.

HEISER, C. B.; SCHILLING, E. E. **Phylogeny and distribution of Luffa (Cucurbitaceae).** Revista Biotropica, v. 20, n. 3, p. 185-191, 1988.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. **Micologia Médica**. São Paulo: Savier, p. 695, 2002.

LAPA, A. J. **A importância da farmacologia tradicional e novas descobertas no estudo das plantas medicinais**, ARS Crandi, v. 6, p. 46-52, 1995.

LORENZI, M.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil.** Nova Odessa, Instituto Platarum, p. 196-7, 2002.

MATOS, F. J. A. **Farmacognosia de *Luffa operculata Cogn.*** Rev. Brasileira Farm., v. 60, n. 7/9, p. 69-76, 1979.

MCGINNS, M. R. **Laboratory Handbook of Medical Mycology**. New York: Academic Press, p. 411 – 416, 1980.

MENON-MIYAKE, M. **Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio e atividade mucociliar do palato isolado de rã.** Defesa de doutorado em Otorrinolaringologia, Universidade de São Paulo, 2004.

MENON-MIYAKE, M. et al. **Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio do palato de rã: Aspectos histológicos**. Rev. Brasileira de Otorrinolaringologia v. 71, n. 2, p. 132-8, 2005.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic – resistant bacteria**. Braz. J. Microbiol, v.31, n.4,out./dez. 2000.

ODDS, F. C. **Antifungical activity of saperconazale (R. 66905) in vitro.** J. Antimicrob. Chemother., v. 24, p. 533-37, 1989.

PAREKH, J.; CHANDA, S., ***In vitro* antibacterial activity of the crude methanol extract of *Woodfordia fruticosa* Kurz. flower (Lythraceae).** *Braz. J. Microbiol.*, vol.38, no.2, p.204-207, Apr./June 2007

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M..; TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiotecnologia.** São Paulo: Editorial Premier, p. 372, 1997.

ROCHA, M. S. **Fundamentos da Farmacologia e suas aplicações à terapêuticas**, v. 1, Ed. 3, Editora Edart, 1973.

SALVIANO, P. A. **Tratamento de sinusite com preparação contendo *Luffa operculata* e solução fisiológica. Rev. Bras. Med.**, v. 49, nº 9, p. 681-2, 1992.

SALVIANO, P. A. **Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* Cogniaux (CABACINHA).** Rev. Bras. Med., v. 49, nº 9, p 672-4, 1992.

SCHINOR, Elisandra C., SALVADOR, Marcos J., ITO, Izabel Y. *et* al. **Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera.* Braz. J. Microbiol.**, vol.38, no.1, p.145-149, 2007.

SHADOMY, S.; ESPINEL- INGRIFFIN, B. E.; KAZEMBE, P.; DZWENI, C.; KADZAMEIRA, L. **Are plant factors a missing link in the evolution of endemic Burkitt's lymphoma?** British Journal of Câncer. V.68, p. 1232-35, 2000.

VASQUES, C.A; V. VASQUES, N. V.; ARRAES, L. A.; GELLER,M. **Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cong.)**. F MED. (BR), v. 93, n. 3, p. 185-7, 1986.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o extrato bruto etanólico do fruto de *Luffa operculata* Cogn. apresentou inicialmente efeitos estimulantes do Sistema Nervoso Central como taquicardia, agitação, irritabilidade , movimentos circulares, tremores finos e grosseiros, entre outros. Porém, após trinta minutos de observação foram vistos efeitos depressores como alteração de marcha e prostação. A DL_{50} foi estimada em 3,3 mg/kg, sendo considerada muito tóxica na administração por via intraperitoneal.

Na avaliação anti-tumoral de *Luffa operculata* Cogn. frente ao Sarcoma 180, os animais tratados com 1,0 mg/Kg do extrato de *Luffa operculata Cogn.* obtiveram índice de inibição significativo de 61,7% quando comparado com o grupo controle.

No que diz respeito a análise microbiológica foram realizadas avaliações da atividade antimicrobiana da *Luffa operculata* Cogn. contra espécimes bacterianas e fúngicas da origem clínica e de coleção. O extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. apresenta a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Candida albicans e Candida tropicali*.

Conclui-se que a *Luffa operculata* Cogn. apesar da alta toxicidade apresenta propriedades antitumorais e antimicrobianas com perspectivas para novas investigações biológicas.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. R. **Plantas Medicinais Brasileiras**: Conhecimentos populares e Cientificos. Hermus, 1993, p.70-71.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina**:bases clinicas y farmacológicas. 2. ed. Buenos Aires: Isis Ediciones SRL, 2004.

BARACAT, F. F.; FERNANDEZ, H. J.; SILVA, M. J. **Cancerologia Atual** – Um enfoque multidisciplinar. São Paulo: Roca, 2000.

BARROS, S.B.; DAVINO, S.C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S. ***Fundamentos da toxicologia***, 2 ed., São Paulo: Atheneu Editora, p.59-63, 2003.

BENOUDIA, A.; HASSAR, M.; BENJILALI, B. Les propiétes antiséptiques dês huiles essentiales in vitro, testées contre germes pathogens hôspitaliers. **Fitoterapia**, v. 59, n. 2, p. 115-9, 1988.

BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. **The American Journal of Medicine**. n. 116, 478–485, 2004.

BROCK, A. C. et al. Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquimica de frutos e sementes de Luffa operculata (L) Cogn. Curcubitaceae.**Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 31-37, jan-jul. 2004.

BRODY, M. et al. **Farmacologia Humana** - da molecular à clínica. 2. Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1991.

CACERES, A. **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. Guatemala: Universitária, Universidade e San Carlos de Guatemala, 1996, p. 165-166.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CASALS, J.B. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. **J. Clin. Pathol.,** v. 32, p. 719-722, 1979.

CARIBÉ, R. A. Análise de prescrição e administração da vancomicina nas clínicas cirúrgicas do Hospital da Restauração. 2006. Monografia em planejamento e gestão de serviços farmacêuticos, Pernambuco.

CHAMPNEY, R. et al. Select pharmacological studies of *Luffa operculata*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 6, 1974, p. 942-943.

CHIN LU, Y. In vitro study of pirrolnitrin. **Jama J. Am. Med. Assoc**., v. 70, n. 8, p.19-22, 1979.

CONTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Neoplasias. In: COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Eds.) **Robbins – Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 233-295, 2000.

CORRÊA, M. P. **Diccionário das plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa nacional, v. 1, 1926, p. 335.

DA CUNHA, L.V.F.C .; DE ALBUQUERQUE, U. P. Quantitative athnobotany in an Atalntic forest fragment of Northeastern Brasil – Implications to conservation. **Environmental Monitoring and Assesment**, v. 114, n. 3, p. 1-25, 2006.

DALE, M. M.; RANG, H. P.; RITTER, J. M. **Farmacologia**, 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p. 12-15.

DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Plantas Medicinais. Fármacos derivados de Plantas. In: SILVA, P., **Farmacologia**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2002, p. 134-145.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M. et al. Medical and magic plants a public market in northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 1, p. 76-91, 2007.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; DE LUCENA, R. F. P. Can apparency affect the use of plants by local people in tropical forests? **Interciencia**, v. 30, n. 8, p. 506-511, 2005.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. D. H. C. Uso de recursos vegetais da Caatinga: O caso do Agreste do Estado de Pernambuco (Nodeste Brasileiro). **Interciencia**, v. 27, n. 6, p. 276-285, 2005.

DE ALBUQUERQUE, U. P. The use of medical plants by the cultural descendants of African people in Brazil. **Acta Farmaceutica Bonaerense,** v. 20, n. 2, p. 139-144, 2001.

DO NASCIMENTO, J. E. et al. Medicinal plants products traded in Pernambuco – Northeastern Brazil, **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 113-122, 2005.

DE OLIVEIRA, G. F. ET. AL Antimicrobial Activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. **Braz. J. Microbiolo.** v. 38, n. 2, abr/jun. 2007.

EDERY, H. et AL. S. Arch. Int. Pharmacodyn. **Therapy**. v. 130, p. 315-335, 1961.

FERNANDES, A.T. **Infecção Hospitalar e suas interfaces na Área de Saúde**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

FLORÊNCIO, A. P. S. et al. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Rev. Elet. Bras.** v. 4, p. 61-65, 2007.

GESLER, W.M. Therapeutic landscapes: medical issues in light of the new cultural geography. **Social Science and Medicine**. n. 34, 735–746, 1992.

GILMAN, A. G. et al. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 9º Ed. Rio de Janeiro, 1996.

GLATTHAAR-SAAMULLER, B.; FALLIER-BECKER, P. antiviral action of Euforbium compsitum and its components. Försh. **Komplementärmed Klass Naturheilkd**, v. 8, n. 4, p. 207-212, 2001.

GRAYBILL, J. R. Future directions of antifungical chemotherapy. **Clin. Inf. Diseases**, v. 14, n. 1, p. 170-81, 1992.

GOMES, M.J.V.M.; REIS, A. M. M. **Uma Abordagem em Farmácia Hospitalar**. São Paulo: Atheneu, 2001.

GOTTILIEB, O. R., KAPLAN, M. A. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. **Ciência hoje**. v. 15, p. 686-691, 1995.

GUERRA M.R. Riscos de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

HARRIS C. C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990. **Cancer Res**. , v. 51, p. 5023-5044, 1991.

HEISER, C. B.; SCHILLING, E. E. Phylogeny and distribution of Luffa (Cucurbitaceae). **Revista Biotropica**, v. 20, n. 3, p. 185-191, 1988.

KAWAHARA, N. et al. Two new cucurbitacin glucosides, opercurins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 8, p. 1018-1020, 2004.

KABER G.; BEHRENS B. **Estatistical Methods in Biologic.** London: Griffin Ch. and C., 1964.

KAWAHARA, N. et al. Two novel cucurbitacins, neocucurbitacins A and B, from the Brazilian folk medicine "Buchinha" (*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2A and OCIF gene expression in a human osteoblast-like Saos- 2 cell line. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 10, p. 1377 -1379, 2001.

KLOSS, P. On the bitter substance from *Luffa operculata* Cong. **Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft**, v. 299, n. 4, p. 351-355, 1966.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. **Micologia Médica.** São Paulo: Savier, 2002, p.695.

LAPA, A. J. A importância da farmacologia tradicional e novas descobertas no estudo das plantas medicinais, **ARS Crandi**, v. 6, p. 46-52, 1995.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3 ed. São Paulo: Mamole, p. 43-54, 2002.

LORENZI, M.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**. Nova Odessa, Instituto Platarum, 2002, p. 196-7.

LUIZ, S. O. Caracterização da resistência de amostras de *Acinetobacter baumannii* isoladas no hospital de clinicas de Curitiba, 2006. Dissertação (Mestrado em Micologia) Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MATOS, F. J. A. Farmacognosia de *Luffa operculata cogn.* **Rev. Brasileira Farm**., v. 60, nº 7/9, p. 69-76, 1979.

MCGINNS, M. R. **Laboratory hnadbook of Medical Mycology**. New York: academic Press, 1980, p. 411-416.

MENON-MIYAKE, M. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio e atividade mucociliar do palato isolado de rã, 2004. Tese (Doutorado em Otorrinolaringologia), Universidade de São Paulo,São Paulo.

MENON-MIYAKE, M. et al. Efeitos da *Luffa operculata* sobre o epitélio do palato de rã: Aspectos histológicos. Rev. **Brasileira de Otorrinolaringologia** v. 71, n. 2, p. 132-138, 2005.

MONTEIRO, J. M. et al. Tannins: From Chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOREIRA, L. B., Princípios para uso Racional de antimicrobianos. **Revista AMRIGS**, Porto Alegre, v. 48, p. 118-120, abri-jun. 2004.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic – resistant bacteria. **Braz. J. Microbiol**, v.31, nº4,out./dez. 2000.

NASSEM, M.; PATIL, S. Antispermatogenic and androgenic acttivities of Momordica charantia (Karela) in albino rats. **J. Ethnopharmacol**, v. 61,p. 9-16, 1998.

NETO, V. A. et al, Antibióticos na prática médica, 3. ed, São Paulo: Savier, 1985, p.209.

ODDS, F. C. Antifungical activity of saperconazale (R. 66905) in vitro. **J. antimicrob. Chemother**., v. 24, p. 533-7, 1989.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed, São Paulo: Atheneu, 2003.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2º Ed. Editora Atheneu, 1998.

OLIVEIRA, F. Q.; GONÇALVES, L. A.; Conhecimentos sobre plantas medicinais e fitoterápicos e potencial de toxicidade por usuários de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 36-41, 2006.

OLIVEIRA, R. B. et al. Toxicidade aguda de látex e estrato etanólico de folhas de Synadenium umbellatum em camundongos. Rev. **Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 143-145, 2005.

PAREKH, J.; CHANDA, S., In vitro antibacterial activity of the crude methanol extract of Woodfordia fruticosa Kurz. Flower (Lythraceae). **Braz. J. Microbiol**., vol. 38, n. 2, p. 204-7, Apr./June 2007.

PEREIRA, R. S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Rev. Saúde Pública**, v.38, n.2, p. 68- 73, 2004.

PRINGLE, R. B. Comparative biochemistry of the phytopathogenic fungus Helminthosporium. XIV. The production of victoxinine by H. sativum and H. victoriae. **Canadian Journal of Biochemistry**, v. 54, n. 9, p. 783-7, 1976.

RANG H.P., DALA M. M.; RITTER J.M.; MOORE P. K., Farmacologia, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RAMOS, J.; **Oncologia Clínica**, 2. ed., São Paulo: Sarvier, 1984, p. 320.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia.** São Paulo: Premier, 1997, p. 372.

ROCHA, M. S. **Fundamentos da Farmacologia e suas aplicações à terapêuticas**, 3. Ed, São Paulo: Edart, 1973.

ROSELL, R. et al. **Manual da Oncologia**. Barcelona: Toray, 1984, p-707.

SALVIANO, P. A. Tratamento de sinusite com preparação contendo *Luffa operculata* e solução fisiológica. **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p. 681-2, 1992.

SALVIANO, P. A. Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* Cogniaux (CABACINHA). **Rev. Bras. Med**., v. 49, n. 9, p 672-4, 1992.

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil . **Braz. J. Microbiol**., São Paulo, v. 35, n. 4, p. 56-61, out./dez. 2004

SCHINOR, E. C et al. Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*. **Braz. J. microbiology**. v. 38, n. 1, p. 145-149, 2007.

SHADOMY, S.; et al. Are plant factors a missing link in teh evolution of endemic Burkitt's lymphoma? **British Journal of Cancer**. London, v. 68, p. 1232-1235, 2000.

SILVA, E. A. Contribuição para o Estudo farmacológico da *Luffa operculata* Cogniaux. 1983. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, J. B., Algumas pesquisas sobre as saponinas da *Luffa operculata* Cogn. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 2, n. 2, p. 153-160, 1964.

SILVA, A. C. P. Abordagem da atividade biológica do látex de *Euphorbia Tirucalli* Linn. (Euphorbiaceae), 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco.

SILVA, E. C. B. Avaliação da *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae – Caesalpinioideae) Uso e riscos, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pernambuco.

SINGLETARY, K. Diet, natural products and cancer chemoprevention. **The J. of Nutrition.** p.465-6, 2000.

STOCK, C.C.; CLARCK, D.A.; PHILIPS, F.S.; BARCLAY, R.K. Sarcoma - 80 Inhibiton screening data. **Cancer Res.** vol.2, p.2-3, 1955.

TALALAY, P.; TALALAY, P. The importance of using scientific principles in the development of medicinal agents from plants. **Academic Medicine**. n. 76, 238–247, 2001.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 43-46, maio/jun. 2000.

TURNER D. M., Natural product source material use in the pharmaceutical industry: the Glaxo experience. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 39-44, 1996.

VALDARES, M. C.; Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias após "era do teste DL_{50}". **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p.93-8, 2006.

VASQUES, C.A. V. VASQUES, N. V.; ARRAES, L. A., GELLER,M. Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cong.). **F MED. (BR)**, v. 93, n. 3, p. 185-7, 1986.

WIESENAUER, M. et al. Efficiency of homeoptahic drug combiantion for the treatment of sinusitis. Results of a randomized double-blind study with general practitioners. **Arzneimittelforschung/Drug research**, v. 39, n. 5, p. 620-5, 1989.

WÜNSCH, V. F.; MONCAU, J. E.; Mortalidade por câncer no Brasil 1980-1995: padrões regionais e tendências temporais. **Rev. Assoc. Med. Bras.,** São Paulo, v. 48, n. 3, p. 52-63, jul./set. 2002.